

FERTİLİZASYON

Yrd.Doç.Dr. Emel ALAN

Embriyolojide terimler

- **Gonadlar:** Dişide ovaryumlar (yumurtalıklar), erkekte de testislerdir.
- **Gametler:** Yeni bir canlının gelişmesini başlatmak için bir araya gelen dişi ve erkek cinsiyet hücreleridir.
- **Gametogenezis:** Dişi ve erkek cinsiyet hücrelerinin gelişip çoğalması.
- **Spermatogenezis:** Erkek cinsiyet hücrelerinin testislerde gelişip çoğalması.
- **Ovogenezis:** Dişi cinsiyet hücrelerinin testislerde gelişip çoğalması.
- **Spermatozoon (spermiyum):** Erkek cinsiyet hücresi
- **Ovum (Ovosit II):** Dişi eşey hücresi
- **Fertilizasyon (Fekondasyon):** Döllenme
- **Zigot:** Spermatozoon ve ovumun birleşmesinden oluşan tek hücre

Embriyolojide terimler

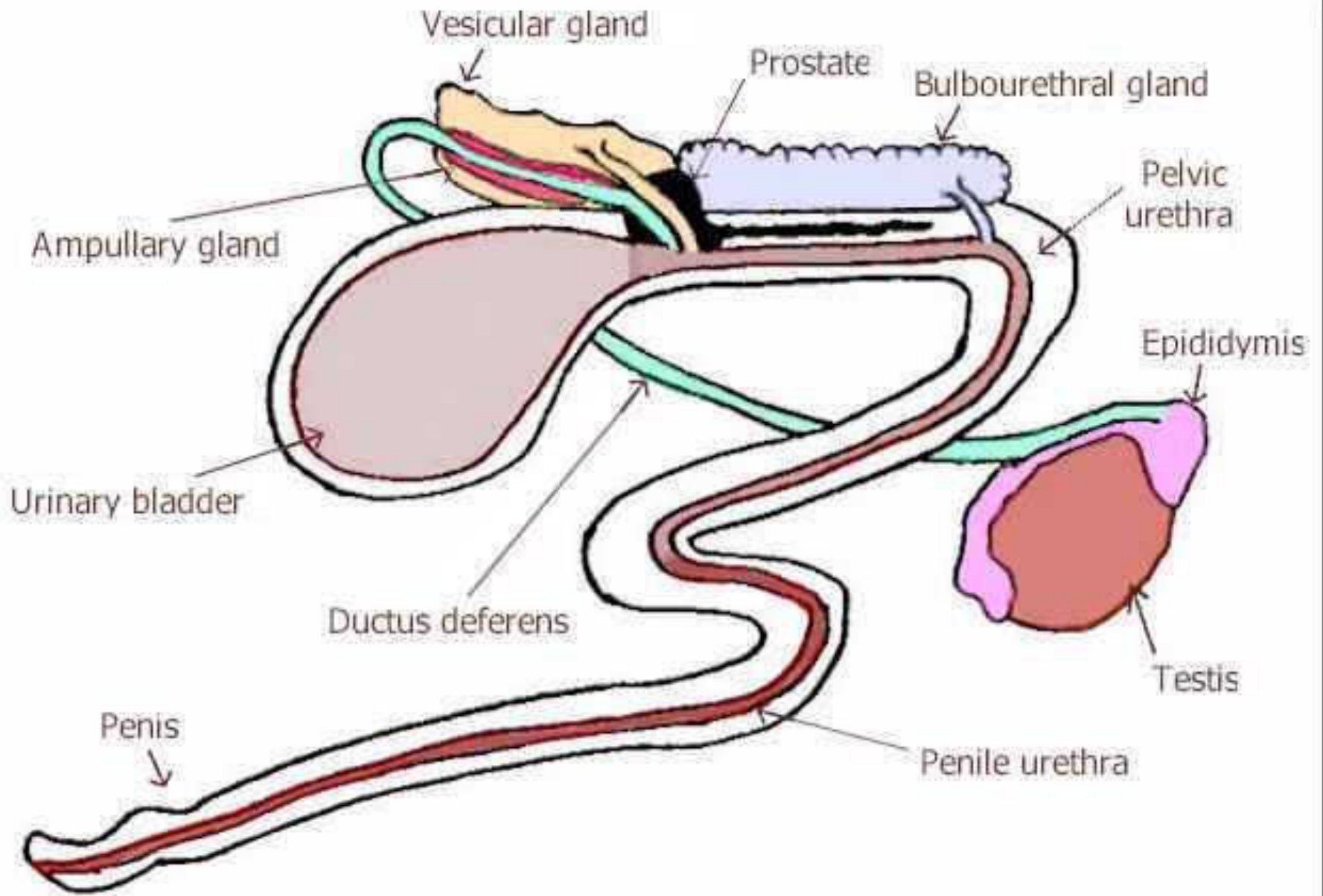
- **Natus:** Doğmak, doğum.
- **Prenatal devre:** Hayatın doğuma kadar olan bölümü, insanda uterus (rahim) içinde geçer.
- **Kuluçka devresi:** Kanatlılarda döllenmeden sonra yumurta içinde geçen devre.
- **Postnatal devre:** Memelilerde doğumdan, kanatlılarda ise kuluçkadan çıktıktan sonraki devre.
- **Embriyonal devre:** Zigotun şekillenmesinden organları meydana gelmesine kadar geçen devre
- **Embriyo:** Embriyonal devredeki canlıya verilen isim.
- **Fötal devre:** Organların şekillenmeye başlamasından doğuma kadar geçen devre.
- **Fötüs:** Fötal devredeki canlıya verilen isim.

Embriyolojide terimler

- **Puberta:** Cinsel olgunluk.
- **Menopoz:** Kadınlarda üremenin sona ermesi.
- **Andropoz:** Erkeklerde üremenin sona ermesi.
- **Yarıklanma (Cleavage):** Döllenme başlangıcından sonra zigotun mitozla bölünmesi.
- **Blastomer:** Zigotun yarıklanma sonucunda meydana gelen yavru hücreler.
- **İmplantasyon:** Embriyo taslağının (Blastosist) kendini örten zarlarla uterus mukozasına bağlanması
- **Differensiyasyon:** Embriyo taslağının çeşitli yapı ve sistemleri oluşturmak üzere farklılaşması.
- **Proliferasyon:** Üreme, çoğalma.

Erkek üreme sistemi

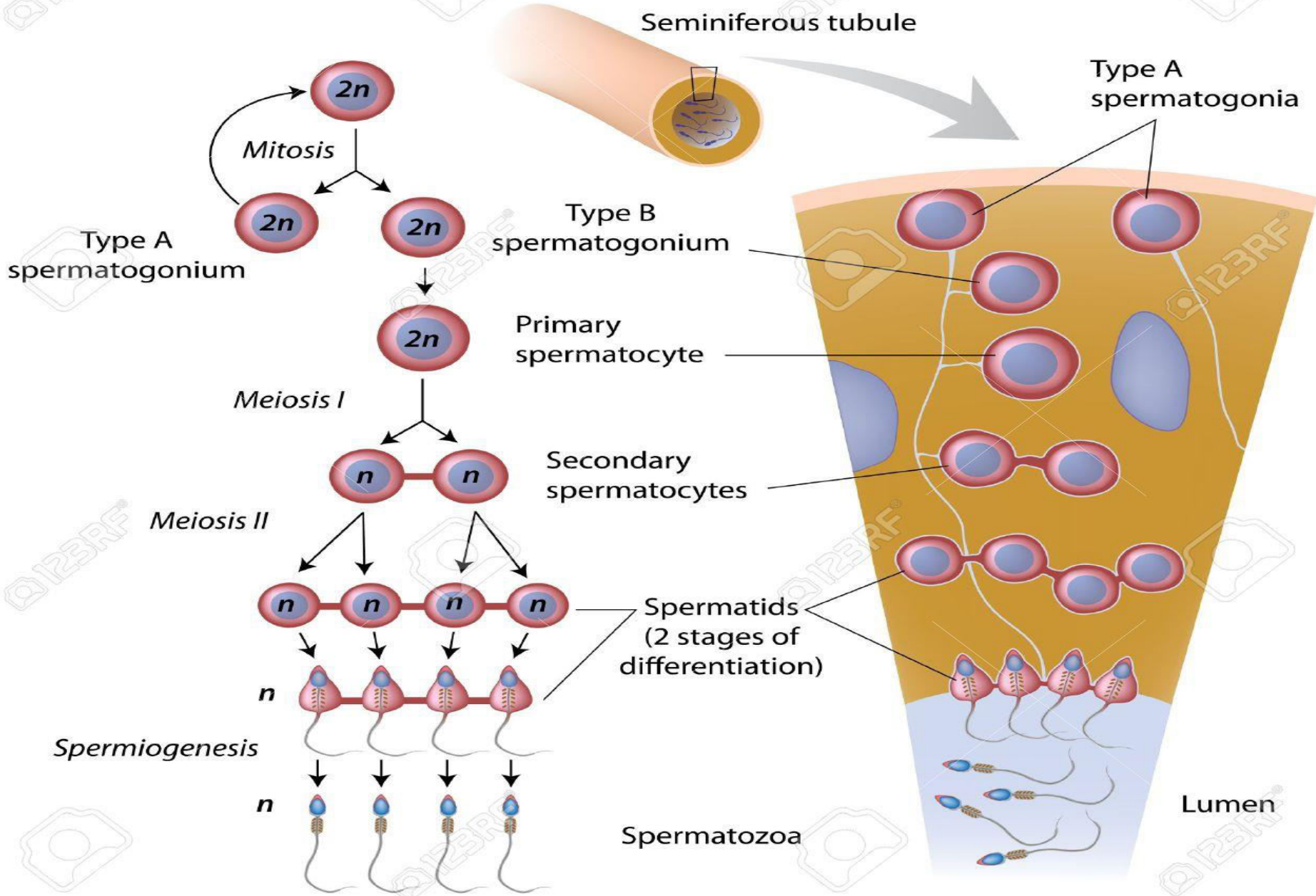
- Testisler
- Erkek genital bezler
 - Gl. Vezikula Seminalis,
 - Prostat bezi,
 - Gl. Bulboüretal bez
- Yardımcı kanallar
 - Epididimis,
 - Ductus deferens,
 - Ejekülatör kanal,
 - Üretra
- • Penis



Spermatogenez

- Aktif seksüel yaşam sürecinde, adeno hipofizin gonadotropik hormonlarının uyarısı sonucunda testislerdeki seminifer tubullerde gerçekleşen ve yaşam boyu süren olgun spermatozoon oluşma sürecidir.
- Testosteron, LH, FSH ve östrojenler spermatogenezde etkili olan hormonlardır.
- Testislerdeki ısı artışı spermatogenezisi engeller, testislerin ısısı vücut ısısından 2 derece daha düşüktür.

Spermatogenesis



Semen

- Epididimis, seminal veziküller, prostat bezi ve bulboüretral bezlerden yapılan salgılara spermium ile birlikte semen adı verilir.

Spermiyum

- Seminifer tubullerde oluşan spermiyumlar epididimiste kaldıktan sonra hareket ve dölleme yeteneği kazanırlar.
- Genç erişkinde iki testis günde yaklaşık 120 milyon spermiyum üretirler.
- Olgun spermiyum hareketlidir ve sıvı ortamda dakikada 1-4 mm hızla hareket eder.
- Spermiyum erkek genital kanallarında 1-2 hafta canlı kalabildiği halde kadın genital kanallarında sadece 1- 2 gün yaşar.

Spermiyum sayısı ve fertilité

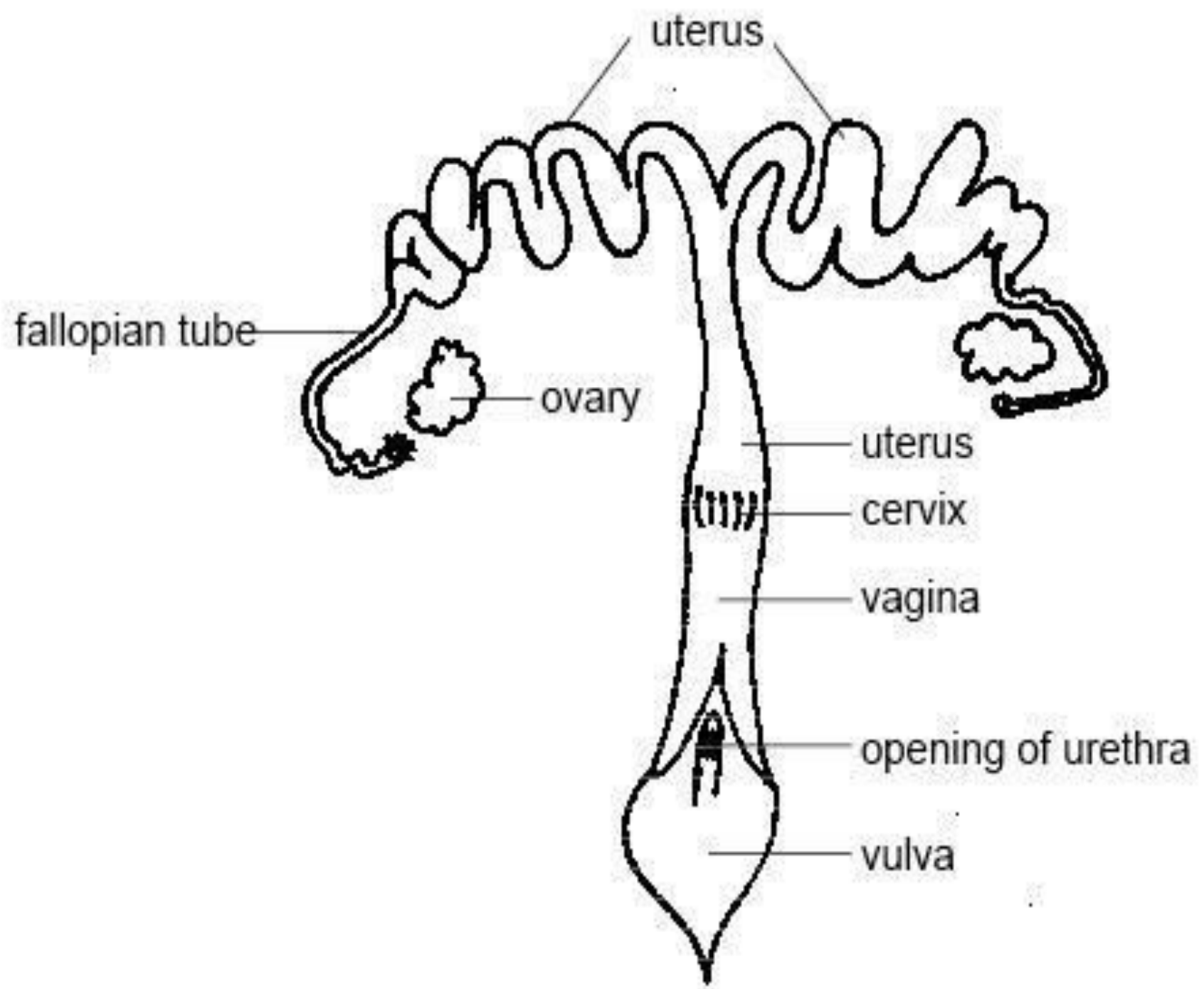
- Her koitusta ejakülattaki semen miktarı 3,5 ml kadardır ve her ml de yaklaşık 120 milyon spermiyum bulunur.
- Mililitredeki spermiyum sayısının 20 milyonun altına düşmesi durumunda kişi infertil olmaya adaydır.

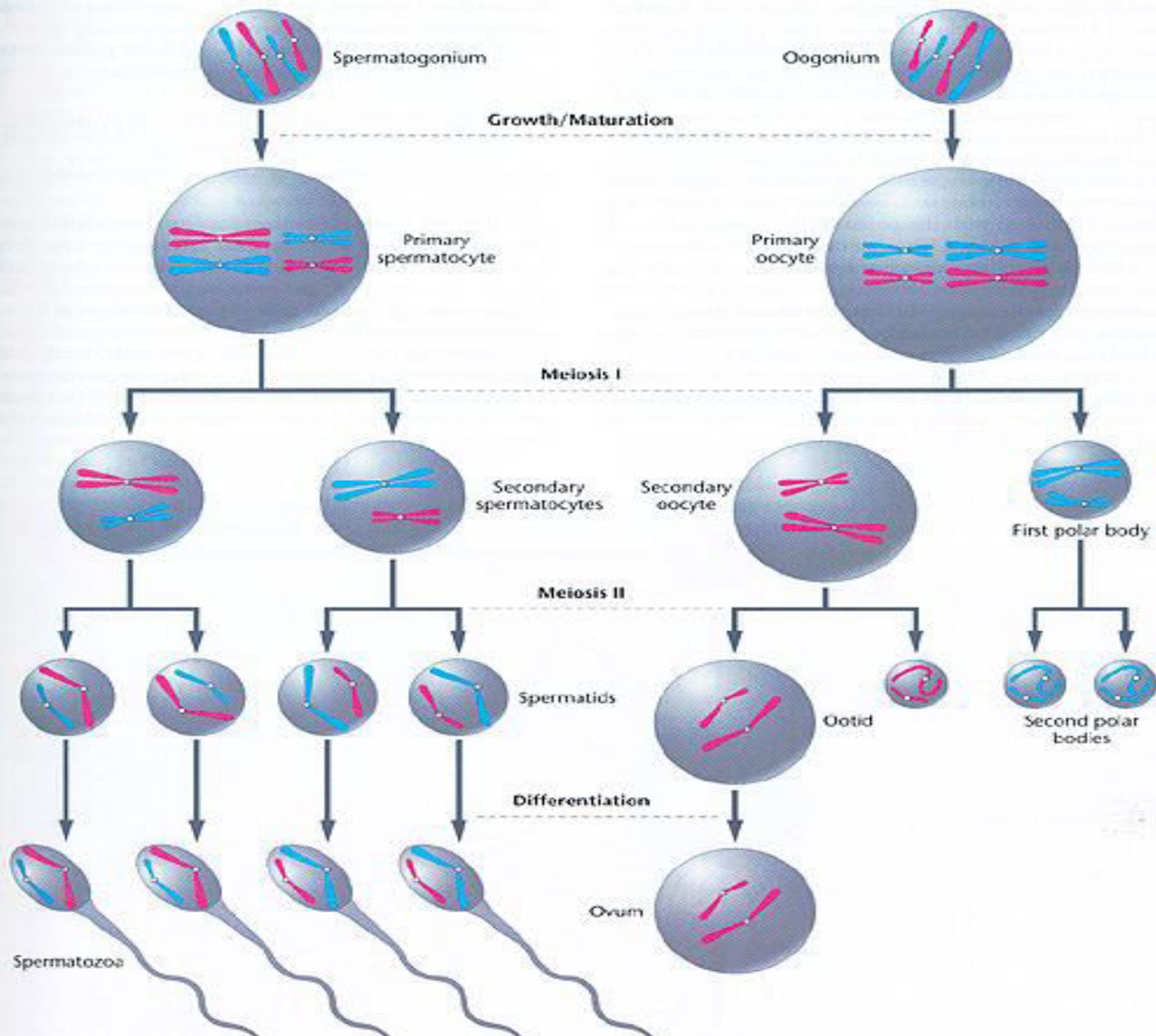
Tablo 3.1. Evcil hayvanlarda dişi üreme kanalına atılan ejakülat hacmi, ml'deki spermatozoon sayısı ve ejakülatın atıldığı bölge.

Hayvan türü	Yaklaşık olarak ejakülat hacmi (ml)	1 ml'deki spermatozoon sayısı ($\times 10^6$)	Ejakülatın atıldığı dişi genital kanal bölgesi
Kedi	0.5	60	Vagina
Sığır	4.0	800-1,500	Vagina
Köpek	10	250	Uterus
At	70	150-300	Uterus
Domuz	250	200-300	Uterus
Koyun	1.0	2,000-3,000	Vagina

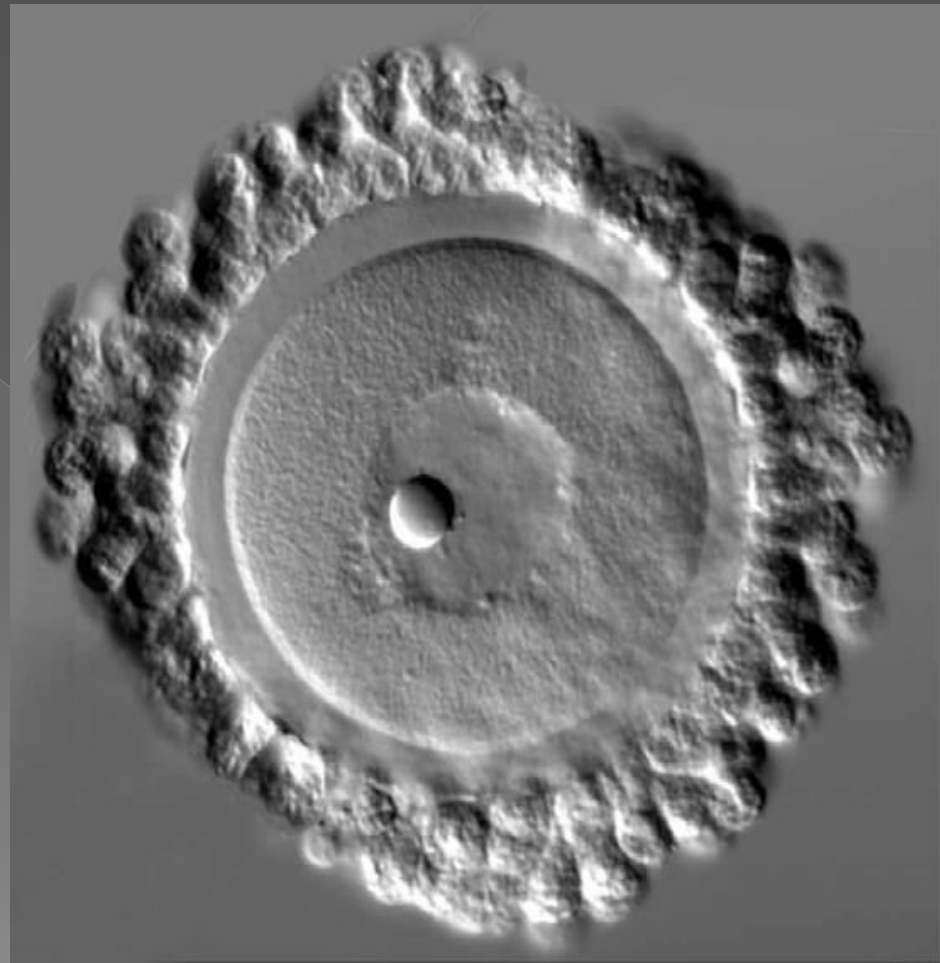
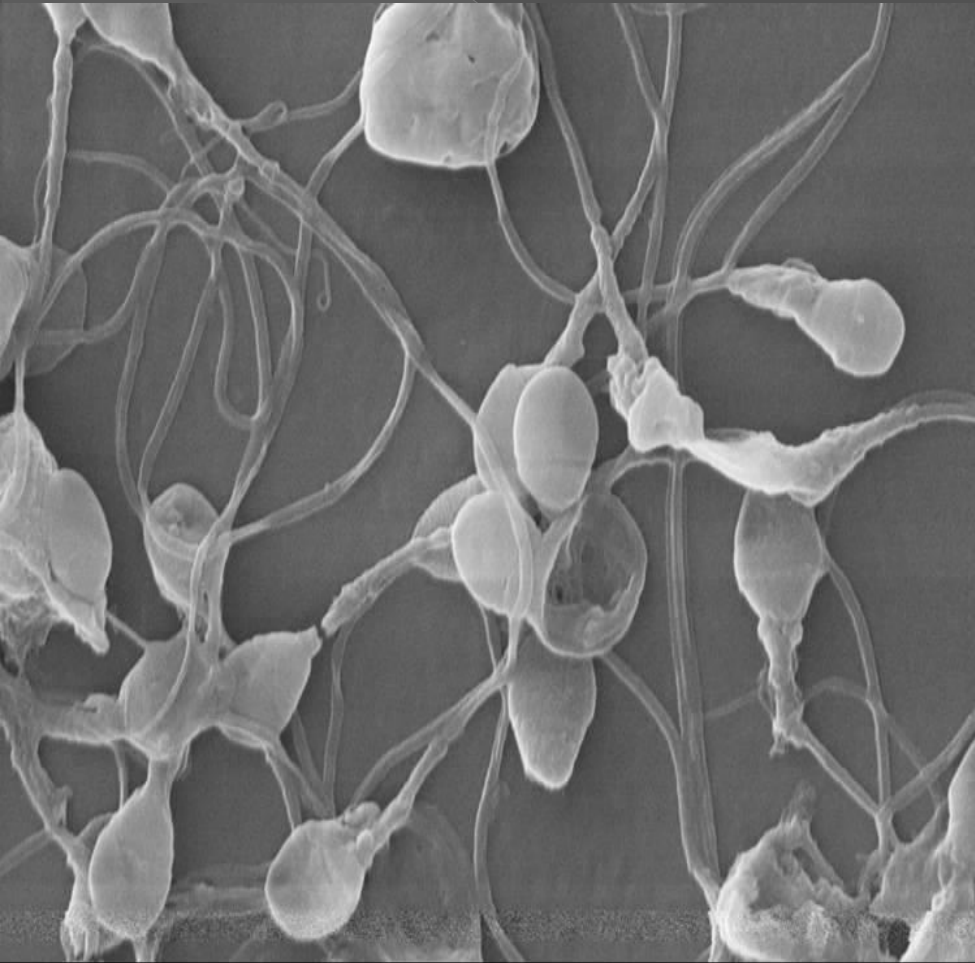
Dişi Üreme Sistemi

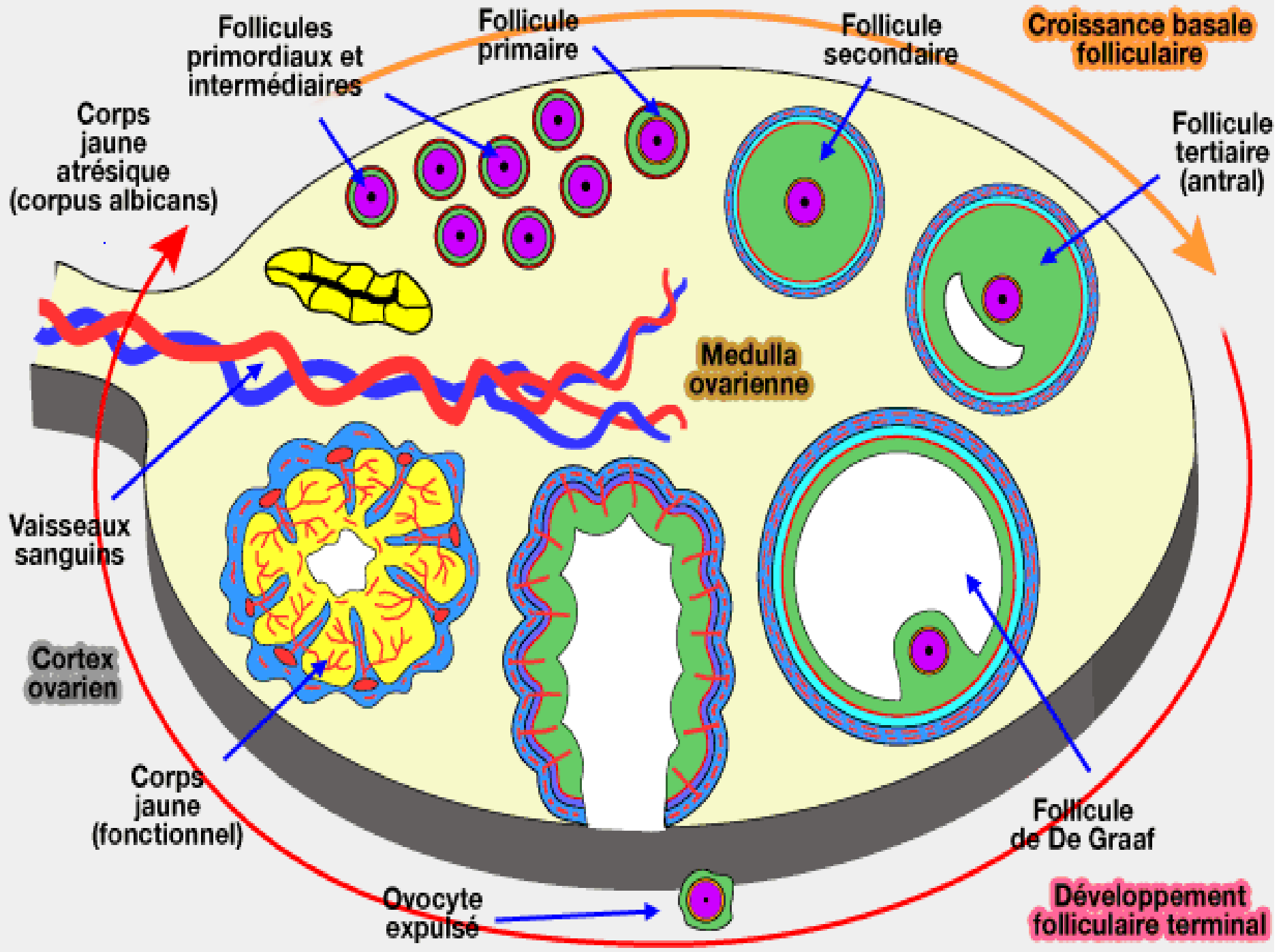
- Dişi üreme sistemi daha komplekstir.
- Yumurta hücresi üretimi yanında, fertilizasyondan sonra embriyonun beslenmesi, taşınması, korunması gibi işlevleri de vardır.
- Yapılar;
 1. Ovaryumlar,
 2. Tuba uterina (Salpinks, Ovidukt, Fallop tüpü),
 3. Uterus,
 4. Serviks,
 5. Vajina,
 6. Vulva,
 7. Meme bezleri





Gametler





Genital Siklus

- Puberteye ulaşan bir dişide hipotalamus ve hipofizin kontrolü altında ovaryum ve uterusda bazı değişiklikler meydana gelir.
- Ovaryumdaki değişiklikler **ovariyal siklus**dur.
- Uterusda meydana gelenler ise **uterinal siklus**dur.
- Ovaryum ve uterusda meydana gelen deęişikliklerin tümüne birden **genital siklus** veya **seksüel siklus** denir.

Ovariyal Siklus

- Siklusun devam edebilmesi için hipotalamusdan Gonodotropin Releasing Hormonun (GnRH) salgılanması gerekir.
- Kan yolu ile hipofiz ön lobuna gelen GnRH, FSH ve LH salgılanmasını uyarır.
- FSH ovaryum folliküllerini geliştirir ve östrojen salgısı artar.
- Östrojen dişi genital organlarda değişiklikler yaparak dişiyi gebeliğe hazırlar.

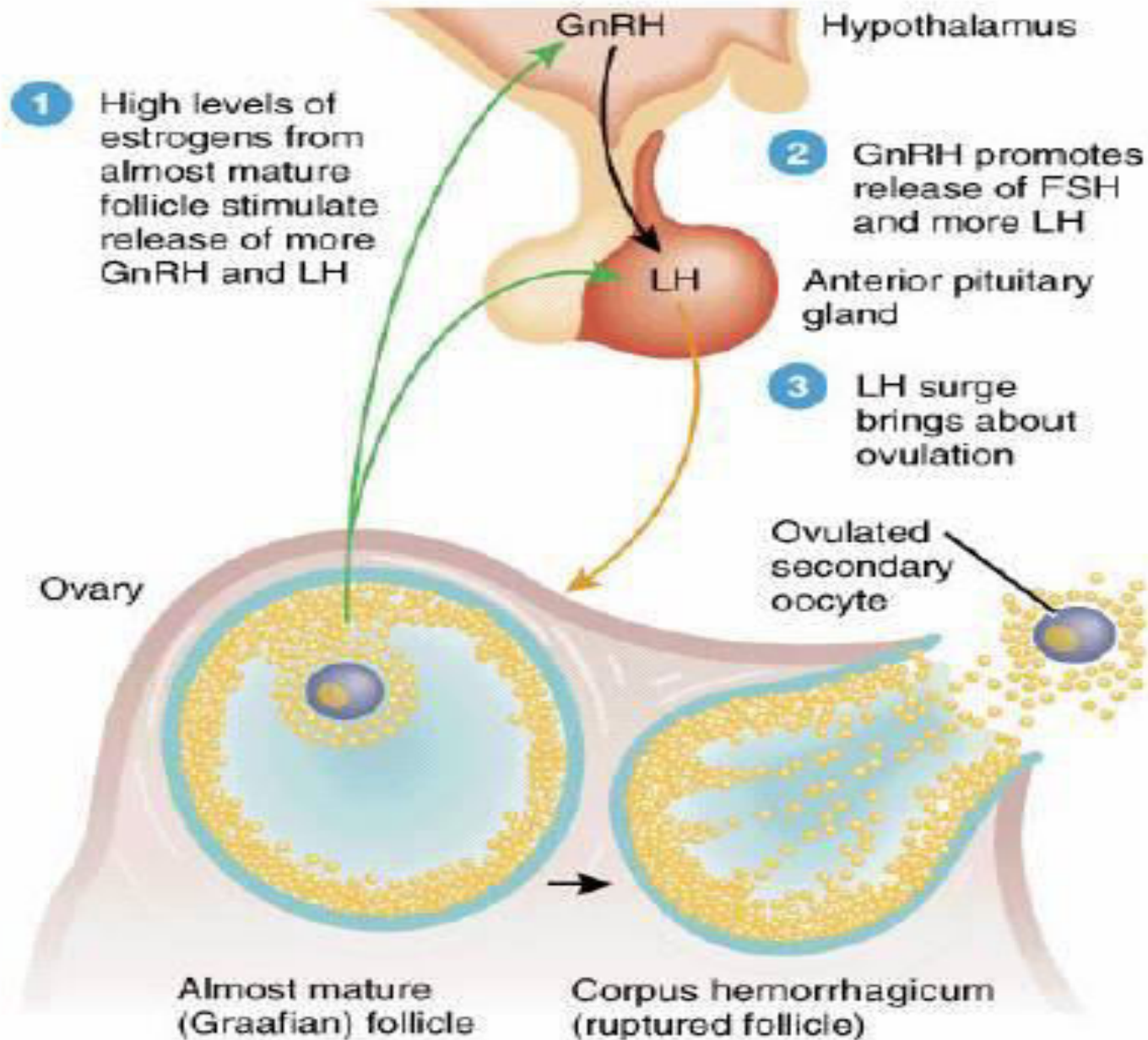
Ovariyal Siklus

- Östrojen kanda belirli bir yoğunluğa ulaşınca hipotalamusdan yeni bir GnRH salgılanır.
- Bu hormon hipofiz ön lobundan LH salgılanmasını uyarır.
- LH, graaf folikülünü patlatır ve ovulasyona neden olur.
- Ovaryumda korpus luteum şekillenir ve progesteron salgılamaya başlar.
- Dişi gebeliğe hazırlanır.

Ovulasyon

- Ovaryumun korteksinde yer alan ve yüzeye dayanan Graaf folikülünün germinatif epitele basınç yapması sonucunda follikülün patlayarak yumurta hücresinin (ovum) etrafında bulunan korona radiata hücreleri ile birlikte tuba uterinaya atılmasıdır.

Ovulation



Corpus Luteum

- Ovulasyon sonucunda oluşan ilk yapı **korpus hemorajikumdur**.
- Granuloza hücreleri ile teka hücreleri çoğalır ve hipertrofiye uğrayarak granuloza lutein hücreleri ve teka lutein hücrelerine dönüşür.
- Bu büyük oluşum **corpus luteum (sarı cisim)**'dir.
- Endokrin bir bez gibi aktivite gösterir.
- Progesteron, az miktarda da oksitosin ve östrojen salgılayarak hipofizden FSH ve LH salınmasını önler.
- Korpus luteumdan az miktarda relaksin hormonunda salgılanır.

Corpus Luteum

- ◉ Döllenme olursa plasenta tarafından salgılanan koriyonik gonadotropin hormonu corpus luteumun etkisini artırır.
- ◉ Uterus düz kas kontraksiyonunu engeller ve uterusun bezlerinin gelişimini uyarır.
- ◉ Gebelik korpus luteumuna **korpus luteum gravididas**, **korpus luteum pregnansi** ya da **korpus luteum verum** adı verilir.
- ◉ Döllenme olmazsa kısa bir süre varlığını sürdürür ve **korpus luteum periyodikum** ya da **korpus luteum spurium** adını alır.

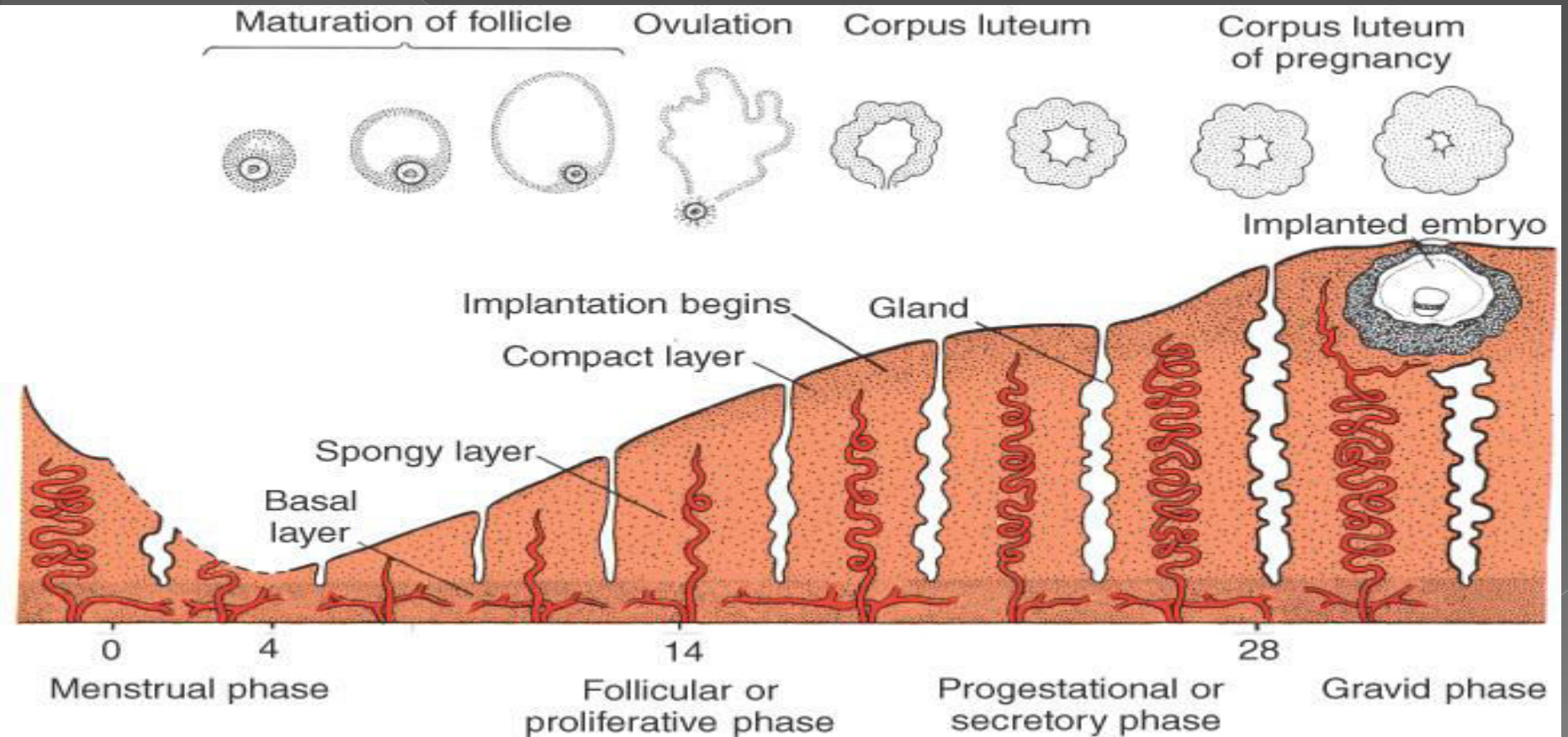
Döllenme şekillenmezse ne olur?

- Hipofizden salgılanan oksitosin ve ovaryumdan salgılanan östrojen siklusun 16. gününden itibaren endometriyumdan prostaglandin salgısını uyarır, kan yolu ile ovaryuma gelir ve korpus luteumdan progesteron sentezini durdurur.
- Kanda progesteron ve östrojen seviyeleri hızla düşer.
- Uterus mukozası kanlı ve kabarık durumunu kaybeder.
- İnsanda bu devrede mukozanın incelmeye başlaması yanı sıra kanama görülür (**menstruasyon kanaması**).
- Gonadotropinlerin salgılanması başlar yeni bir östrus dönemi oluşur. Folliküller tekrar gelişmeye başlar.

Uterinal siklus

- Uterinal siklusda 3 evre görülür: proliferasyon evresi, sekresyon evresi ve involüsyon evresi.
- **Proliferasyon evresi:** Bu evrede endometriyumda kalınlaşma, lamina propriyada genişleme ve uterus bezlerinin büyümesi gerçekleşir.
- **Sekresyon evresi:** Uterus bezleri salgı yapmaya başlar ve lamina propriya oldukça ödemlidir.
- **İnvolüsyon evresi:** Döllenme olmazsa sekresyon biter, uterus bezleri küçülmeye başlar ve endometriyum kalınlığı azalır.

Genital Siklus



Östrus siklusunu gösterme özelliklerine göre;

1-Monoöstrik hayvanlar: İki östrus arasında bir anöstrus dönemi olanlar. Köpek ve yabani etçiller.

2-Poliöstrik hayvanlar: Gebe olmadıkları sürelerde düzenli olarak östrus gösterirler. İnek ve domuz.

3-Mevsime bağlı poliöstrik hayvanlar: Belirli mevsimlerde gebe kalmadıkları sürece birkaç kez östrus gösterirler. Kısrak, koyun ,keçi, kedi.

Kapasitasyon

- Kapasitasyon dişi genital yollarında kazanılır ve 7 saat sürer.
- Kapasitasyon sırasında tuba uterina epitel yüzeyi ile spermiyum arasındaki etkileşim sonucu spermiyumun akrozom bölgesindeki glikoprotein kılıf ve seminal plazma proteinleri ortamdandan uzaklaştırılır.
- Böylelikle akrozom başı çıplak kalır.
- Kapasitasyon tamamlanması akrozom reaksiyonunun tamamlanmasına izin verir.

Akrozom Reaksiyonu

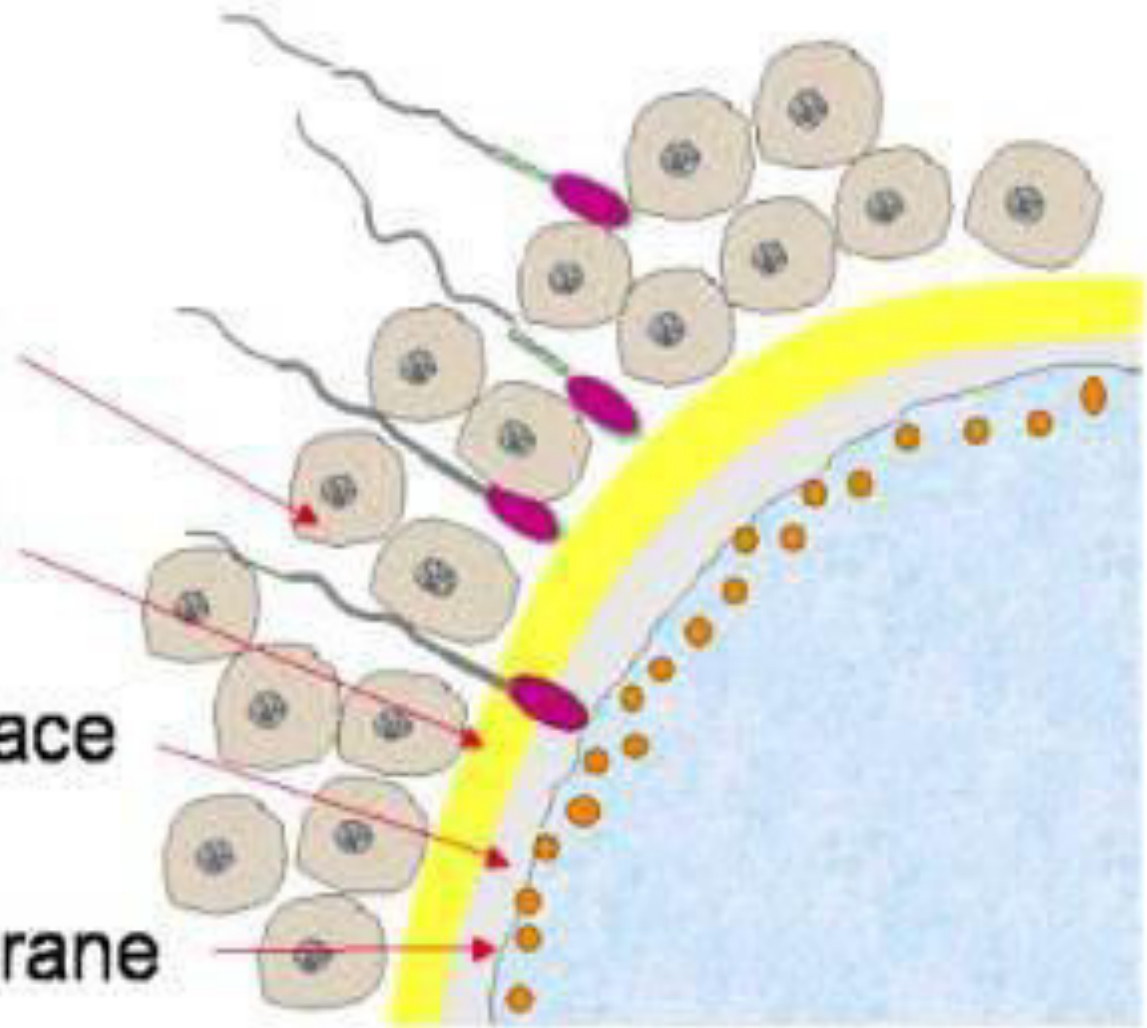
- Spermiyumun akrozom içindeki litik enzimlerin salınmasını ve oositi örten örtüleri geçmesini sağlayan bir reaksiyondur.
- **Hyaluronidaz:** corona radiata bariyerinin geçilmesini sağlar.
- **Tripsin benzeri maddeler:** zona pellicudayı eritirler.
- **Akrozin:** spermiyumun zona pellicuda içinden geçmesini sağlar.

1. the corona radiata

2. the zona pellucida

3. the perivitelline space

4. the vitelline membrane



Zona Reaksiyonu

- Spermiumlar zona pellicudaya temas ettiđi anda hemen bađlanır ve içeri girer.
- Zona pellicudanın geçirgenliđi bu temasla birlikte deđiřir.
- Oositten lizozomal enzimlerin salınması ile birlikte zona pellicudanın yapısı değişir.
- Buna **zona reaksiyonu** denir ve bu olay spermiumların türe özgü reseptör bölgelerini inaktive eder.

Fertilizasyon Reaksiyonu

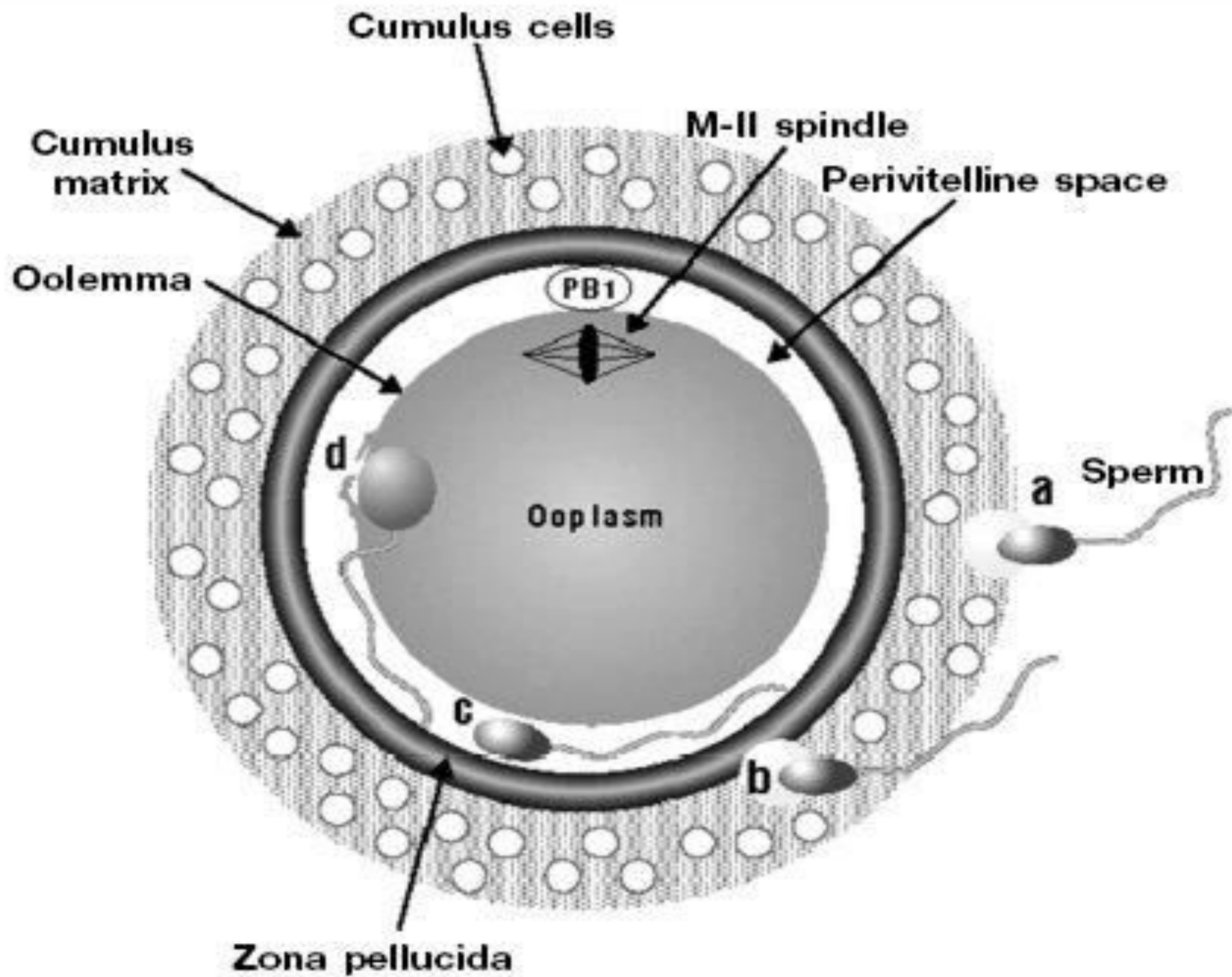
- Fertilizasyon mekanizması çeşitli hayvan grupları arasında bazı farklılıklar gösterir.
- Birden fazla spermiumun ovuma penetre olmasına **polispermi** denir (Amfibi, sürüngen ve kanatlı). Fakat bunlardan yalnız birinin baş kısmı (nukleusu) yumurta hücresinin nukleusuna yaklaşır ve onunla kaynaşır (**karyogamy**).
- Tek bir spermiumun ovuma penetre olma durumuna ise **monospermi** denir (insan ve memeli hayvanlar).

Fertilizasyon (Döllenme, Fekondasyon)

- Tuba uterinanın ampulla bölgesinde spermium ve oosit membranları kaynaşır ve spermium hücre membranını dışarıda bırakarak sadece baş ve kuyruk kısmı ile birlikte içeri girer.
- II. Mayoz bölünme tamamlanır.

Fertilizasyon

- Penetrasyondan sonra spermiyumdan erkek pronukleusu oluşur.
- Erkek ve dişi pronukleusları kaynaşır.
- Bu kaynaşmadan önce her iki pronukleusda DNA replikasyonu olur.
- Bunun nedeni ilk bölünmeden sonra meydana gelen 2 hücrenin DNA miktarının diploid olabilmesi içindir.
- Kromozomlar iğ iplikçikleri üzerinde yerleşirler ve oluşan 46 kromozomun 23'ü bir hücreye 23'ü diğer hücreye gider.



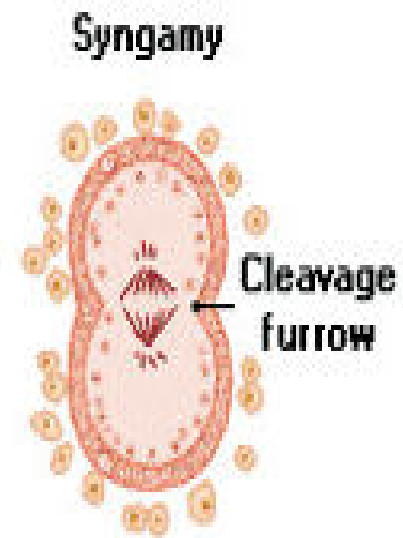
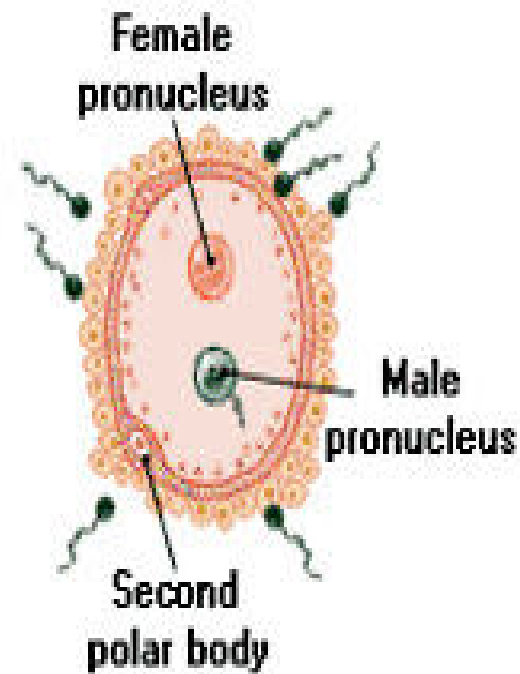
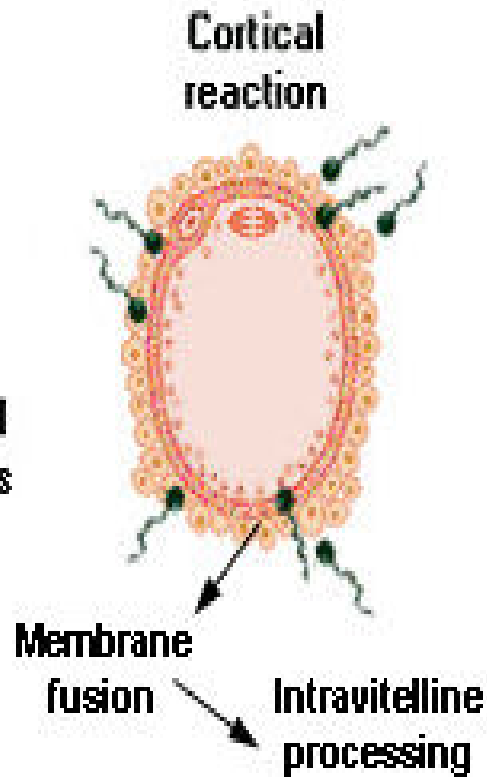
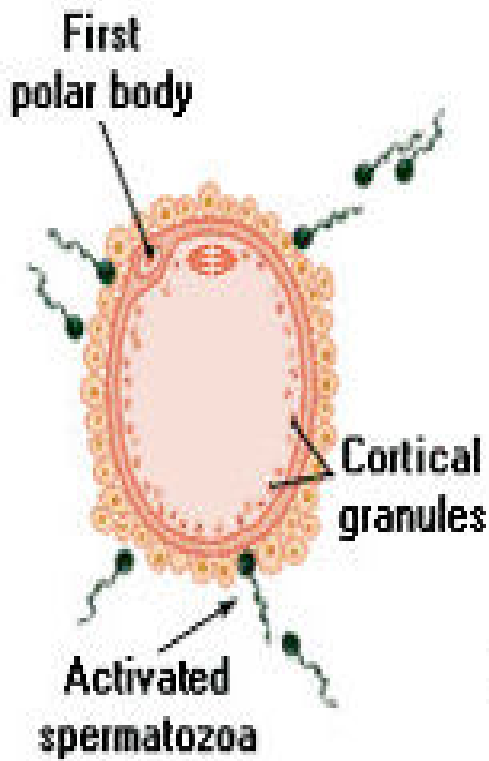
Fertilizasyon (Döllenme, Fekondasyon)

- Spermiumlar dişi genital yollarında 24 saat canlı kalabilmektedir.
- Yine sekonder oositte ovulasyondan sonra 12–24 saat arasında canlı kalmaktadır.
- Spermium dişi genital sistemine girdiğinde döllenme yeteneğinde değildir.
- Yani henüz kapasitasyon kazanmamıştır.



Fertilizasyon Nerede Olur ?

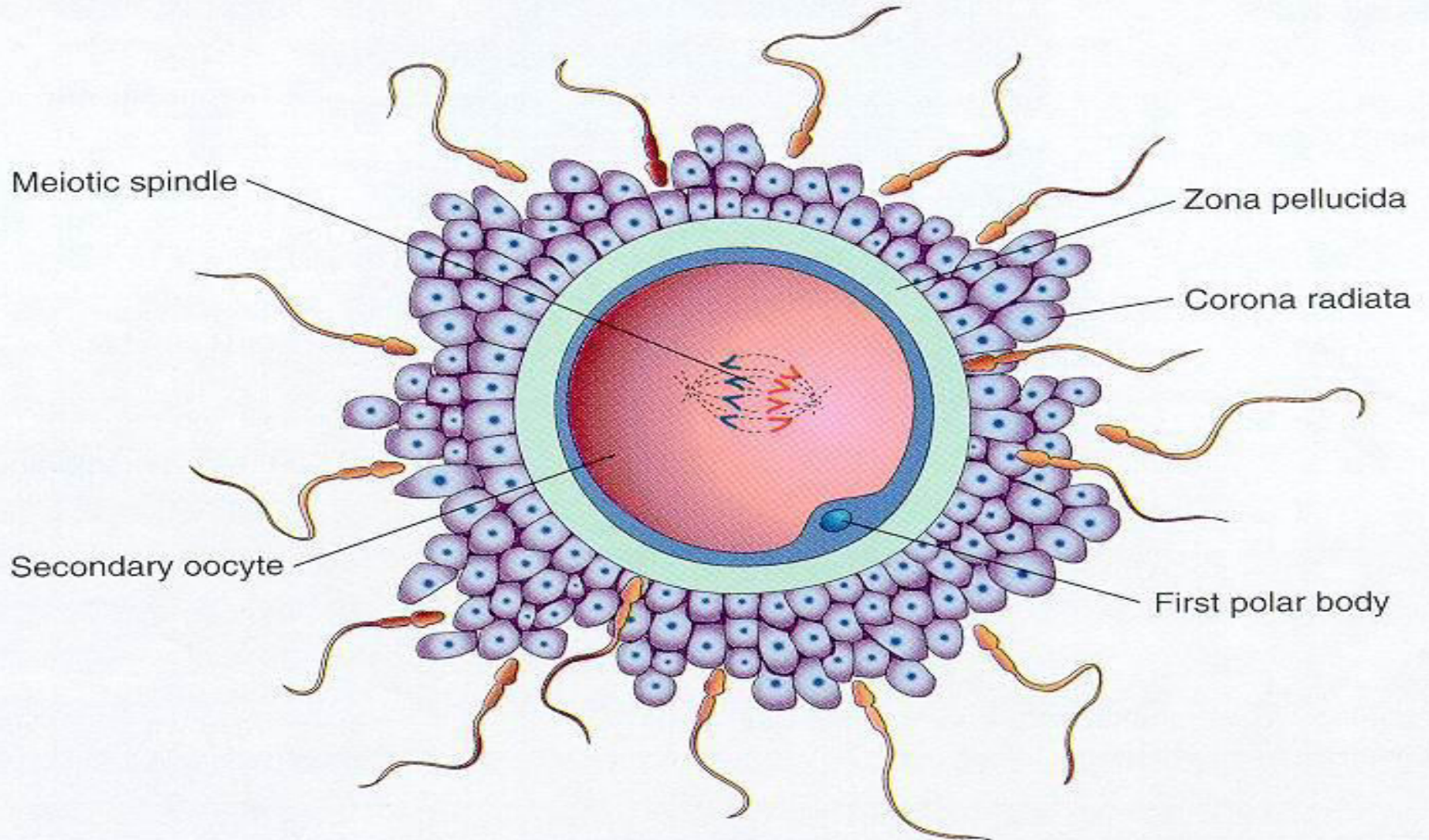
- Fertilizasyon; Memeli hayvanlarda, insanda ve kanatlılarda yumurta yolunda olur.
- Amphioxus, bazı balıklar (teleost türü) ve kurbağa'da dışarıda (suda) olur.

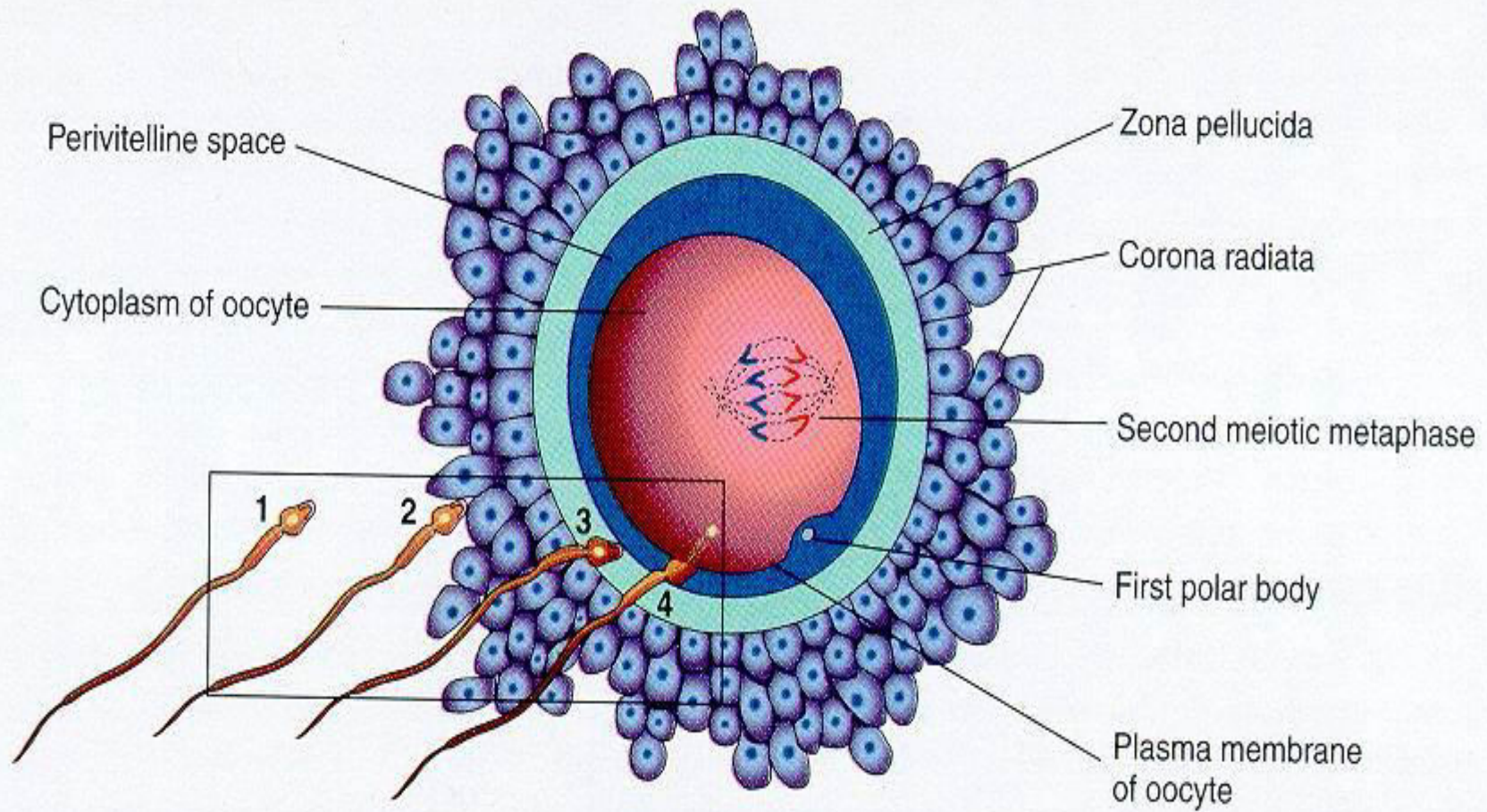


Fertilizasyon Fazları

- 1) Spermiumun korona radiatadan geçiři
- 2) Spermiumun zona pellusidadan geçiři
- 3) Oosit ve spermium hücre membranlarının birleşimesi
- 4) Sekonder oositin ikinci mayoz bölünmeyi tamamlaması ve dişi pronukleusunun oluşiması
- 5) Erkek pronukleusunun oluřiması
- 6) İki pronukleusun birleřimesi (Zigot)

Fertilizasyonun şematik görünümü





1. Spermiumun kapasitasyonu, genital kanalda kazanılır.
2. Akrozomal reaksiyon ve dolayısıyla akrozomda perforasyon gerçekleşir.
3. Akrozomdan serbest bırakılan enzimlerle zona pellusida geçilir ve
4. Spermiumun ovoplazmaya girdikten sonra spermium ve oositin plazma membranları kaynaşarak baş ve kuyrukları içeri girer.

Sperm nucleus containing chromosomes

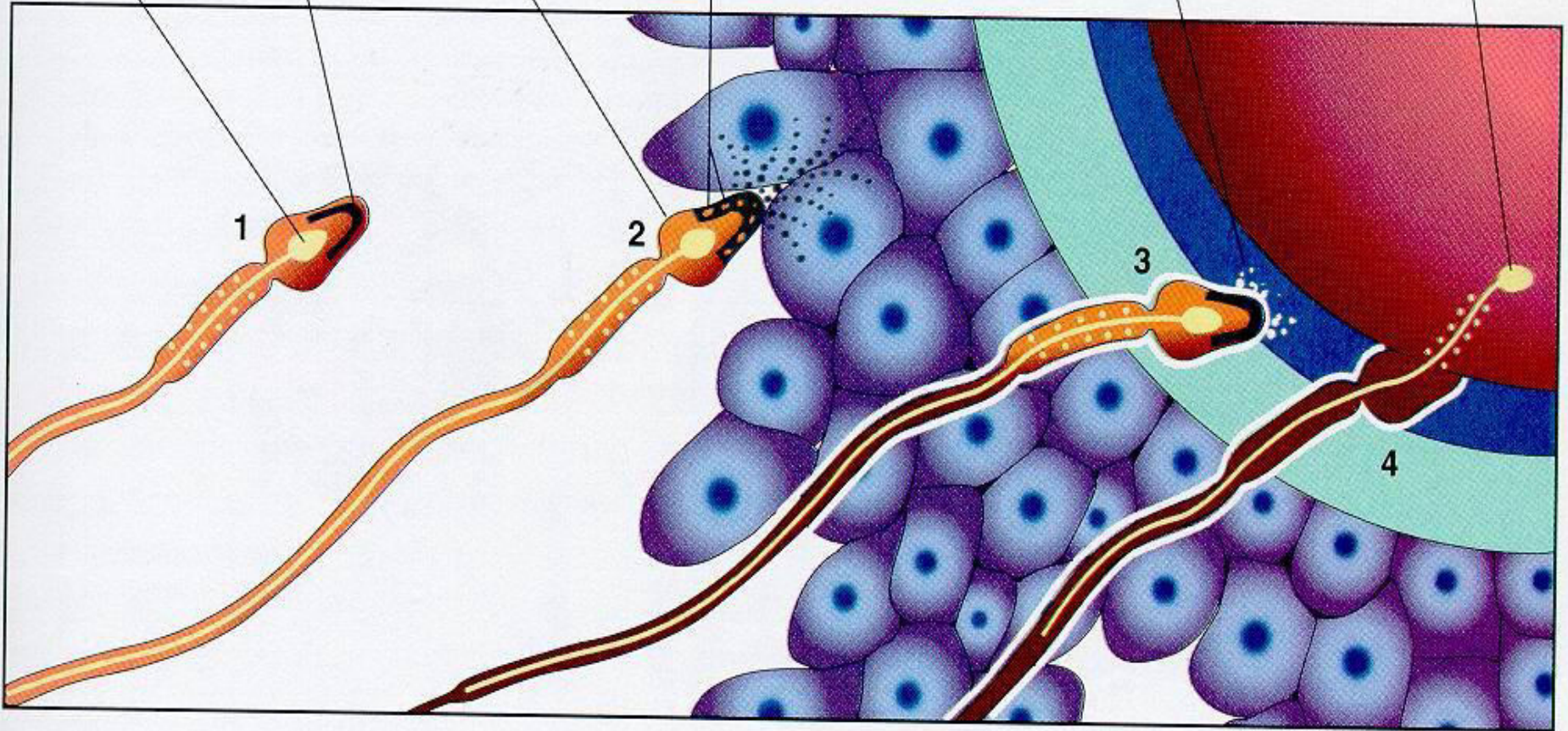
Acrosome containing enzymes

Plasma membrane of sperm

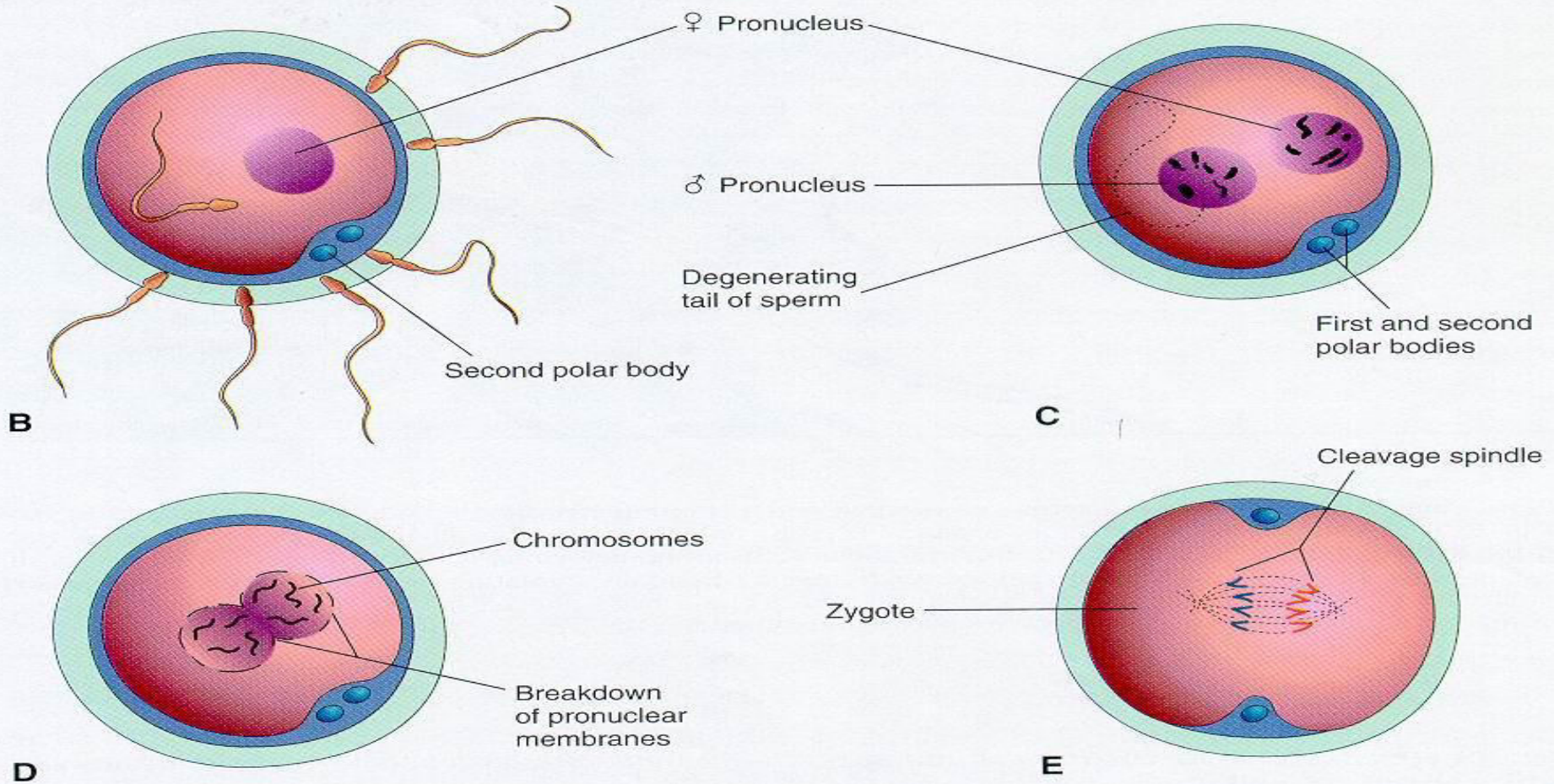
Perforations in acrosome wall

Enzymes are breaking down zona pellucida

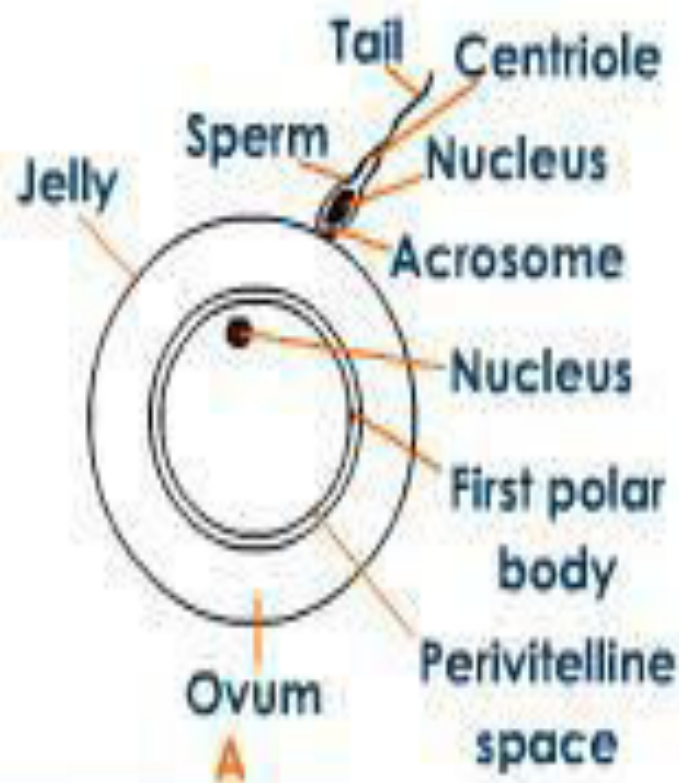
Sperm in cytoplasm of oocyte without its plasma membrane



B



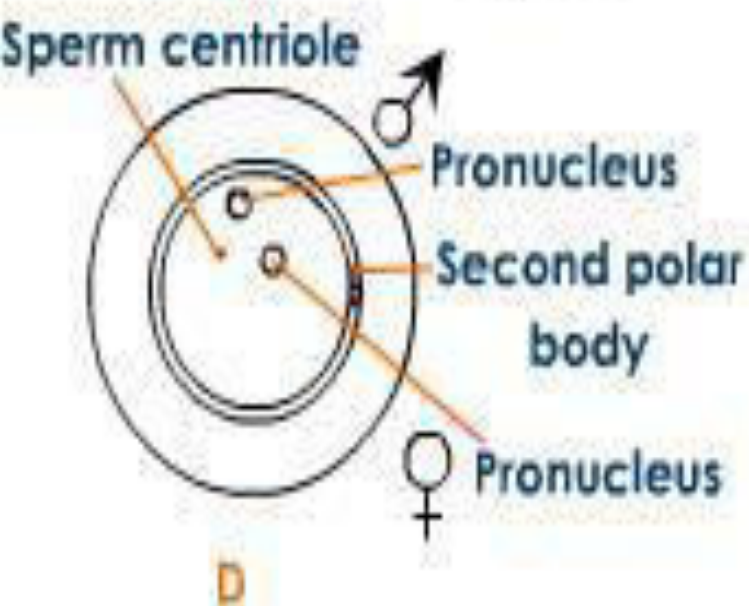
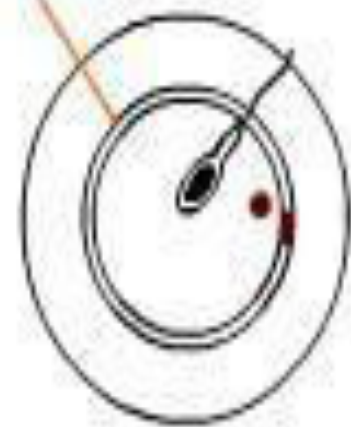
- B.** Spermiumun teması sonucunda II. Mayozun tamamlanarak olgun yumurta hücresinin oluşması.
- C.** Erkek ve dişi pronukleusunun oluşumu,
- D.** Pronukleusların kaynaşması
- E.** Zigotun oluşumu



Vitelline membrane



Fertilization membrane



B

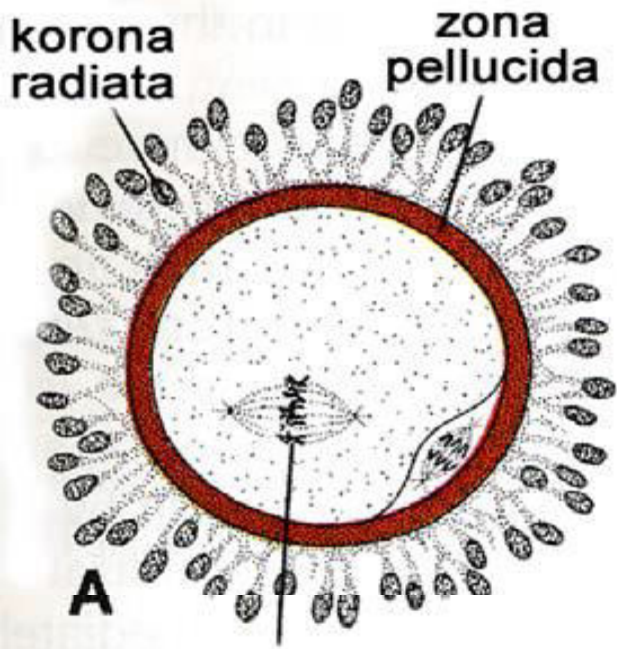
C

D

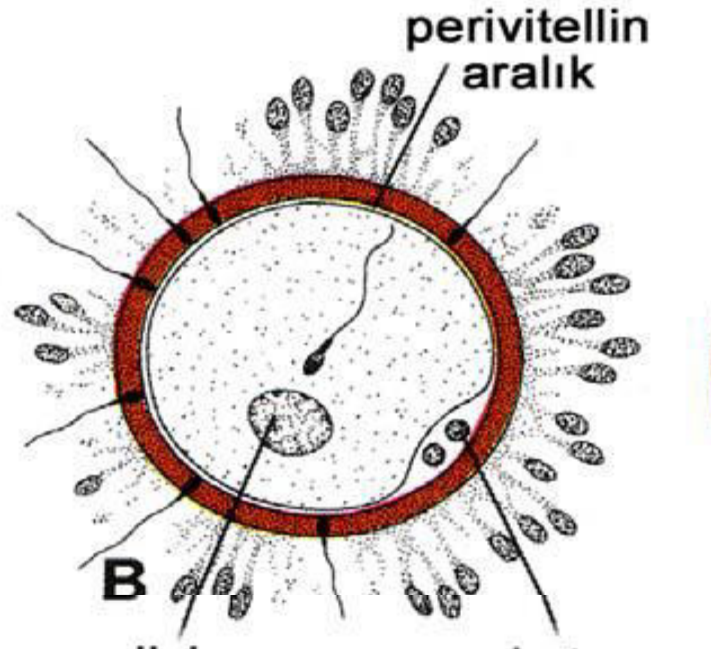
Pronuclei

Zygotic nucleus

Zygote

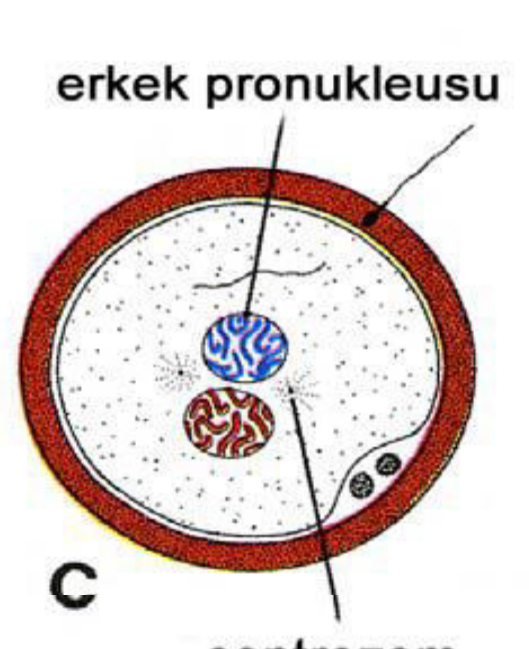


2. mayoz mekiği

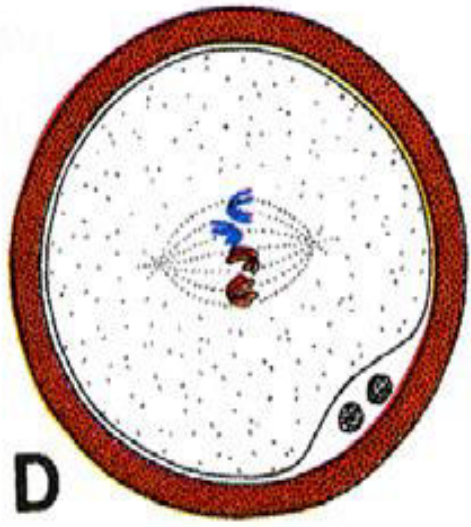


dişi pronükleusu

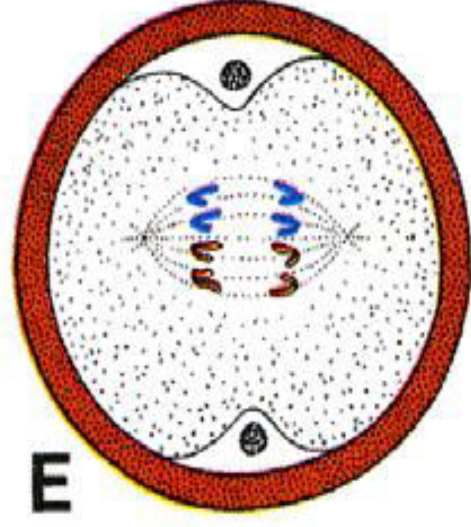
kutup cisimcikleri



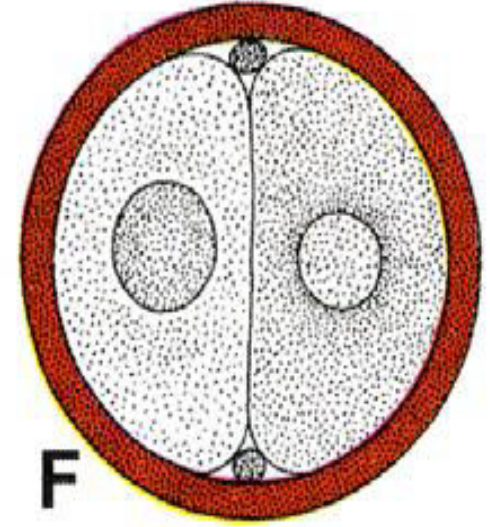
sentrozom



D



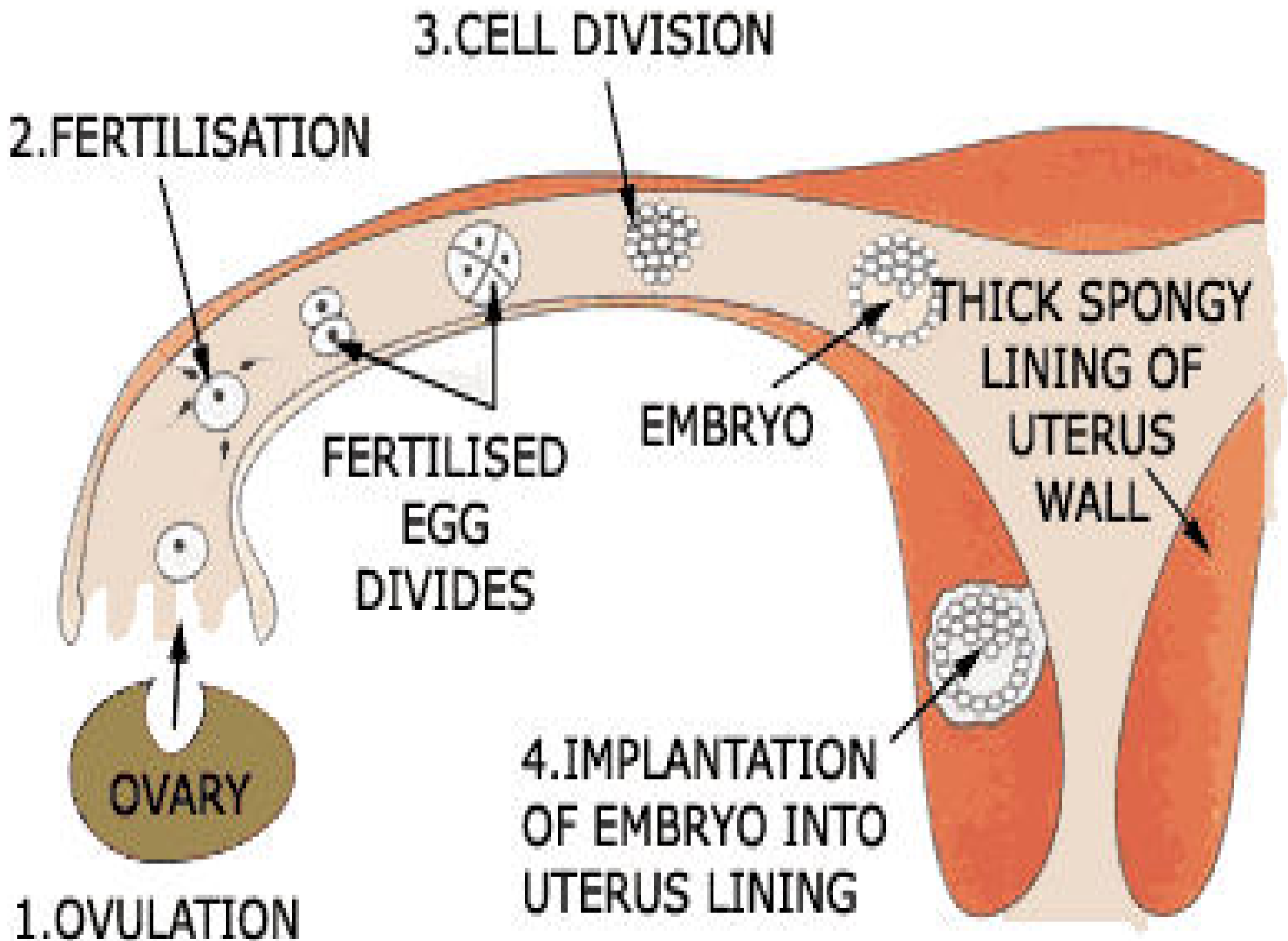
E



F

Fertilizasyonun tamamlanması ile;

- 1) Diploid kromozom sayısı tekrar sağlanmış olur.
- 2) Türlerin varyasyonu sağlanmış olur.
- 3) Embriyonun cinsiyeti belirlenmiş olur.
- 4) Yarıklanma başlar.



3. CELL DIVISION

2. FERTILISATION

THICK SPONGY LINING OF UTERUS WALL

EMBRYO

FERTILISED EGG DIVIDES

4. IMPLANTATION OF EMBRYO INTO UTERUS LINING

OVARY

1. OVULATION

Ovosit sitoplazmasının organizasyonu

- Ovosit sitoplazmasında eşit olmayan dağılım hücrenin ana eksenini boyunca karşılıklı iki kutup oluşturur.
- Ovositin nükleusunun olduğu kutup **animal kutup**, tam karşısı da embriyonun gelişimi için gerekli olan vitellus maddesinin yoğunlaştığı kısım **vegetatif kutup**'tur.

Yumurta (Oosit) tipleri ve Bölünmeler

- Çeşitli hayvan yumurtaları taşıdıkları vitellus maddesi (lecithus) miktarı ve dağılımına göre 4 gruba ayrılır.
- Buna bağlı olarak da zigotta 4 tipte bölünme meydana gelir.

1- Oligolesital (İsolesital, Miyolesital) yumurta-total (holoblastik) aequal bölünme

- Yumurta sitoplazması içinde vitellus maddesi azdır.
- Vitellus granülleri ince ve eşit dağılmıştır.
- Sitoplazma bölünmeye tam olarak katılır ve eşit büyüklükte yavru hücreler meydana gelir.
- İnsan ve memeli hayvanlarda görülür.

2-Mesolesital (Medyalesital) yumurta-total inaequal bölünme

- Vitellus maddesi sitoplazma içinde orta miktardadır.
- Vitellus eşit dağılmamıştır. Özellikle vejetatif kutba yerleşmiştir.
- Bu nedenle bölünmeler meydana gelirken hücreler eşit büyüklükte bölünmezler.
- Kurbağa yumurtaları bu tiptir.

3-Sentrolesithal Yumurta- parsiyal (meroblastik) superfisiyal bölünme

- Vitellus çok miktardadır.
- Yumurtanın orta kısmında toplanmıştır.
- Sitoplazma ve çekirdek periferde yerleşmiştir.
Bu yüzden yüzeysel bölünmeye neden olur.
- Böceklerde görülür.

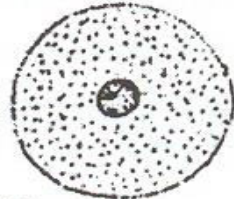
4-Polilesithal (Telolesithal, Megalesital) Yumurta-parsiyal discoidal bölünme

- Vitellus maddesi oldukça çoktur.
- Çekirdek ve sitoplazma hücrenin animal kutbuna itilmiştir.
- Bölünmeler burada disk şeklinde alanda meydana gelir.
- Balık, kuş ve reptillerde görülür.

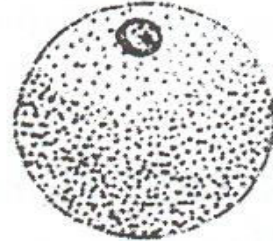
Tablo 4-1: Çeşitli Hayvanlarda Görülen Ovosit ve Bölünme Tipleri.

Ovosit Tipi	Bölünme Tipi	Hayvan Türleri
Oligolesithal (İzolesithal = telolesital)	Total-aequal	Amphioxus insan, memeli hayvan
Mesolesithal	Total-inaequal	Kurbağa
Centrolesithal	Parcial-superficial	Böcekler
Polilesithal	Parcial-discoidal	Balık ve kanatlı hayvanlar

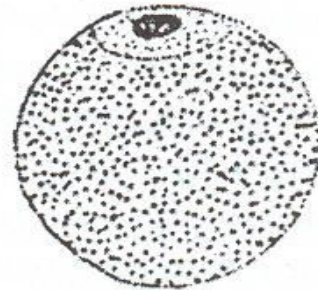
(yumurta tipi)



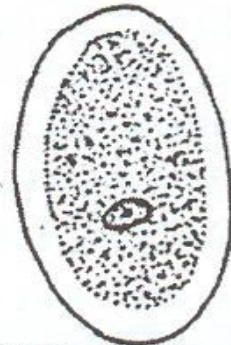
oligolecithal



mesolecithal



polyolecithal

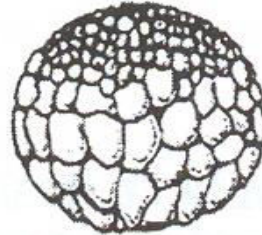


centrolecithal

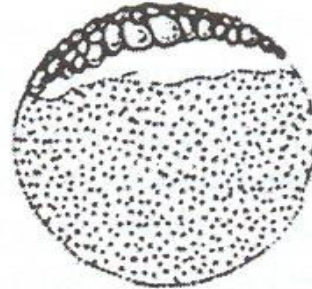
(bölünme şekli)



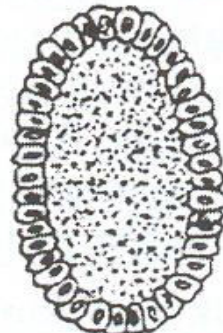
total - equal



total - unequal



partial - discoidal



partial - superficial

İnvitro Fertilizasyon

- Tüp içerisinde sekonder oositlerin döllenenmesi ve yarıklanan zigotların uterusna nakledilmesidir.
- İlk kez 1978 senesinde Edward ve Steptoe ile İngiltere’de kadınlara uygulanmıştır.
- Türkiye’de ise hayvanlar üzerinde yapılan in vitro fertilizasyon çalışmalarına, 1983 yılında tavşanlarda başlanmıştır, 2002 yılında ilk in vitro koşullarda üretilmiş embriyolardan sağlıklı kuzular elde edilmiştir.
- Aynı zamanda sığır ve domuzlarda da IVF çalışmaları başarılı bir şekilde uygulanmaktadır.

İnvitro Fertilizasyonda Uygulanan İşlemler

1. Gonadotropinler verilerek ovaryumda folliküllerin büyümesi ve olgunlaşması uyarılır.
2. Ovulasyon şekillenmesinden az önce LAPARASKOPİ yöntemi ile olgun folliküllerden sekonder oositler aspirasyonla alınır.
3. Sekonder oositler dış ortamda içinde özel kültür ortamı bulunan bir test tüpüne veya petri kutusuna alınır.

İnvitro Fertilizasyonda Uygulanan İşlemler

4. Bu ortama spermatozoonlar ilave edilerek fertilizasyon gerçekleştirilir.
5. Fertilizasyon ve bölünmeler 8-16 blastomerli safhaya dek mikroskopla izlenir.
6. 6-8-16 blastomerli EMBRİYO'lar servikal kanal yolu ile uterusu nakledilirler.

Partenogenezis

- Spermatozoonla döllenne gerçekteşmeden diğer aktivasyon yollarıyla aktifleşen ovumdan embriyo gelişmesi olayıdır.
- Bu olay, doğal olarak böcekler ve aşağı sınıf omurgalılarda görülür.

Embriyo Transferi

- Seksüel olgunluğa ulaşmış Verici (donor) dişi hayvanlarda ekzojen hormon enjeksiyonları ile oluşturulan superovulasyon sonrasında, doğal aşım veya suni tohumlama ile fertilizasyonları sağlanan oosit'lerin implantasyon olmadan verici hayvan uterusundan alınarak, önceden senkronize edilmiş aynı türe ait alıcı hayvana nakledilmesidir.

Embriyo Transferi Uygulama Alanları

- Koyun, keçi ve inek gibi verimi için beslenen hayvanlarda ekonomik değeri yüksek yavru elde etmek için uygulanır.
- Kısırak, domuz, kedi, köpek ve laboratuvar hayvanlarında da uygulanır.

Sonuç

- Genetik özellikleri üstün hayvanlar yetiştirilir.
- Yüksek verimli değerli hayvanlardan kısa sürede çok sayıda yavru elde edilir.
- İkizlik oranı artırılır.