

Çocukluk ve Üreme Çağı Kansерlerinde Fertiliteyi Koruma Yöntemleri

Preservation of Fertility in Childhood and Reproductive Age Women with Cancers: Review

Dr. Semra KAHRAMAN,^a
Dr. Hale KARAGÖZOĞLU^a

^aIVF ve Genetik Bölümü,
İstanbul Memorial Hastanesi,
İstanbul

Geliş Tarihi/Received: 14.08.2009
Kabul Tarihi/Accepted: 10.11.2009

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Semra KAHRAMAN
İstanbul Memorial Hastanesi,
IVF ve Genetik Bölümü, İstanbul,
TÜRKİYE/TURKEY
skahraman@superonline.com

ÖZET Kansер tedavilerindeki cerrahi, medikal ve teknolojik gelişmeler artan sağkalım oranları ile birlikte, yaşam kalitesinde iyileşmeye yol açmakta ve fertilitenin korunması ve devamlılığının sağlanması giderek daha büyük önem kazanmaktadır. Fertilite korunmasında seçenekler tanı ve tedavi sırasında hastanın yaşı; kansер tipi ve lokalizasyonu; hastalığın şiddeti ve tedavi tipi ile ilişkilidir. Günümüzde kansер tedavisi konservatif cerrahi, kemoterapi (KT), radyoterapi (RT) ve allojenik kemik iliği transplantasyonu (KİT)'ndan oluşmaktadır ve bu güncel tedavi yöntemleri ile meme kanseri gibi bazı kansерlerde kür oranları %90'ı geçmiştir, ancak agresif KT ve RT tedavisi protokolleri sonrası kadın fertilitesini korumak için etkili klinik yöntemler oldukça azdır. Radyasyon veya KT'nin over fonksiyonlarına olumsuz etkileri ilerleyici ve çoğunlukla dönüşümsüzdür, kalıcı amenore ve infertiliteye neden olmaktadır. Özellikle alkileyici ajanlar ve iyonizan radyasyon prematür over yetmezliğine sıklıkla yol açmaktadır. Onkologların tedaviye başlamadan önce hastalarının over fonksiyonu ve gelecekteki fertilitelerinin korunmasını dikkate almaları büyük önem taşımaktadır. İn vitro fertilizasyon (IVF) uzmanı, jinekolojik radyasyon onkoloğu ve medikal onkoloğun ortak bir konsültasyon ile KT ve/veya RT dozlarını tartışmaları, bu dozların oluşturacağı olası ovaryan hasara ilişkin riskler yönünden hastayı bilgilendirmeleri ve fertilite koruyucu yöntemlerin hastaya anlatılması günümüzde kabul edilen en uygun yaklaşım şeklidir. Kansер saptanan kadınlarda fertiliteyi korumada günümüzde uygulanan ve gelecekte uygulanabilecek farklı yöntemler vardır. Fertilitenin korunması için onaylanan yöntemleri erkekte spermin kriyoprezervasyonu ve kadında yardımcı üreme teknikleri (YÜT) uygulayarak embriyo kriyoprezervasyonu şeklindedir. Oositlerin vitrifikasyon yöntemi ile kriyoprezervasyonu günümüzde büyük önem kazanmıştır ve yakın gelecekte kadın fertilitesini korumada yaygın olarak kullanılması beklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Doğurganlık; dondurarak saklama; oosit; over; transplantasyon; embriyo yapıları

ABSTRACT Surgical, medical, and technological advances in cancer treatments have enabled to improve the life quality with increased survival rates, making preservation of reproductive function a more important priority than ever before. During diagnosis and treatment, the options of fertility preservation will depend on the age of the patients at the time of diagnosis and treatment, cancer type, severity and location, and type of treatment. With current treatment regimens, including conservative surgery, aggressive chemotherapy (CT), radiotherapy (RT), and bone marrow transplantation (BMT), cure rates from some malignancies like breast cancer can exceed 90%. However, after aggressive chemotherapy and radiotherapy protocols, there are few clinical procedures to protect female fertility. The effect of RT or CT on ovary is progressive and mostly irreversible. Also, these treatment modalities cause permanent amenorrhea and infertility. Especially the alkylating agents and ionizing radiation can often induce premature ovarian failure. Oncologists have to pay great attention protecting the ovarian function and have to consider fertility preservation options in patients undergoing therapy. In vitro fertilization (IVF) specialist, gynaecologic radiation oncologist and medical oncologist should discuss together the dosage of chemotherapy and/or radiotherapy and patients should be acquainted about ovarian damages which will be caused by radio/chemotherapy dosages. Today the most accepted management is to discuss with the patient fertility conservation procedures. At the moment, there are different methods performed to preserve fertility in women diagnosed with cancer and many are promising for the future. The only established methods for fertility preservation are sperm cryopreservation in men and IVF with embryo cryopreservation in women. Oocyte cryopreservation with vitrification technique seems to be the method of female fertility preservation that will be widely used in the near future.

Key Words: Fertility; cryopreservation; oocytes; ovary; transplantation; embryonic structures

Kanser tedavilerindeki cerrahi, medikal ve teknolojik gelişmeler artan sağkalım oranları ile birlikte, yaşam kalitesinde iyileşmeye yol açmakta ve fertilitenin korunması ve devamlılığının sağlanması giderek daha büyük önem kazanmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde 2001 yılında 625.000 kadına farklı invaziv kanser tanısı konmuştur ve bu kadınların ortalama %8'i 40 yaşın altındadır.¹ Reprodüktif dönemdeki kadınlarda en sık görülen kanser meme kanseridir. Ayrıca her yıl 4000 kız çocuğu potansiyel olarak sterilizasyona neden olabilen KT ve/veya RT'ye maruz kalmaktadır. Çocukluk ve gençlik döneminde kanser tedavisi ile sağkalım oranları artmıştır. Çocukluk çağı kanserlerinden sağkalım 2010 yılında endüstrileşmiş ülkelerde her 250 genç erişkinden birini oluşturacaktır.² Ayrıca 5 yıllık sağkalım oranları kadınlarda %56'dan %64'e, çocuklarda ise %56'dan %75'e yükselmiştir.³

Fertilite korunmasında seçenekler tanı ve tedavi sırasında hastanın yaşı; kanser tipi ve lokalizasyonu; hastalığın şiddeti ve tedavi tipi ile ilişkilidir. Günümüzde kanser tedavisi konservatif cerrahi, KT, RT ve KİT'ten oluşmaktadır ve bu güncel tedavi yöntemleri ile meme kanseri gibi bazı kanserlerde kür oranları %90'ı geçmiştir, ancak agresif KT ve RT tedavi protokolleri sonrası kadın fertilitasını korumak için etkili klinik yöntemler oldukça azdır. Radyasyon veya KT'nin over fonksiyonlarına olumsuz etkileri ilerleyici ve çoğunlukla dönüşümsüzdür, kalıcı amenore ve infertiliteye neden olmaktadır.⁴ Özellikle alkilleyici ajanlar ve iyonizan radyasyon prematür over yetmezliğine sıklıkla yol açmaktadır.

Onkologların tedaviye başlamadan önce hastalarının over fonksiyonu ve gelecekteki fertilitelerinin korunmasını dikkate almaları büyük önem taşımaktadır. IVF uzmanı, jinekolojik radyasyon onkoloğu ve medikal onkoloğun ortak bir konsültasyon ile KT ve/veya RT dozlarını tartışmaları, bu dozların oluşturacağı olası ovaryan hasara ilişkin riskler yönünden hastayı bilgilendirmeleri ve fertilitite koruyucu yöntemlerin hastaya anlatılması günümüzde kabul edilen en uygun yaklaşım şeklidir.

RADYOTERAPİ

RT hem overleri, hem de uterus fonksiyonlarını olumsuz yönde etkiler. Radyasyonu takiben oluşabilecek kalıcı over yetmezliği yaş ile birlikte artmaktadır. Kırk yaş üzerinde geride kalan oosit havuzu azaldığı için, sadece 5 veya 6 Grey (Gy) yetmezliğe yol açarken, 40 yaş altında aynı zararı oluşturan doz yaklaşık 20 Gy'dir. Kök hücre transplantasyonu (KHT) öncesinde uygulanan toplam vücut irradyasyonu kadında %90'dan fazla kalıcı gonadal yetmezliğe yol açmaktadır, bu olgularda gebelik insidansı %3'ün altındadır.⁵ Abdominal radyasyona maruz kalan genç kızlarda uterusu direkt etki ile kas yapısı ve kan akımı dönüşümsüz olarak etkilenmekte, uterus volümü ve elastisite azalmaktadır. Fraksiyone rejimlere göre tek doz radyasyon daha toksiktir. Uterus disfonksiyonuna yol açan radyasyon dozları 14–30 Gy'dir. Radyoterapiye maruz kalan hastalarda sadece implantasyon etkilenmemekte, aynı zamanda gebelikte abortus veya erken doğum riski artmakta ve bebeklerde düşük doğum ağırlığı gözlemlenmektedir.

KEMOTERAPİ

KT overlerde hasara yol açarak folikül sayısını azaltır ve foliküllerde kolayca atrezi oluşur. Erken atrezinin belirtileri primordial foliküllerde intrasitoplasmik vakuoller, multiveziküler cisimcikler, mitokondri yapısında değişme ve miyelin benzeri yapılar olup, bu durum kemoterapi sonrası elektron mikroskopi çalışmaları ile gösterilmiştir.⁶ Başlangıçta lösemi tedavisinde kullanılan KİT bugün birçok kanser ve kanser olmayan hastalıklarda da kullanılmaktadır. KHT veya KİT öncesinde yüksek dozda KT ve/veya RT kemik iliği ablasyonu için kullanılmaktadır, ancak maalesef bu yöntem neredeyse tüm hastalarda prematür over yetmezliğine yol açmaktadır. SLE, nefrotik sendrom, periartritis nodoza, lupus karditi, glomerulonefrit ve Behçet hastalığı gibi otoimmün hastalığı olan kadınlarda da aynı şekilde kemoterapiye bağlı over yetmezliği riski söz konusudur. Kemoterapötik ajanın tipi, sitotoksik ilaçların kümülatif dozları, hasta yaşı ve uzun süreli tedavi kemoterapinin overlere toksik etkisini arttırmaktadır. Aynı kemoterapötik rejim

uygulanan (siklofosfamid, metotreksat, fluorourasil) kadınlarda amenore oranı 40 yaş altında %35-40 iken, 40 yaş üzerinde %80-90'dır.⁷ Özellikle alkilleyici ajanlar (busulfan, karboplatin, klorambusil, sisplatin, siklofosfamid gibi) çok toksiktir ve prematür over yetmezliği riskini 9 kat artırır.⁸ Büyümekte olan foliküller, primordial foliküllere göre sitotoksik ajanlara daha duyarlıdır. Doza bağımlı bir şekilde oositlere ve granülosa hücrelerine en çok zarar veren ajan siklofosfamiddir. Sanders ve ark. busulfan ve sitoksan kombinasyonu yapılarak hematopoietik hücre transplantasyonu yapılan hastalarda gebelik oluşmadığını bildirmişlerdir.⁹

FERTİLİTE KORUYUCU YÖNTEMLER

Kanser saptanan kadınlarda fertilitiyi korumada günümüzde uygulanan ve gelecekte uygulanabilecek stratejiler Tablo 1'de gösterilmiştir.³

Günümüzde mevcut olan stratejilerin büyük bir kısmı fertilitiyi korumada hâlâ deneysel olarak kabul edilmektedir ve fertilitenin yeniden düzeleceğini garanti edememektedir. Fertilitenin korunması için "American Society for Reproductive Medicine (ASRM)" etik komitesine göre onaylanan yöntemler erkekte sperm kriyoprezervasyonu ve kadında da YÜT uygulayarak embriyo kriyoprezervasyonu şeklindedir.¹⁰

YÜT ile dondurulmuş embriyoların kullanılması siklus başına ortalama %20.4, blastosist vitrifikasyonu ile ortalama %30-53 oranında gebelik sağlamaktadır; ancak bu yöntem ile oluşan embriyoların dondurularak saklanması birçok hasta için uygun bir strateji değildir ve reproduktif çağdaki birçok olgunun bu yöntemi seçme şansı azdır.¹¹ Ge-

rek kanser tanısı konulan hasta ve yakınlarının yüksek anksiyetesi ve gerekse meme kanseri dışında neredeyse tüm kanser türlerinde, tanı konar konmaz kemoterapiye başlama zorunluluğu embriyo dondurma yöntemini çoğu zaman imkânsız kılmaktadır. Hazırlık ve stimülasyonu takiben yumurta toplama işlemine kadar genellikle 2-3 hafta veya daha uzun süre geçmekte, bu nedenle de embriyoların dondurularak gelecekte muhtemel kullanımları için yapılması gereken hazırlık süresi acil tedavi nedeniyle beklenememektedir. Ayrıca yüksek östrojen değerlerinin primer tümöre yapabileceği muhtemel zarar nedeniyle östrojene duyarlı tümör varlığında over stimülasyonu yapılmasına ilişkin kuşklar da vardır.¹² Ancak bir çalışmada meme kanseri tanısı konan hastalarda KT öncesi oosit veya embriyo kriyoprezervasyonu yapılması amacıyla letrozol ve gonadotropin kullanılarak over stimülasyonu yapılmış ve uygulanan bu tedavinin rekürrens riskini arttırmadığı ifade edilmiştir.¹³ Bu kuşkların giderilmesi için uzun dönem takiplerin yapılacağı ileri araştırmalara ihtiyaç vardır. Bunun yanı sıra bazı hastaların kriyoprezervasyon için embriyo oluşturacak partnerleri de olmayabilir. Bu nedenle fertilitelerini korumak için hastaların ancak sınırlı klinik seçenekleri vardır.

OVER DOKU KRİYOPREZERVASYONU VE TRANSPLANTASYONU

Reproduktif fonksiyonlarını kaybetme riski taşıyan kadınlarda fertilitiyi koruma yöntemi olarak deneysel bir işlem kabul edilmektedir. Over dokusunun kriyoprezervasyonu klinik yöntemler içinde over stimülasyonuna gerek olmaması ve özellikle prepubertal dönemde gonadal fonksiyonların korun-

TABLO 1: Fertilitiyi koruyucu yöntemler.

1. Embriyoların dondurularak saklanması
2. Over dokusunun veya tüm overin dondurularak gelecekte transplantasyon için saklanması.
3. Oositlerin dondurularak gelecekte fertilizasyon, embriyo eldesi ve transferi için saklanması.
4. Dondurulmuş overyan doku veya over dokusundan izole edilen primordial foliküllerin in vitro büyüme ve matürasyon için saklanması.
5. Radyoterapi öncesi overyan transpozisyon.
6. GnRH analogları ile hormonal korunma.
7. Antiapoptotik (sflingozin -1-fosfat) ajanlarla farmakolojik korunma.
8. Uterusu olmayan veya işlev görmeyen hastalarda uterus transplantasyonu.

masını sağlamada ümit verici olmuştur. İşlem için partnere ihtiyaç yoktur ve beklenmeden hemen yapılabilir. Aynı zamanda in-vitro maturasyon (IVM) için kullanılacak foliküllerin de kaynağıdır. Bu işlem reproduktif ve endokrin fonksiyonların yeniden başlamasını sağlayabilmektedir, ototransplantasyon sırasında immünosüpresan tedavi kullanımını gerektirmez. Özellikle pediatrik kanserlerde uygun tedavi alternatifi olabilir. Ancak düşük başarı şansı yöntemin dezavantajıdır, dünyada sadece birkaç gebelik bildirilmiştir.^{14,15}

Bu yöntemde en sık uygulanan yaklaşım kanser tedavisinden önce hastadan alınan ve dondurulan ovaryan kortikal kesitlerin küçük parçalar halinde re-implantasyonudur. Hastanın tedavisi bittikten ve remisyon sağlandıktan sonra bu doku çözülerek hastaya ortotopik ve/veya heterotopik olarak ototransplante edilir.³ Ortotopik ovaryan doku transplantında bu doku kesitleri çözüldükten sonra bir paket şeklinde aynı veya karşı taraf over veya overin hemen altına anatomik yerine yerleştirilir, böylece naturel fertilizasyon mümkün olmaktadır. Bu işlem abdominal cerrahi ve genel anestezi gerektirir. Laparoskopik yaklaşım daha az invazivdir. İmmatür oositler matür oositlere göre daha küçük olup, dondurma ve çözme sürecine daha dayanıklıdır. Ovaryan otograft çalışmalarının hayvanlarda yeterli deneyim kazanmasını takiben, aynı teknik insanlarda da kullanılmaya başlanmıştır. Dondurulmuş-çözülmüş over kortikal dokusunun transplantasyonu sonrası, insanda ovaryan stimülasyon ile ovulasyon başarı ile sağlanmıştır.¹⁶ Lenfoma nedeniyle KT ve RT yapılan bir hastada dondurulmuş çözülmüş over doku ototransplantasyonu ile dünyada ilk gebelik ve canlı doğum Donnez ve ark. tarafından yayınlanmıştır.¹⁴ Tedavi sonrası sporadik spontan ovülasyon tespit edildiği için, gebeliğin transplanttan değil de overlerden gelişen bir ovum kaynaklı olması da muhtemeldir. Meior ve ark. da KT sonrası prematür over yetmezliği gelişen bir hastada dondurulmuş over dokusunun ortotopik ototransplantasyonu yapıldıktan sonra IVF uygulayarak ilk canlı doğumu bildirmişlerdir.¹⁵

Over dokusunun heterotopik ototransplantasyonunda ise greft önkol ve karın duvarı gibi bölge-

lerde cilt altına yerleştirilir. Heterotopik transplantasyonun avantajı daha az invaziv cerrahi gerektirmesidir. Genel anestezi gerektirmez, iyileşme hızlıdır, ancak folikül monitörizasyonu zordur ve spontan gebelik şansı yoktur. Heterotopik otograft ile ön kol brakioradial fasya üzerinde cilt altına over dokusunun yerleştirilmesinden ortalama 2 yıl sonra 2 hastada over fonksiyonlarının restore olduğu bildirilmiştir, hatta bu hastalardan birinde oositler prekütan olarak aspire edilmişlerdir.¹⁷ Primatlarda heterotopik over transplantasyonu ile ilk canlı doğum bildirilmiştir, insanda ise normal morfolojik görünümde bir embriyo transfer edilmesine rağmen gebelik oluşmamıştır.¹⁸

Ovaryan transplantasyon işlemi ile kanser hastalarında tümör hücrelerinin potansiyel yayılma riski söz konusu olabilir. Birçok kanser tipi overe neredeyse hiç metastaz yapmazken, lösemi sistemik özelliği nedeniyle önemli bir risk oluşturabilir. Nöroblastom ve meme kanseri overlere metastaz riski taşıyabilen tümörlerden bazılarıdır. Bu riski en aza indirmek için overden çok sayıda alınan doku örneklerinde histolojik değerlendirme yapılmalıdır. Lösemi veya lenfomada ise, immünohistokimyasal veya diğer moleküler biyolojik metodlar kullanarak tümör belirteçleri ile kanser hücreleri taranmalıdır. Tümör süpresor genlerinden BRCA-1 ve BRCA-2 mutasyonu gibi genetik predispozisyon taşıyan ve bu nedenle over kanseri için yüksek risk taşımasından dolayı ooforektomi yapılan hastalarda, aynı dokunun yerleştirilmesi gelecekte muhtemel bir malignensi için yüksek risk taşımaktadır. Over kanserinde ise malign hücrelerin bu işlemle yeniden vücuda yayılma riski olduğu için tercih edilmez. Dondurulmuş-çözülmüş over dokusundan intakt Graaf foliküller veya preantral foliküllerin izolasyonu da bir alternatiftir, ancak bu foliküllerin mekanik veya enzimatik olarak izolasyonu verimli olamamaktadır.

Ovaryan transplantasyon sonrası oldukça düşük folikül sağkalım oranları nedeniyle, 40 yaş üstü kadınlarda over dokusunun kriyoprezervasyonu mantıklı görünmemektedir.¹⁹ Ayrıca reproduktif yaşlanmaya karşı bir yöntem olarak önerilmesi de tavsiye edilmemektedir.

Ovaryan doku transplantasyonunda en önemli kaygı neovaskülarizasyon oluşuncaya kadar geçen zamanda ortaya çıkması muhtemel iskemidir. Avasküler greftte bulunan oositlerin kalitesi ve transplantın dayanıklılığı önem taşımaktadır, çünkü transplantasyon sonrası primordial foliküllerin büyümesi için ortalama olarak 16-24 haftalık süre geçmektedir. Sonuç olarak, over doku kriyoprezervasyonu ve trasplantasyonu deneyseldir. Uygun hasta seçimi, doku elde etme metodları, uygun doku büyüklüğü, uygun kriyoprotektan seçimi ve protokolleri ve insan over dokusundan muhtemel in-vitro oosit maturasyonu üzerine araştırmalar yoğunlaşmalıdır. Bunun yanı sıra folikül kaybını azaltmada önemli bir faktör olan revaskülarizasyonu arttırmak için de ileri araştırmalar gereklidir.

Dünyada fertilitite koruyucu yöntemler büyük önem kazanırken, ülkemizde bu konu yeterince dikkate alınmamaktadır. Kanser tanısı konan ve büyük endişe içinde olan hasta ve yakınlarının bu konuda ilgili birimlerce ortak şekilde bilgilendirilmeleri ve fertilitite koruyucu yöntemlerin ayrıntılı olarak anlatılmasının önemi açıktır. ABD'de ASRM etik komitesince belirlenen yönerge bu hastalar için yol gösterici olurken, ülkemizde bu konuda özel bir yönerge maalesef bulunmamaktadır.¹⁰ 2005

yılında yayımlanan üremeye yardımcı tedavi merkezleri yönetmeliğinde üreme hücreleri ve gonad dokularının saklanması yasak olduğu ve ancak tıbbi zorunluluk hallerinde saklanabilecekleri ifade edilmiştir, ancak üreme hücreleri ve gonad dokularının saklanması gerektiren tıbbi zorunluluk hallerinin nelerden ibaret olduğu ve saklanmasına ilişkin diğer usul ve esasların belirlenmesine ihtiyaç vardır.

İstanbul Memorial Hastanesi Tüp Bebek ve Genetik Merkezi'ne 2000-2009 yılları arasında fertilitelerinin korunması için başvuran 9 hastaya over doku freezing işlemi yapılmıştır. Hastalara ilişkin bilgiler Tablo 2'de gösterilmektedir.

OOSİT KRİYOPREZERVASYONU

Kadın fertilititesini korumada oosit kriyoprezervasyonu diğer bir deneysel yöntemdir. Cerrahi gerektirmemesi ve iyi bilinen stimülasyon protokolleri nedeniyle cazip olmakla beraber, maalesef kanser hastalığına yakalanan birçok hastanın tedavileri öncesi over stimülasyon siklusu için vakitleri olamamaktadır. Ayrıca bu oositlerin çözülmesi sonrası fertilizasyon ve embriyo transferi ile elde edilen gebelik oranları önceki yıllarda oldukça düşüktü. Ancak bazı çalışmalarda çözme sonrası oosit sağka-

TABLO 2: İstanbul Memorial Hastanesi Tüp Bebek ve Reprodüktif Genetik Merkezi. Over dokusu kriyoprezervasyon olguları.

Ad	Yaş	Endikasyon	Alınan doku boyutu	Dondurulan doku sayısı	Patoloji
A.K.	23	Borderline over tm	2 x 1 cm	8	Met. İzlenmedi
O.K.	34	Endometrioma	2 x 1 cm	6	-
F.Ö.	25	Borderline over tm	2 x 1 cm	4	Met. İzlenmedi
Z.S.	36	Endometrioma	1 x 1 cm	3	-
A.P.	40	Endometrioma	2 x 1 cm	3	-
D.İ.	32	Meme kanseri	2 x 1, 2 x 1 cm	13	Met. İzlenmedi
N.Ö.B.	34	Meme kanseri	2 x 1, 2 x 1 cm	15	Met. İzlenmedi
N.S.	25	Mediasten tm. (Lenfoma)	2 x 1 cm	6	Met. İzlenmedi
Ö.D.	40	Meme kanseri	2 x 2 cm	8	Met. İzlenmedi

Borderline over tümörü tanısı konan 2 olguda, yapılan laparotomi sırasında unilateral ooforektomi yapılmış ve diğer overden de histolojik inceleme için örnek alınmıştır. Eksperimental bir teknik olduğu bilgisi verilmesine ve riskler anlatılmasına rağmen, kendi istemleri ile bu iki olguda over doku freezing işlemi yapılmıştır. Meme kanseri tanısı konan üç olguda KT öncesi ovaryan doku freezing yapılmış, olgulardan biri daha sonra 2 kez spontan yolla hamile kalarak doğum yapmıştır. Diğer olgunun over fonksiyonları normal olup, spontan siklusda ovulasyon takibi yapılmaktadır. 3. olguda ise operasyon sonrası başlanan KT tedavisine halen devam edilmektedir. Lenfoma nedeniyle ovaryan doku freezing sonrası uzun süre KT uygulanan hastamızda prematür over yetmezliği gelişmiştir. Endometrioma nedeniyle işlem uygulanan 3 hastamızdan birine YÜT uygulanmış ve gebelik elde edilmiştir, gebeliği halen devam etmektedir. Over doku freezing yöntemi şiddetli endometriozis olgularına, hastalığın tekrarlama riski ve over rezervi üzerinde oluşturabileceği olumsuz etkiler göz önüne alınarak, kendi istekleri ile uygulanmıştır. Tekniklerin geliştirilmesi ile birlikte başarı oranları arttıkça, bu gibi benign hastalıklarda veya herhangi bir hastalığı olmayan bekar ve ileri yaşlarda çocuk sahibi olmayı planlayan kadınlarda medikal endikasyon olmaksızın yapılabilecektir.

lımı, fertilizasyon ve gebelik oranlarına ilişkin daha iyi sonuçlar bildirilmektedir.²⁰ Bu nedenle de oositlerin dondurulmasına yeniden ilgi duyulmaya başlanmıştır.

Metafaz II oosit (M2) büyük boyutu, su içeriği ve kromozomal dizilişi nedeniyle oldukça frajildir. Matür oositte metafaz kromozomlar mayotik iğde (spindle) ekvatoryal düzlem boyunca sıralanmışlardır. Dondurma ve çözme sürecinde hücre içi oluşan buz nedeniyle iğ aygıtı kolaylıkla zarar görebilmektedir. Yanı sıra zona pellisudanın sertleşmesi de normal fertilizasyon sürecini olumsuz etkilemektedir.

Dondurma ve çözümede oluşabilecek hasar oositin olgunlaşma sürecine göre değişmektedir. Matür oosite göre germinal vezikül (GV) döneminde dondurulan oositlerin sağkalım oranları daha yüksektir. Ayrıca matür olanlara göre GV döneminde dondurulan oositler mayotik iğde daha az oranda anormallikler içermektedir. GV oositlerde çözümede daha yüksek sağkalım oranları ve daha düşük mayotik iğ hasarına rağmen IVM protokollerindeki yetersizlik, sonuçta elde edilen matur oosit oranını azaltmaktadır. Dondurulan –çözülen matür oositlerdeki sağkalım oranlarındaki değişkenlik ise kısmen oosit kalitesi ile ilişkilendirilmiştir. Kriyoprezervasyon yöntemlerindeki değişikliklerin bu değişkenlikte rol oynayabileceği düşünülmüştür. Örneğin; kriyoprotektan medium içindeki artan sükröz oranlarının doza bağlı olarak, dondurulmuş M2 oositlerinde sağkalım oranlarını arttırdığı gösterilmiştir.²¹

Yavaş dondurma-çözme sürecinde oositlerin günümüzde sağkalım oranları %15-43 arasında olup, fertilizasyon oranı %45'tir, ancak canlı doğum oranları dondurulan her oosit başına sadece %1-2'dir. 2006 yılına kadar mevcut verilerin değerlendirildiği bir meta-analizde de 4564 dondurulmuş ve 4000 çözülmüş oosit ile yapılan 397 çözme siklusunda 95 klinik gebelik elde edildiği bildirilmiş ve yavaş dondurma yöntemi ile elde edilen başarı oranının düşüklüğüne dikkat çekilmiştir.²² Vitrifikasyon yöntemi ile dondurulan ve çözülen oositlerin sağkalım oranları ise artmış ve fertilizasyon oranları ise taze oositlerle yarışır duruma gel-

miştir. Yüksek konsantrasyonda kriyoprotektan kullanılarak, hücrelerin içinde buz oluşumuna neden olmaksızın hızla dondurulduğu vitrifikasyon yöntemi ile elde edilen sonuçlar yavaş dondurma –çözme tekniğine göre çok daha iyidir. Vitriyifiye matur oositlerden insanlarda da gebelik ve doğumlar bildirilmiştir.^{23,24} Özellikle son yıllarda vitrifikasyon tekniği ile dondurulan ve çözülen oositlerde %90'ın üzerinde sağkalım ve %75-90 fertilizasyon, embriyo transferi başına %32-65 gebelik ve %50'nin üzerinde canlı doğum oranları bildirilmiştir.²⁵⁻²⁷ Oosit kriyoprezervasyonuna ilişkin muhtemel riskler olarak, oosit mayotik iğine olan bilinen etkileri nedeniyle doğacak bebekte kromozomal anöploidi veya diğer karyotipik anomaliler ile organ malformasyonları veya diğer gelişimsel problemler söz konusu olabilir. Klinik çalışmalarda dondurulmuş-çözülmüş oositlerden elde edilen embriyolar FISH tekniği ile değerlendirilmiş ve kontrol embriyolarına göre kromozomal anomali sıklığında artış bildirilmemiştir.²⁸ Kriyoprezerve oositlerle elde edilen gebelik sonrası doğan çocukların takiplerinde gebelik haftaları, ortalama doğum kiloları, karyotip analizlerinde herhangi bir sorun saptanmamıştır.²⁹

Oositlerin vitrifikasyon yöntemi ile kriyoprezervasyonu günümüzde büyük önem kazanmıştır ve yakın gelecekte kadın fertilesini korumada yaygın olarak kullanılması beklenmektedir.

PRİMORDİAL FOLİKÜLLERİN İN VİTRO BÜYÜMESİ VE ANTRAL FOLİKÜLLERDEN ELDE EDİLEN OOSİTLERİN İN-VİTRO MATÜRASYONU

YÜT uygulamalarında folikül biyolojisi ve ideal in vitro folikül kültür sisteminin araştırılması önemli ilgi alanlarından biridir. Fetal ve erişkin insan overinde foliküllerin büyük kısmı primordial olarak kalmaktadır. Bundan dolayı immatür oositler yoğun olarak bulunur, en kolay ve en bol kadın gamet kaynağıdır. Ancak büyümeleri ve fertilizasyonları için maturasyonları gerekmektedir ve bu in vitro sağlanmalıdır. Bu yöntemin konvansiyonel IVF'ye göre avantajları düzenli adet gören kadınlarda hormonal baskılama veya hormonal enjeksiyonlar gerektirmemesi, PCOS'da minimal FSH stimülasyonu, böylece yan etki ve rahatsızlığı en

aza indirmesi ve emosyonel stresin azalmasıdır. Primordial foliküllerin in vitro matürasyonu ile meme kanseri gibi bazı kanserlerin over greftleri ile muhtemel retransmisyonu riskinden kaçınılmaktadır, çünkü oositler kanser hücresi içermez. Dondurulmuş-çözülmüş folikül kültürü teorik olarak iskemi veya normal atrezi yoluyla olan folikül kaybından kaçınarak daha fazla matür oosit oluşumunu sağlayabilir. Reprodüktif biyologlar içinse en büyük sorun primordial foliküllerin büyümesi ve in vitro matürasyonlarıdır. Primordial foliküllerin over dokusundan izole edilmesi mekanik veya enzimatik yolla olmaktadır. Granüloza-oosit kompleksi sürecine kadar organ eksplantlarında büyüme sağlanır ve daha sonra kollajen membran veya üç boyutlu kültür sistemine transfer edilirler.³⁰ Aktif araştırmalarla folikül kültür tekniklerindeki önemli ilerlemeye rağmen, in vitro büyüyen ve olgunlaşan oositlerdeki formasyon ve imprintlerin bütünlüğünde oluşabilecek defektler embriyonik ölüm veya sağlıklı bir bebeğe neden olabilir. Primordial bir folikülden ilk kez üretilen farenin pre-matür ölümü ve anomalileri kriyobiyologlar için uyarıcıdır.³¹

İmmatür oosit elde edilerek ve IVM ile 300'den fazla sağlıklı bebek dünyaya gelmiştir. Takiplerde gebelik, doğum ve bebek sağlığı ile ilgili bir sorun bildirilmemiştir. Chian ve ark. natürel siklusda alınan immatür oositlerin IVM yapıldık-

tan sonra vitrifikasyon tekniği ile kriyoprezervasyonu sonrası elde ettikleri ilk canlı doğum olgusunu bildirmişlerdir.³² Kanser tanısı konan ve kemoterapinin hemen başlatılması gereken hastalarda yapılan bir çalışmada ise, siklusun luteal fazında oosit elde edilerek IVM yöntemi uygulanmış ve foliküler fazda oosit eldesi için yeterli zamanın mevcut olmadığı durumlarda önerilebilecek bir fertilitte koruyucu yöntem olduğu ifade edilmiştir.³³

YÜT'te özellikle PCOS olgularında küçük antral foliküllerin toplanması ve in vitro oosit matürasyonu önemli yapı taşlarından biri olmaya başlamıştır, ancak IVM'nin çocuk sağlığı ve gelişimi üzerine olan uzun dönemdeki muhtemel etkileri için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

OVERLERİN TRANSPOZİSYONU (OOFOROPEKSİ)

Radyoterapi yapılacak kanser hastalarında overlerin radyasyon alanından uzaklaştırılmaları için uygulanan bir cerrahi yöntemdir. Overlerin remig-rasyonunu önlemek için radyoterapiden hemen önce ooforopeksi işlemi yapılmalıdır. Laparoskopik olarak uygulanabilir ve overler parakolik bölgeye yerleştirilir. Tedavi sonrası kohort çalışmaları ve olgu serilerinde overlerin kan akımında oluşan değişiklikler ve saçılmış radyasyon nedeniyle başarı düzeyi ortalama %50 oranında bildirilmektedir. Gebelik elde edilmesi için de overlerin repozisyonu veya IVF yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. American Cancer Society. Special section: obesity. Cancer Facts and Figures 2001. 1st ed. Atlanta GA: National Media Office; 2001. p.20-7.
2. Blatt J. Pregnancy outcome in long-term survivors of childhood cancer. Med Pediatr Oncol 1999;33(1):29-33.
3. Bedaiwy MA, Shahin AY, Falcone T. Reproductive organ transplantation: advances and controversies. Fertil Steril 2008;90(6):2031-55.
4. Howell SJ, Sharlet SM. Fertility preservation and management of gonadal failure associated with lymphoma therapy. Curr Oncol Rep 2002;4(5):443-52.
5. Socié G, Salooja N, Cohen A, Rovelli A, Carreras E, Locasciulli A, et al.; Late Effects Working Party of the European Study Group for Blood and Marrow Transplantation. Nonmalignant late effects after allogeneic stem cell transplantation. Blood 2003;101(9):3373-85.
6. Familiari G, Caggiati A, Nottola SA, Ermini M, Di Benedetto MR, Motta PM. Ultrastructure of human ovarian primordial follicles after combination chemotherapy for Hodgkin's disease. Hum Reprod 1993;8(12):2080-7.
7. Bines J, Oleske DM, Cobleigh MA. Ovarian function in premenopausal women treated with adjuvant chemotherapy for breast cancer. J Clin Oncol 1996;14(5):1718-29.
8. Byrne J, Fears TR, Gail MH, Pee D, Connelly RR, Austin DF, et al. Early menopause in long-term survivors of cancer during adolescence. Am J Obstet Gynecol 1992;166(3):788-93.
9. Sanders JE, Hawley J, Levy W, Gooley T, Buckner CD, Deeg HJ, et al. Pregnancies following high-dose cyclophosphamide with or without high-dose busulfan or total-body irradiation and bone marrow transplantation. Blood 1996;87(7):3045-52.
10. Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Fertility preservation and reproduction in cancer patients. Fertil Steril 200;83(6):1622-8.

11. Youssry M, Ozmen B, Zohni K, Diedrich K, Al-Hasani S. Current aspects of blastocyst cryopreservation. *Reprod Biomed Online* 2008;16(2):311-20.
12. Simon B, Lee SJ, Partridge AH, Runowicz CD. Preserving fertility after cancer. *CA Cancer J Clin* 2005;55(4):211-28.
13. Azim AA, Costantini-Ferrando M, Oktay K. Safety of fertility preservation by ovarian stimulation with letrozole and gonadotropins in patients with breast cancer: a prospective controlled study. *J Clin Oncol* 2008;26(16):2630-5.
14. Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet* 2004;364(9443):1405-10.
15. Meirou D, Levron J, Eldar-Geva T, Hardan I, Fridman E, Zalel Y, et al. Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy. *N Engl J Med* 2005;353(3):318-21.
16. Oktay K, Aydin BA, Karlikaya G. A technique for laparoscopic transplantation of frozen-banked ovarian tissue. *Fertil Steril* 2001;75(6):1212-6.
17. Oktay K, Aydin BA, Economos K, Rucinski J. Restoration of ovarian function after autologous transplantation of human ovarian tissue in the forearm (Abstract). *Fertil Steril* 2000;74(Suppl 3):S90.
18. Oktay K, Buyuk E, Veeck L, Zaninovic N, Xu K, Takeuchi T, et al. Embryo development after heterotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet* 2004;363(9412):837-40.
19. Oktay K. Evidence for limiting ovarian tissue harvesting for the purpose of transplantation to women younger than 40 years of age. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(4):1907-8.
20. Quintans CJ, Donaldson MJ, Bertolino MV, Pasqualini RS. Birth of two babies using oocytes that were cryopreserved in a choline-based freezing medium. *Hum Reprod* 2002;17(12):3149-52.
21. Fabbri R, Porcu E, Marsella T, Rocchetta G, Venturoli S, Flamigni C. Human oocyte cryopreservation: new perspectives regarding oocyte survival. *Hum Reprod* 2001;16(3):411-6.
22. Oktay K, Cil AP, Bang H. Efficiency of oocyte cryopreservation: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2006;86(1):70-80.
23. Yoon TK, Chung HM, Lim JM, Han SY, Ko JJ, Cha KY. Pregnancy and delivery of healthy infants developed from vitrified oocytes in a stimulated in vitro fertilization-embryo transfer program. *Fertil Steril* 2000;74(1):180-1.
24. Kuleshova L, Gianaroli L, Magli C, Ferraretti A, Trounson A. Birth following vitrification of a small number of human oocytes: case report. *Hum Reprod* 1999;14(12):3077-9.
25. Kuwayama M, Vajta G, Kato O, Leibo SP. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reprod Biomed Online* 2005;11(3):300-8.
26. Antinori M, Licata E, Dani G, Cerusico F, Versaci C, Antinori S. Cryotop vitrification of human oocytes results in high survival rate and healthy deliveries. *Reprod Biomed Online* 2007;14(1):72-9.
27. Cobo A, Kuwayama M, Pérez S, Ruiz A, Pellicer A, Remohí J. Comparison of concomitant outcome achieved with fresh and cryopreserved donor oocytes vitrified by the Cryotop method. *Fertil Steril* 2008;89(6):1657-64.
28. Cobo A, Rubio C, Gerli S, Ruiz A, Pellicer A, Remohí J. Use of fluorescence in situ hybridization to assess the chromosomal status of embryos obtained from cryopreserved oocytes. *Fertil Steril* 2001;75(2):354-60.
29. Porcu E, Fabbri R, Seracchioli R, De Cesare R, Giunchi S, Caracciolo D. Obstetric, perinatal outcome and follow up of children conceived from cryopreserved oocytes (Abstract). *Fertil Steril* 2000;74(Suppl 1):S48.
30. Varghese AC, du Plessis SS, Falcone T, Agarwal A. Cryopreservation/transplantation of ovarian tissue and in vitro maturation of follicles and oocytes: challenges for fertility preservation. *Reprod Biol Endocrinol* 2008;6:47.
31. Eppig JJ, O'Brien MJ. Development in vitro of mouse oocytes from primordial follicles. *Biol Reprod* 1996;54(1):197-207.
32. Chian RC, Gilbert L, Huang JY, Demirtas E, Holzer H, Benjamin A, et al. Live birth after vitrification of in vitro matured human oocytes. *Fertil Steril* 2009;91(2):372-6.
33. Maman E, Meirou D, Raanani H, Dor J, Hourvitz A. Oocyte retrieval and in vitro maturation during the luteal phase is an optional procedure for fertility preservation (Abstract). *Hum Reprod* 2009;24(Suppl.1): i66.