

# GÜNÜMÜZDE YARDIMLA ÜREME TEKNİKLERİ

## ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNIQUES UPDATE

Elif G. Ergin<sup>1</sup>, M. Hakan Özörnek<sup>1</sup>

### Özet

Bu yazıda son yıllarda oldukça hızlı bir gelişme gösteren yardımcı üreme teknikleri hakkında bilgi verilecektir. 20 yıldır uygulanan in vitro fertilizasyon ve son yıllarda uygulamaya giren mikroinjeksiyon metodları sayesinde pek çok çiftin çocuk sahibi olabilmesi mümkün olmuştur. Yardımla üreme tekniklerinin pahalıya mal olması, yüksek teknolojinin kullanıldığı cihazlara ihtiyaç göstermesi ve uzman bir ekip gerektirmesi olumsuz yönleridir.

**Anahtar sözcükler:** Ovulasyon indüksiyonu, in vitro fertilizasyon, intrasitoplazmik sperm injeksiyonu

### Summary

In this paper we reviewed the assisted reproductive techniques (ART), which developed very rapidly in the last years. It was possible for many infertile couples to have a child after the introduction of in vitro fertilization (IVF) therapy for the last 20 years and after the microinjection methods some years ago. ART is expensive, needs high technology equipment and a very specialised team.

**Key words:** Ovulation induction, in vitro fertilization, intracytoplasmic sperm injection

### Giriş

İstenildiği halde çocuk sahibi olunamaması medikal bir problem olduğu kadar, aynı zamanda da sosyal bir problemdir. İnfertilite, düzenli cinsel ilişkiye rağmen 1 yıl içinde hiç bir korunma yöntemi kullanmadığı halde hamile kalmamaması olarak tarif edilir. Toplumda infertilite oranı %10-15 arasındadır.<sup>1</sup> Son yıllardaki hızlı gelişmeler sonucu günümüz tıbbi bu hastaların çoğuna yardımcı olabilmektedir. Bundan yirmi yıl öncesine kadar her iki tubası tıkalı kadınlarda hiçbirşey yapılamazken, bugün bu hastalarda başarıyla tedavi şansı oldukça artmıştır. Hatta günümüzde çok ağır erkek infertilite vakalarına dahi yardım edilebilmektedir. Bu yazıda öncelikle ovulasyon indüksiyonuna, daha sonra da basitinden karmaşığına doğru yardımcı üreme tekniklerine değinilecektir.

### Ovulasyon İndüksiyonu

Normalde her adet döneminde sadece bir dominant folikül gelişir. İlk başarılı IVF bebeği, doğal bir siklusa-daki dominant folikülden elde edilen tek bir oositin fertili-

zasyonu sonucunda doğmuştur.<sup>2</sup> Ovulasyon indüksiyonu ile birden fazla oosit geliştirilerek transfer için daha fazla sayıda embriyo elde edilmesinin gebelik oranlarını artırdığı bilinmektedir. Bu çerçevede birçok ovulasyon indüksiyonu protokolleri geliştirilmiştir. Bu protokollerde genelde kullanılan ilaçlar klomifen sitrat, human menopausal gonadotropin (HMG) ve rekombinan follicule stimulating hormone (FSH)'dur. Bu protokollerde %30-40 vakada erken luteinizan hormone (LH) piki ve dolayısı ile vaktinden önce ovulasyon olması problemi ile karşılaşmıştır. Bu sorun gonadotropin releasing hormone (GnRh) analogları kullanılarak giderilmiştir. GnRH analogları başlangıçta hipofizden gonadotropin salgılanmasını artırır. Ancak sürekli uygulanmasıyla hipofizin baskılanmasına, LH ve FSH sekresyonunun azalmasına sebep olur. GnRH analoglarının etkisiyle kontrollü ovulasyon indüksiyonu sağlanır. Son zamanlarda GnRH antagonistlerinin kullanıma girmesi LH pikinin önlenmesinde GnRH analoglarından daha etkin bir tedavi alternatifi yaratmıştır.<sup>3</sup>

Oosit gelişimi serum östradiol düzeyi ve ultrason yardımıyla folikül büyüklüğü ölçülerek takip edilir. Yeterli

<sup>1)</sup> Düsselldorf Heinrich-Heine Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları Kliniği Yardımla Üreme Bölümü, Araştırma Görevlisi

sayı ve büyüklükte folikül ( $\geq 17$  mm) elde edildiğinde ve östradiol yeterli düzeye ( $>300$  pg/ml) ulaştığında stimulator ajanlar kesilip, human chorionic gonadotropin (HCG) uygulanır.<sup>4,5</sup> HCG uygulandığı gün endometrium kalınlığı  $\geq 8$  mm olmalıdır.<sup>6</sup> Birden fazla yumurta elde edilmek istenen her türlü yardımcı üreme tekniğinde yapılması gereken ilk şey ovulasyon indüksiyonudur. Ovulasyon indüksiyonu sonrasında şiddetli ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) görülme olasılığı %0.5'dir.<sup>7</sup> Ayrıca doğal siklusda spontan düşük oranı %11.7'iken, gonadotropinlerle ovulasyon uygulananlarda %28.5'dir.<sup>8</sup>

### Intrauterin İnseminasyon (IUI)

Intrauterin inseminasyon; ovulasyon zamanında hastaya, eşinin laboratuvarında hazırlanmış spermelerinin özel bir kateter yardımıyla verilmesidir. IUI'de spermeler direkt kavum uteriye verildiğinden servikal infertilitede ilk tercih edilmesi gereken tedavi yöntemidir. IUI, kadında bilateral tubal obstrüksiyon, erkekte de ağır sperm kantite ve/veya kalite bozukluğu varsa uygulanamaz. İnseminasyon, kadının doğal siklusu takip edilerek ovulasyon zamanı tespit edilip yapılabileceği gibi, hafif düzeyde ovulasyon induksiyonu sonrası da yapılabilir. Çoğul gebelikten korkulduğu için 1-2 den fazla folikülün gelişmesine mümkün olduğunca izin verilmez. İnseminasyon HCG uygulandıktan 32-40 saat sonra bir kez uygulanabileceği gibi, HCG uygulanmasından 18 ve 42 saat sonra olmak üzere iki kez de uygulanabilir. Ovulasyon öncesi iki kez IUI uygulananlarda gebelik oranı %52.2 iken, bir kez IUI uygulananlarda %8.7 olarak bildirilmiştir.<sup>9</sup>

Tablo 1

IUI endikasyonu için gerekli olan spermiyogram değerleri:<sup>10</sup>

Sperm konsantrasyonu	< 40 milyon/ml
Motilite	<%45
Normal form	<%40

Bu tedavinin avantajı, uygulanması kolay ve ucuz bir yöntem olmasıdır. Buna karşın başarı düzeyi %10-15 ile sınırlıdır. 5-6 siklus IUI denedikten sonra başarılı olunamıyorsa bir sonraki tedavi basamağına geçilmelidir.

### İn Vitro Fertilizasyon (IVF)

1978'de ilk kez uygulanan IVF başlangıçta sadece tubal sterilite hastalarının tedavisi için düşünülmüştü. Fakat daha sonra başka endikasyonlarda da kullanım alanı bulmuştur. Bu diğer endikasyonlar arasında endometriyozis, immun infertilite, erkek infertilitesi ve idyopatik infertilite vardır. IVF bu alanların birçoğunda başarılı olduysa da, ağır erkek infertilitesinde istenilen sonuçlar el-

de edilememiştir.<sup>11</sup> 1997 yılına ait Almanya IVF istatistiklerinde endikasyon dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir.<sup>12</sup>

Tablo 2  
İVF'de etiyolojik dağılım<sup>6</sup>

	%
Tubal	50.6
Androlojik	16
İdyopatik	4.6
Endometriyozis	5.2
Diğer	19.7

Tubal sterilite halen endikasyonların yarısını oluşturmaktadır. Tubal sterilitede IVF mi yoksa mikrocerrahi mi yapılması gerektiği tartışma konusudur. Ancak sınırlı bir hasta grubunda mikrocerrahinin daha başarılı olduğu düşünülmektedir. İkinci sıklıkta androlojik sebepler dik-kati çekmektedir.

Tablo 3

İVF endikasyonunda spermiyogram değerleri

Sperm konsantrasyonu	< 20 milyon/ml
Motilite	<%25
Normal form	<%30

İnfertil erkek hastaların %5-10'unda anti-sperm antikori tespit edilmiştir.<sup>13</sup> Kadında da anti-sperm antikori bulunabilir.<sup>14</sup> Bu hastalarda IVF başarılı sonuçlar vermektedir.

IVF için oositler HCG uygulamasından 36-38 saat sonra toplanır. İlk yıllarda laparoskopi yardımıyla yapılan oosit aspirasyonu, ultrasonun ve vajinal probun geliştirilmesinden sonra transvajinal olarak yapılmaya başlanmıştır.<sup>15</sup> Transvajinal ultrason yardımıyla oosit toplanmasında genel analjezi ve sedasyon yeterlidir. Oosit toplanması sırasında damar ve barsak yaralanması veya oosit toplanmasından sonra enfeksiyon oluşma olasılığı %0.5'den azdır.<sup>12</sup>

Oositler aspire edildikten sonra, hazırlanan sperm ile insemine edilirler. İnseminasyondan 16-18 saat sonra oositlerin fertilize olup olmadıkları değerlendirilir. Embriyolar bölündükten sonra 2. veya 3. gün uterusu veya şayet açıksa tubaya transfer edilirler. Embriyoların tubaya transferine embryo intra fallopian transfer (EIFT) veya tubal embriyo transfer (TET) denilir. Transfer edilecek embriyo sayısı hastanın yaşı ve transfer edilen embriyoların kaliteleri göz önüne alınarak değerlendirilir. Genç hastalarda embriyo implantasyon oranları daha yüksek-

tir. Bu nedenle bu hastalara fazla sayıda embriyo transfer edildiğinde çoğul gebelik riski artar. 1997 yılına ait Almanya IVF istatistiklerinde kadının yaşına bağlı IVF gebelik oranları Tablo 4'de gösterilmiştir. Hastanın yaşı arttıkça gebelik şansı azalmaktadır.<sup>12</sup> IVF uygulanan hastalarda transfer başına gebelik oranı Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada'da 1995 yılı sonuçlarında %30.7 olarak bildirilmiştir.<sup>16</sup> Günümüzde geliştirilen IVF ortamları sayesinde embriyolar blastosist aşamasına (5.-6. gün) kadar geliştirilebilmektedir. Blastosist dönemine kadar geliştirilen embriyoların transferi ile daha yüksek oranda gebelik elde edilebildiği bildirilmiştir.<sup>17</sup>

**Tablo 4**  
Yaşa göre gebelik oranları dağılımı<sup>6</sup>

Yaş	Gebelik oranı (%)
<30	21.9
30-34	22.6
35-39	19.5
>39	12.6

### Gamet İntrafallopian Transfer (GIFT)

Ovulasyon indüksiyonundan sonra transvajinal ultrason yardımıyla oositler toplanır. Laboratuvarda hazırlanan sperm ile oositler transabdominal veya transservikal olarak tubanın ampulla bölümüne verilir. Bu metod ile fertilizasyon tubanın doğal ortamında meydana gelir. Embriyo uterusu uygun zamanda ulaşır. Ayrıca endometriyum embriyo transfer kateteriyle oluşturulan travmadan da korunmuş olur. GIFT'in gebelik oranları genellikle IVF'den %10 oranında daha yüksektir.<sup>18</sup> GIFT uygulanabilmesi için hastanın en azından bir tubasının açık olması, ağır erkek infertilitesinin bulunması ve immüno-lojik probleminin olmaması gerekmektedir. Bu nedenlerden dolayı uygulama alanı oldukça sınırlıdır.

### Zigot İntrafallopian Transferi (ZIFT)

Ovulasyon indüksiyonundan sonra oositler toplanır, in vitro inseminasyondan 16-18 saat sonra fertilizasyon açısından değerlendirilirler. Seçilen zigotlar transabdominal veya transservikal olarak tubaya transfer edilirler. Bu metodun GIFT'e karşı avantajı, fertilizasyon oranlarının değerlendirilebilmesidir.<sup>18</sup>

### İntrasitoplazmik Sperm İnjesiyonu (ICSI)

Yıllar içerisinde IVF'in erkek infertilitesinde yeterli başarıyı gösterememesi bilim adamlarını yeni çözümler için arayışa itmiştir. Erkek infertilitesinde uygulanan birçok ilaç sperm kalitesinde arzu edilen tedavi başarısını gösterememiştir. Bunun üzerine sperm kalitesinin arttırılması yerine, elde olan sperm ile döllemenin artırılmasına çalışılmıştır. Bu yönde ilk geliştirilen metod olan partial zona dissection (PZD) da, sperm geçebilmesi için zona pellucida'da bir delik açılır (Şekil 1).<sup>19</sup> Diğer bir yöntem olarak subzonal sperm injection (SUZI) geliştirilmiştir. SUZI mikroinjeksiyon yardımıyla 2-3 sperm perivitellin aralığına verilmektedir (Şekil 2).<sup>20</sup> PZD ile %16.5, SUZI ile %18.7 transfer başına gebelik oranı sağlanabilmiş, bu sonuçlar tatmin edici bulunmamıştır.<sup>21</sup>

En son geliştirilmiş yöntem olan ICSI, ilk defa 1992 yılında G.Palermo ve arkadaşları tarafından uygulanmıştır (Şekil 3).<sup>22</sup> ICSI'de tek bir sperm, mikroskop altında cam pipet yardımıyla ooplazma içerisine verilir. ICSI ağır erkek infertilitesinde ve IVF ile fertilizasyon sağlanamayan hastalarda başarıyla uygulanır.<sup>23,24</sup> ICSI endikasyonu gerektiren spermiyogram değerleri Tablo 5'te gösterilmiştir.<sup>23,24</sup>

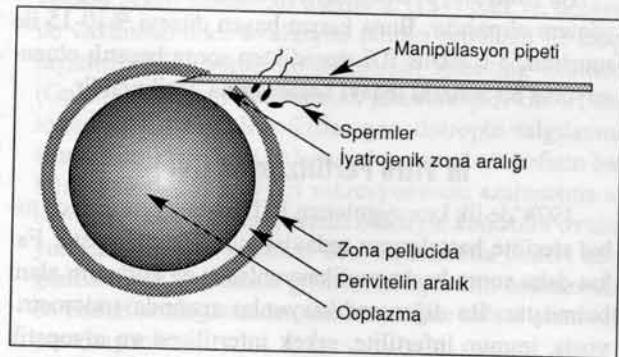
En son geliştirilmiş yöntem olan ICSI, ilk defa 1992 yılında G.Palermo ve arkadaşları tarafından uygulanmıştır (Şekil 3).<sup>22</sup> ICSI'de tek bir sperm, mikroskop altında cam pipet yardımıyla ooplazma içerisine verilir. ICSI ağır erkek infertilitesinde ve IVF ile fertilizasyon sağlanamayan hastalarda başarıyla uygulanır.<sup>23,24</sup> ICSI endikasyonu gerektiren spermiyogram değerleri Tablo 5'te gösterilmiştir.<sup>23,24</sup>

**Tablo 5**  
ICSI endikasyonunda spermiyogram değerleri<sup>25</sup>

Sperm konsantrasyonu	< 10 milyon/ml
Motilite	<%10
Normal form	<%10

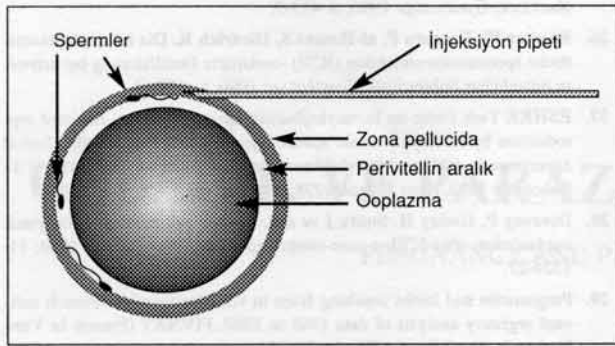
Hastanın ejakülatında hareketli sperm bulunmadığı durumlarda microsurgical epididimal sperm aspiration (MESA) yardımıyla epididimisten hareketli sperm kazanılabilir. Şayet bu mümkün olamıyorsa testicular sperm extraction (TESE) yardımıyla testis dokusundan hareket-siz sperm elde edilir. Bu spermle ICSI uygulanır. Fertilizasyon oranları düşük olmasına rağmen, gebelik elde edilebilir.<sup>26,27</sup>

ICSI'nin fertilizasyon ve gebelik oranları IVF'den çok farklı değildir.<sup>12</sup> Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada'da 1995 yılı ICSI sonrası transfer başına gebelik oranı %31.3 olarak bildirilmiştir.<sup>16</sup> ICSI uygulamasında da hastanın yaşı arttıkça fertilizasyon ve gebelik oranları düşer.<sup>12,28</sup> ICSI sonrası doğan bebeklerde konjenital ma-

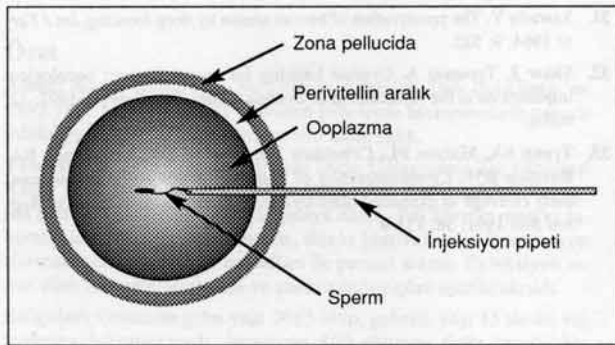


**Şekil 1**  
PZD'da zona pellucida'da delik açılması işlemi

jör malformasyon görülme olasılığı (%2.8) normal popülasyondan (%2.1) farklı değildir.<sup>23,29</sup> ICSI sonrası anormal karyotip görülme olasılığı %2.2'dir.<sup>27</sup>



Şekil 2  
Subzonal sperm injeksiyonu<sup>18</sup>



Şekil 3  
İntrasitoplazmik sperm injeksiyonu<sup>18</sup>

### Assisted Hatching

Zona pellucidası kalın olan embriyolarda uygulanır. Amaç zona pellucidanın kolayca sıyırılması, dolayısı ile embriyonun implantasyon oranının artırılmasıdır. Cam iğnelerle mekanik, asit tyrode solüsyonu ile biyokimyasal olarak uygulanabileceği gibi laser yardımıyla da assisted hatching yapılabilir.<sup>30</sup>

### Dondurma (Kriyo)

Gamet ve embriyo fizyolojisinin son yıllarda daha iyi anlaşılması ve kriyo tekniğindeki gelişmeler, bugün bize yardımcı üreme tedavilerinde büyük bir avantaj sağlamıştır. Spermın dondurulması öteden beri bilinmekteydi.<sup>31</sup> Bu sayede sperm bankaları kurulabildiği gibi, erkeklerin ilerideki bir kaza veya hastalık (ör. kemoterapi gerektiren kanserler) ihtimaline karşı spermelerini saklayabilmeleri de mümkün olmuştur. Embriyo dondurma sistemleri sayesinde transfer edilmeyen embriyoların sonraki sikluslarda kullanılmaları sağlanmıştır. Böylece

hastanın bir kere stimüle edilmesi ile, birden fazla transfer gerçekleştirilebilmektedir. Bu da; kadınların daha az ilaç kullanmalarını ve tedavinin ucuzlamasını sağlar. Son yıllarda immatür ovum hücrelerinin, hatta over dokusunun dondurulmasıyla in vitro şartlarda ovum matürasyonu gerçekleştirilmeye çalışılmaktadır. Bu çalışmalar başarıya ulaşırsa, ileride over dokusunun stimülasyonu laboratuvarlarda gerçekleşecek ve kadınlar hormon stimülasyon tedavisinin zararlı etkilerinden korunmuş olacaklardır. Kemoterapi veya radyoterapi görecektir kadınlar da over dokusu dondurularak uzun yıllar saklanabilir. Pratik anlamda oldukça faydalı olan kriyonun dondurulan hücrede kalite kaybına yol açması, hukuksal ve etik birçok sorunu beraberinde getirmesi dezavantajlarıdır.<sup>32,33</sup>

### Sonuç

Yardımla üreme teknikleri günümüzde bir çok infertil hastanın tedavisinde başarıyla uygulanmaktadır. Ancak yardımla üreme teknikleri yüksek teknolojiye ve uzman ekibe ihtiyaç göstermektedir, bu da tedavinin oldukça pahalı olmasına yol açar. İnfertil hastaların tedavisinde yaş çok önemli bir faktördür. Hastanın yaşı arttıkça gebelik şansı azalır. Bu sebeple infertil hastalarda, erken tanı ve süratle tedaviye yönlendirme çok önemlidir. Ayrıca unutulmamalıdır ki, infertilite tanı ve tedavisi, çifti psikolojik açıdan da oldukça yıpratır. Hastaların bu yönden mutlaka desteklenmesi gerekmektedir.

### Kaynaklar

1. Mosher WD, Pratt WF. Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. *Fertil Steril* 1991; 56: 192.
2. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the re-implantation of a human embryo. *Lancet* 1978; 2: 366.
3. Olivennes F, Rongieres-Bertrand C, Righini C ve ark. The use in IVF-embryo transfer of a new GnRH antagonist (Cetrorelix) in natural cycles associated with minimal stimulation. [özet]. *Hum Reprod* 1998; 13: 195.
4. Silverberg KM, Olive DL, Burns WN ve ark. Follicular size at the time of human chorionic gonadotropin administration predicts ovulation outcome in human menopausal gonadotropin-stimulated cycles. *Fertil Steril* 1991; 56: 296-300.
5. Dodson WC, Haney AF. Controlled ovarian hyperstimulation and intrauterine insemination for treatment of infertility. *Fertil Steril* 1991; 55: 457-67.
6. Gonen Y, Casper RF, Jacobson W, Blankier J. Endometrial thickness and growth during ovarian stimulation: a possible predictor of implantation in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1983; 3: 446-50.
7. Forman RG, Frydman R, Egan D ve ark. Severe ovarian hyperstimulation syndrome using agonists of gonatotropin-releasing hormone for in vitro fertilization: a European series and a proposal for prevention. *Fertil Steril* 1990; 53: 502-9.
8. Ransom MX, Bohrer M, Blotner MB, Kemmann E. The difference in miscarriage rates between menotropin-induced and natural cycle pregnancies is not surveillance related. *Fertil Steril* 1993; 59: 567-70.
9. Silverberg K, Johnson JV, Olive DL ve ark. A prospective, randomized trial comparing two different intrauterine insemination regimens in controlled ovarian hyperstimulation cycles. *Fertil Steril* 1992; 57: 357-61.
10. Kerin JFP, Peek J, Warnes GM ve ark. Improved conception rate after intrauterine insemination of washed spermatozoa from men with poor quality semen. *Lancet* 1984; i: 533-5.

11. Tournaye H, Devroey P, Camus M *ve ark.* Comparison of in-vitro fertilization in male and tubal infertility: a 3-year survey. *Hum Reprod* 1992; 7: 218-22.
12. Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe. *Deutsches IVF Register* 1997; 9-13.
13. Şahmay S, Özörnek H, Alper T. İmmünolojik infertilite. *Jinekoloji ve Obstetrik Dergisi* 1992; 6: 70-80.
14. Moustafa M, Özörnek MH, Krüssel JS, Bielfeld P. The effect of anti-gamete antibodies on the success of assisted reproduction. *Clin Exp Obst Gyn* 1997; 2: 67-9.
15. Gleicher N, Friberg J, Fullan N *ve ark.* Egg retrieval for in-vitro fertilization by sonographically controlled vaginal culdocentesis. *Lancet* 1953; 2: 508.
16. Society for Assisted Reproductive Technology and the American Society for Reproductive Medicine. Assisted reproductive technology in the United States and Canada: 1995 results generated from the American Society for Reproductive Medicine/Society for Assisted Reproductive Technology Registry. *Fertil Steril* 1998; 69: 389-98.
17. Jones GM, Trounson AO, Gardner DK, Kausche A, Lolatgis N, Wood C. Evolution of a culture protocol for successful blastocyst development and pregnancy. *Hum Reprod* 1998; 13: 169-77.
18. Wecestein LN, Goldsman MP, Asch RH. Gameto/zygote intrafallopian tube transfer. *Reproductive Endocrinology, Surgery, and Technology'de*. Ed. Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z. 2. cilt. New York, Lippincott-Raven, 1996; 2335-523.
19. Colen J, Malter H, Fehilly C *ve ark.* Implantation of embryos after partial opening of oocyte zona pellucida to facilitate sperm penetration. *Lancet* 1998; ii: 162.
20. Ng S-C, Bongso A, Ratnam SS *ve ark.* Pregnancy after transfer of sperm under zona. *Lancet* 1998; ii: 790.
21. Tarin JJ. Subzonal insemination, partial zona dissection or intracytoplasmic sperm injection? An easy decision? *Hum Reprod* 1995; 10: 165-70.
22. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem A. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992; 340: 17-8.
23. Schlegel PN, Giardi SK. In vitro fertilization for male factor infertility. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 709-16.
24. Özörnek MH, Krüssel JS, Bielfeld P. Mikromanipulasyon: Erkek infertilitesinde başarılı çözüm. *Jinekoloji ve Obstetrik Dergisi* 1996; 10: 181-4.
25. Diedrich K, Felberbaum R, Baumann P. Assistierte reproduktion-Ein überblick. *Gynäkologe* 1996; 6: 413-9.
26. Küpker W, Fornara P, al-Hasani S, Diedrich K. Die intrazytoplasmatische spermatozoeninjektion (ICSI) -assistierte Fertilisierung bei schwere männlicher Subfertilität. *Gynäkologe* 1996; 6: 453-63.
27. ESHRE Task Force on Intracytoplasmic Sperm Injection. Assisted reproduction by intracytoplasmic sperm injection: a survey on the clinical experience in 1994 and the children born after ICSI, carried out until 31 December 1993. *Hum Reprod* 1998; 13: 1737-46.
28. Devroey P, Godoy H, Smitz J *ve ark.* Female age predicts embryonic implantation after ICSI: a case-controlled study. *Hum Reprod* 1996; 11: 1324-27.
29. Pregnancies and births resulting from in vitro fertilization: French national registry analysis of data 1986 to 1990. FIVNAT (French In Vitro National). *Fertil Steril* 1995; 64: 746-56.
30. Cohen J, Munne S, Palermo GD. Microsurgery in preimplantation embryology. *Reproductive Endocrinology, Surgery, and Technology'de*. Ed. Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z. 2. cilt New York, Lippincott-Raven 1996; 2367-83.
31. Sawada Y. The preservation of human semen by deep freezing. *Int J Fertil* 1964; 9: 525.
32. Shaw J, Trounson A. Ovarian banking for cancer patient: oncological implications in the replacement of ovarian tissue. *Hum Reprod* 1997; 12: 403-5.
33. Troup SA, Matson PL, Critchlow JD, Morroll DR, Lieberman BA, Burslem RW. Cryopreservation of human embryos at the pronucleate, early cleavage or expanded blastocyst stages. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1991; 38: 133-9.

Geliş tarihi: 05. 05. 1998

Kabul tarihi: 10. 08. 1998

**İletişim adresi:**

Dr. M. Hakan Özörnek  
 Üniversitätsfrauenklinik Moorenstr. 5,  
 Düsseldorf 40225 DEUTSCHLAND  
 Tel : (0211) 811 85 83  
 Faks : (0211) 811 81 47  
 e-posta: oezoerne@uni-duesseldorf.de