

## Fertilizasyon Biokimyası, Biokimyanın İnfertiliteye Katkısı

M. ÜNALDI \*  
M. ÇOLAKOĞLU \*\*  
R. GÜRBÜZ \*\*\*  
İ. KARSLIOĞLU \*\*  
M. AKDOĞAN \*

### FERTİLİZASYON BİOKİMYASI

Erkek üreme hücresi sperm ile, dişi üreme hücresi ovumun birleşip kaynaşarak tek hücre oluşturması, üremenin ilk adımıdır (1, 20, 24). Bu olay fertilizasyondur. Bunun için uygun şartlar ve ortamların sağlanması gerekir. Yani "fertilizasyon" için erkek organizmanın normal seksüel ilişkide bulunabilmesi, spermilerin normal formasyonda ve hareketli olması, dişi organizmada da genital yolların açık, ovulasyonun gerçekleşmiş ve uterusun döllenmeye müsait olması gerekir (2, 3,4).

Ovum follikülden atıldığı zaman, beraberinde etrafını sarmış olarak çeşitli hücre tabakalarını da taşımaktadır (4, 20). Ovum, kendini zırh gibi çevreleyen zona pellucidadan başka, onu da çevreleyen tek sıra prizmatik hücrelerden oluşmuş korona radiata tabakası ve kumulus ooforus hücrelerinden oluşur (20, 24).

Fertilizasyon gücünü (kapasitasyon) kazanmış spermiler, baş kısmını saran bir kesede (akrozom) bu olayı gerçekleştirecek enzimler taşırlar (24).

Ovum follikülden atılır atılmaz, etrafındaki hücre gömleği ile birlikte uterusu doğru sürüklenir (20). 24-48 saat kadar canlılığını korur. Bu sırada koitus olmuşsa, spermle karşılaşabilir. Fertilizasyon, genellikle tubanın ampulla kısmında olur (1, 2, 20, 21).

Fertil bir erkekte bir ejakülasyonda 60-500 milyon sperm dışarı atılır (12, 16,19). Spermiler dakikada 3 mm kadar yol alabilirler, asit ortamda bu hızlı hareketlerini kaybederler (19). Taze semenin pH'sı 7-7,4 dolayındadır. Maksimal hareketlilik anaerobik şartlarda sağlanır. İnsan sperminin metabolizması esas itibariyle glikolitikdir. Ejakülasyonla fornixe boşaltılan spermiler, serviks ve uterus yolu ile ampulla tubaya gelirler. Spermiler bu yolu 1-1,5 saat içinde katederler (1, 20).

\*Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı  
\*\*Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Doğum Anabilim Dalı  
\*\*\*Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı

Normal vagina asit olup, pH 4,5 arasındadır. Servikal bezlerin salgısı ile alkalendir. Serviks uterin ve salgılarının üremedeki rolü çok önemlidir. Servikal mukus; endoservikal bez sekresyonları, endometrial, tubai ve hatta follikül mayiinden oluşmuştur. % 92-98'i sudur. Servikal sekresyonun esas maddesi karbonhidrattan zengin glikoproteindir. Bunun dışında karbonhidrat, serum tipi proteinleri, lipidler, enzimler, aminoasitler, inorganik tuzları ihtiva eder. Servikal mukusun sekresyonu, övör hormonları tarafından yönlendirilir. Östrojen mukus sekresyonunu stimule ederken, progesteron ise inhibe eder ve kıvamını değiştirir. Midsiklusta mukus bollaşır, hücre ihtiva etmez ve alkalenliği artar. İpliklenmesi 10 cm dolayındadır. Eğrelti otu manzarası gösterir. Progesteron eğrelti otu manzarasını bozar, ipliklenmeyi azaltır. Ovulasyon zamanı, spermilerin servikal mukusu penetre edebileceği en uygun zamandır. Serviks aynı zamanda spermere enerji sağlayan, onları filtre eden ve sperm deposu olarak da vazife gören bir organdır (25, 32). Sperm fertil periyod esnasında, vagina içinde 3 saat hareketli kalabilir. Bu süre servikal kanalda 7 saat, uterus kavitesinde 25 saat kadardır (1).

### SPERM MATÜRASYONUNUN BİOKİMYASI

Matürasyon esnasında cAMP kapsamında artma, çekirdek dışı proteinlerde kayıp ve serbest aminoasit konsantrasyonuna geçiş, palmitik asitte kayıp, doymamış yağ asitlerinde artma, fosfolipidlerin çoğunda azalma, elektroforetik özelliklerinde değişimler olur. Muhtemelen DNA'da stabilizasyon yapan çapraz disülfid bağları oluşur. Bütün bunlar, spermdeki metabolik değişimlerle yakından ilişkilidir. Çıkarılan sperm, vezikulo seminalisten gelen fruktozu kullanarak enerji ihtiyacını karşılar da, spermiler anaerobik olarak glikozu ve mannozu laktik aside metabolize edebilir. Mitokondrilerinde

krebs siklusu enzimleri bulunur. Spermilerin fruktolizis kapasitesi epididimide artar ve bu durum spermilerin potansiyel motilitesiyle alakalıdır (15, 22, 29).

Sığırlarda kanülle rete testisten toplanan spermelerle, ejakülattan elde edilen spermelerin metabolizmalarında farklılıklar olduğu gösterilmiştir. Ejakülat spermeleri substrat yokluğunda lipid sentezinde, solunum kapasitesinde ve glikolizis potansiyelinde artma varken, glikozun oksidatif metabolizmasında azalma gösterilmiştir (13).

Fekondasyon olabilmesi için ovumu saran tabakaların ortadan kaldırılması veya geçit açılması gerekir (24). Bu da bir dizi enzimatik reaksiyonlarla olur (24). Bu reaksiyonlar başlamadan önce kapasiteyi sağlanmalıdır. Fertilizasyon için sperm dışı organizmada geçirdiği bütün safhalara kapasiteyi denilmektedir. Mortimer sperm kapasitesiyonunu strontiyumlu ortamda kalsiyumlu ortamdan daha iyi kazanacağını iddia etmiştir (26).

Kapasiteyi iki aşama olarak düşünülebilir:

1. Dışı üreme sisteminde dölleme yeteneği kazanmadan önceki dönemdir ki, türe göre değişen bir süredir. Tavşan için 5-6 saat olarak gösterilmiştir.

2. Dölleme yeteneğinin kazanılmasından fekdasyonun tamamlanmasına kadar geçen zaman.

Kapasiteyi tamamlayarak delici güç kazanan sperm hücresi, yalnız ovuma değil, diğer dokulara da nüfuz edebilmektedir. Erkek organizmada böyle bir durum patolojik tablolar ortaya çıkarabileceğinden, kapasiteyi dışı organizmada, özel şartlarda tamamlanması gerekir. Kapasiteyi kazanan spermelerde metabolizmanın hızlandığı gösterilmiştir. Bu sırada membranöz değişiklikler de oluşmakta, spermeler küçük hücrelere karşı ileri derecede aggressivite kazanmaktadırlar. Ayrıca yüzey antijenlerinde de değişiklikler gözlenmiştir, östrojen, kapasiteyi destekleyici, progesteron ise engelleyici etki göstermektedir. Dekapasiteyi faktörü denilen (DF) bir faktör, sperm kapasiteyi olaylarını engelleyici etkide bulunur (24). DF'nin 2000'den daha küçük molekül ağırlıklı bir karbonhidrat olduğu ileri sürülmektedir. DF sperm hücresinin etrafında vardır, ejakülasyondan sonra vaginada da bulunur. Serviksten yukarı doğru uzaklaşan sperm hücresi, bundan bir miktar kurtulmuş demektir. Fakat devam eden kapasiteyi olaylarında yeniden açığa çıkan DF'yi dışı organizma ortadan kaldırabilmek için çaba sarfeder. Eğer bunu başaramazsa infertilite oluşabilir. Bu faktörü doğum kontrolünde kullanabilmek için çalışmalar yapılmış, 80 ejakülattan elde edilen DF bir miktar başarılı olmuşsa da, fertilizasyon yine görülmemiştir (24).

Kapasite olmuş sperm, ovum çevresine yaklaştıkça, normal akrozom reaksiyonu başlar. Sperm ile ovumun yüzeyel tutunması, ovumdaki fertilizin

ve spermdeki antifertilizin reseptörlerinin etkileşmesi ile oluşur, bu etkileşme, türe hastır (1). Fertilizin antifertilizin sistemi, aynı zamanda ovumun ikinci bir spermle döllemesini önleyici bir faktördür (33).

Serbest bırakılan ilk enzim, hyaluronidazdır (20, 21, 24). Hyaluronidaz sperme kumulat ooforus tabakasını geçme imkânını sağlar. Hyaluronidaz enzimi en iyi şekilde seminal plazmadan da elde edilir (16). Bu enzimin aktivitesi için sodyum ve potasyuma ihtiyaç vardır. Hyaluronidaz aynı zamanda bundan sonraki tabaka olan koronanın da ara hücrelerini eritir (33). Bundan sonra, sperm ikinci tabaka olan koronayı geçmesi gerekir. Bu tabakanın geçilmesinde rol alan enzim, korona penetran enzimidir (CPE). Koronaya nüfuzu sağlayan bu enzim akrozomlarda bulunur. DF tarafından inhibe edilebilen bu enzim, hyaluronidaza benzer etkide bulunur. pH 7,7 - 8,0'da optimum etki gösterir. Bu enzimin varlığı tavşan, boğa, sığır, aygır, domuz ve insan spermelerinde gösterilebilmiştir (24). Boğalarda bu enzimle birlikte görev yapan ikinci bir enzim de bildirilmiştir (korona ayırıcı enzim) (30).

#### PROTEOLİTİK ENZİMLER VE ZONA PELLUCIDANIN DELİNİMESİ

Ovumun üçüncü tabakası olan zona pellucidanın primer olarak proteinden oluştuğu ve proteoliz ile parçalandığı kabul edilmektedir. Bu parçalanma akrozom ve tripsine benzer bir enzim tarafından birlikte yürütülür (24). Sperm akrozomlarında fazla miktarda hyaluronidaz ve proteinaz vardır ve hücre yetersizliğinde enzim yetersizliği de ortaya çıkar (28).

#### AKROZOMAL REAKSİYON

Akrozom reaksiyonu fertilizasyondan önce oluşan belirgin bir morfolojik değişikliktir. Plazma membranı ile dış akrozomal membranın ilerleyici füzyonu sonucu, bir grup kesecik ortaya çıkar. Füzyon bölgeleri arasındaki delikler akrozom kapsamının salınmasına imkan verir. Bu olay, zona pellucidanın perforasyonundan hemen önce olur ve bu kesecikler akrozom ihtiva ederler. Akrozom zonayı eriterek sperm vitellusa ulaşmasını temin eder. Son olarak, akrozomun iç zarında yer alan nöraminidaz enzimi salınır. Bu enzim, sarındığında inaktiftir ve membrana sıkı sıkıya bağlıdır; salınmasından sonra aktivite kazanarak vitellus zarının delinmesini sağlar (24).

Sperm vitellusa vardığı zaman, vitellus kortikal granüllerinde değişiklikler olur, "dölleme membranı" haline dönüşür. Bu dönüşüm de birden fazla döllemeyi önler. Buna zona reaksiyonu diyenler de vardır (21, 24).

Bunlardan başka da döllemede rolü olan, fakat fonksiyonları ve ince yapıları tam olarak bilinmeyen enzimler de vardır; aril sülfataz A ve B gibi (24).

Zona pellucidanın geçilebilmesi için akrozinin bulunması gerektiğine yukarıda değinildi; bundan başka akrozomal proteinlerin rolleri tam açıklığa kavuşmamıştır (28).

**Sperm Penetrasyon Testi:** Her bakımdan normal bulunan ve eşi de normal bulunan kişilerde yapılabilir. Bu test için hamsterlerin yumurta hücreleri kullanılır. Yumurtaların üzerindeki zona pellucida, proteaz enzimleri ve akrozin ile soyulur. Daha sonra hasta spermeleri ile hamster yumurtaları ve normal erkek spermi ile hamster yumurtaları karşılaştırılarak, penetre olan sperm sayısına bakılır. Eğer % 10'un altında ise, kişi infertil kabul edilir. Normalde penetrasyon % 40'ın üzerinde olması gerekir (28).

Sperm kapasitasyonu üzerinde yapılan çalışmalar hem infertilere ve hem de fertil olup ta kontrasepsiyon yapmak isteyenlere faydalı olacaktır.

### INFERTİLİTE SEBEPLERİ

Infertilite sebepleri, önem sırası veya herhangi bir istatistiğe dayanmaksızın aşağıdaki gibi sıralanabilir:

#### KADIN FAKTÖRLERİ

##### 1. GENEL

1. Diyet bozuklukları
2. Şiddetli anemiler
3. Anksiyete, korku vs. (Hipotalamik)

#### n. GELİŞME BOZUKLUKLARI

1. Uterus yokluğu hipoplazisi
2. Uterus anomalileri
3. Gonad disgenezileri

#### III. ENDOKRİN

1. Hipofiz bozuklukları
2. Tiroid bozuklukları
3. Sürrenal hiperplazisi ve disfonksiyonu
4. Över bozuklukları, polikistik över
5. Prolaktinemi

#### IV. GENİTAL HASTALIKLAR

1. Pelvik inflamasyonlar, Tbc vs.
2. Tubal obstrüksiyonlar
3. Endometriozis
4. Myom ve polipler
5. Servisit
6. Vaginitis

#### ERKEK FAKTÖRLERİ

##### I. GENEL

1. Bitkinlik
2. Aşırı sigara, alkol
3. Aşırı koitus

#### II. GELİŞME BOZUKLUKLARI

1. İnmemiş testis
2. Testiküler germinal aplazi
3. Hipospadias
4. Kleinefelter sendromu

#### III. ENDOKRİN

1. Hipofiz bozuklukları
2. Tiroid bozuklukları
3. Sürrenal hiperplazisi
4. Hiperprolaktinemi

#### IV. GENİTAL HASTALIKLAR

1. Orchit, kabakulak
2. Venerian hastalıklar
3. Prostatit
4. Varikosel

#### ERKEK VE KADIN MÜŞTEREK FAKTÖRLERİ

1. Evlilik uyumsuzlukları
2. Seks problemleri
3. Cahillik (zamanlama hatası, vaginal duş vs.)
4. Düşük fertilité indeksi
5. İmmünolojik uyumsuzluk  
(5,7,9,10,11,14,17,27)

Moleküler seviyedeki engeller ise aşağıdaki gibi sıralanabilir:

1. Kalın zona pellucidanın bulunması
2. Ovumun olgunlaşma safhasını tamamlamaması
3. Gamon diye isimlendirilen erkek ve dişi hücrelerinin birleşmesinde etkinliği olan özel bazı kimyasal maddelerin etkisiz kalması
4. Reotaksin çok fazla olması
5. Spermelerin bulunduğu ortamın çok fazla asidik oluşu
6. Spermelerde hyalüronidaz azlığı
7. DNA seviyesinin düşüklüğü
8. Enerji kaynağı olan fruktozun yeterli miktarda yapılamaması
9. Narkotikler ve nikotinin etkisiyle fertilizasyon olayının birden fazla spermle olarak, hücrenin ölmesi
10. Likefaksion eksikliği ve yüksek séminal viskozite sebebiyle spermelerin bu koagulum içinde rahat hareket edememesi. Bu koagulum hyalüronidaz etkisiyle likefiye olduğu tahmin edilmektedir.
11. Servikal mukusu açan diğer mukolitik enzimlerin eksikliği (34,36).

## İNFERTİLİTE ARAŞTIRILMASI

## KADIN

1. Anamnez, fizik muayene
2. Laboratuvar
  - Kan hücreleri sayımı ve sedim.
  - İdrar analizi
3. Postkoital test
4. Endometrial biyopsi
5. Histerosalpingografi
6. Laparaskopi
7. LH, DHEA, DHEAS, Testesteron, Androstenedion
8. T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, TSH, TBG
9. Serum prolaktin ve progesteron
10. Muhtelif
  - Fern testi
  - İplikleme testi
  - Candida araştırması (7, 31)

## ERKEK

1. Anamnez, fizik muayene
2. Laboratuvar
  - Kan hücreleri sayımı ve sedim
  - İdrar analizi
3. Prostat sekresyon analizi
4. T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, TSH, TBG
5. Prolaktin tayini
6. Semen analizi
7. Sperm penetrasyon analizi
8. Mycoplazma kültürü

## İNFERTİLİTE BİOKİMYASI

infertilite her zaman bir sonuç değil, bazen diğer hastalıkların seyrinde görülen bir semptom da olabilir. Bu bakımdan altta yatan esas hastalık ciddi olarak araştırılmalıdır (8).

İnsan semeninin üç kısmı vardır. Bunlar testislerden, vezikulo seminalislerden, prostatdan gelir. Daha az bir kısmı ise, epididimis, vasa deferens, bulbo urethra ve litre bezlerinden kaynaklanır (13). Klinikçiler, özellikle semen çalışmalarında enzim çalışmalarından çok, hücresel çalışmalara yönelmişlerdir. Séminal plazma sperm için transport ortamı ve beslenme kaynağıdır. Ancak bunlardan başka da fonksiyonlarının olduğu ileri sürülmektedir. Prostat salgısı fertilizasyon için çok önem taşır. Alkalin ortamı sağladıktan başka, asit fosfataz, sitrik asit, çinko, magnezyum, kalsiyum, prostaglandinler, aminoasitler salgıladığı da gösterilmektedir (4). Asit fosfataz ile sperm sayısı arasında ilişki vardır (12). Kronik enfeksiyonlarda séminal plazmanın asit fosfataz, çinko ve sitrik asit konsantrasyonlarında düşme görülür (13). Semende bulunan diğer enzimler izositrat dehidrogenaz, lösin aminopeptidaz ve alanin aminotransferazdır. Ancak yukarıda da değinildiği gibi, bunların görevleri tam anlaşılamamıştır (15, 18, 35). Semende ATP tayini ile fertilite arasında ilişki kurulmuştur (6). Vitamin eksiklikleri özellikle hayvanlarda ispat edilmiştir (23, 37). Kadında periton sıvısının hacmi ve karakteri ile infertilite arasında da ilişki kurulmuştur (10, 30).

## KAYNAKLAR

1. Ansan K ve ark.: Doğum bilgisi, İst. On. Yy., 1968.
2. Bayçu T: Patolojik Obstetrik, Ank. Ün. Tıp Fak. Yy., 1976.
3. Benson RC: Kadın hast. doğum el kitabı, Çev. D. Onat, 1978.
4. Bronson RA, Coope GW, Rosenfeld DL: Complement mediated effects of sperm head -directed human antibody on the ability of human spermatozoa to penetrate zona-free hamster. Fertil. Steril. 40 (1): 91-95, 1983.
5. Buxton CL, Mastroanni L: Evaluation of tubal factor. Fertil. Steril. 8 :561, 1957.
6. Cunitake GM, Davajon V: A new method of evaluating infertility due to servical mucus - spermatozoa incompatibility. Fertil. Steril. 21 : 706, 1970.
7. Çanga Ş, İlğaz N:Aile planlamasında anti konsepsiyonel metodların kullanılması. Ank. Ün. Tıp Fak. Yy., 1980.
8. Çanga Ş, önder İ: Kadın Hast. Ank. Ün. Tıp Fak. Yy., 1979.
9. Çolakoğlu M: The effect of DHEAS, Prolactin and Testosterone Hormones to female infertility and hirsutism, Clin. Exp. Obs. Gyn. 13 : 1, 1986.
10. Drake IS, O'Brien WF, Ramweil PW: Peritoneal fluid prostanoids in unexplained infertility. Am. J. Obs. Gyn. 147 (1) : 63-64, 1983.
11. Eryılmaz Y, Odyakmaz M, Bayraktar Y: Varikoselli hastalarda infertilite araştırması. Atat. Ün. Tıp Fak. Bült. 12(2), 1980.
12. Eryılmaz Y, öztürk Ş, Bayraktar Y: Sperm sayısı ile asit fosfataz arasındaki ilişki. Atat. Ün. Tıp Fak. Bült. 12 (2), 1980.
13. Eliasson RP: Biochemical analysis of human sperm in the study of physiology and patophysiology of male accessory glands. Fertil. Steril. 19 (3), 1968.
14. Freeman EW, Garcia CR: Behavioral and emotional factors comparison of anovulatory infertile woman, fertile woman. Fertil. Steril. 40 (2), 1983.

15. Frenkel G, Peterson R: Oxidative and gücolitic metabolism of semen components by washed guinea pig spermatozoa. *Fertii. Steril.* 126 (2), 1975.
16. Ganjam VK, Amann RP: Steroids in fluids and sperm entering and leaving the bovine epididimis and accessory sex glands tissues. *Endocrinology* 99 (6), 1976.
17. Getzof PL: Principles of management of infertile male. *€lin. Obs. Gyn.* 2-752, 1959.
18. Gregor AT, Moran MJ: The enzym activity, protein and fructose component normal and oligospermic semen. *Fertii. Steril.* 24 (3), 1973.
19. Gümrükçü E, Sağlam M, Aşar G: Sperm analizi ve elde edilen sonuçların değerlendirilmesi. *Türk Hij. Der.* 40(3), 1983.
20. Kerse I: İnsan embriyolojisine giriş. HÜTF Yy., Ank., 1974.
21. Langman J: Medical Embryology. Williams and Wilkins Co., Baltimore, pp. 169, 1969.
22. Latner AR, Skillen AW: Isoenzyma in biology and medicine, Academic Press, London, pp. 251, 1960.
23. Lehninger AL: Principles of biochemistry, Worth Publishers, New York, 1982.
24. Mc Rorie, Williams WL: Biochemistry of mammalian fertilization. *Ann. Rev. Bidchem.* 43 : 777, 1974.
25. Moghissi GS: The function of the cervix in human reproduction, Year Book Medical Publishers, Chicago, 1984.
26. Mortimer D, Curtis EF, Dravland JE: The use of strontium-substituted media for capacitating human spermatozoa, *Fertii. Steril.* 46 (1), 1986.
27. Moyer DL: Endometrial diseases in infertility. Little Brown and Co., 1975.
28. Overstreet JW: Penetration of human spermatozoa in to the human zona pellucida and zona free hamster egg. *Fertil. Steril.* 32 : 41, 1979.
29. Ratner A: Effects of follicul stimulating hormone and luteinizing hormone upon cAMP and cGMP levels in rat ovaries. *Endoc.* 99 (1496), 1976.
30. Sertçelik N: İnfertilitenin psikiyatrik yönleri. Ank., 1983.
31. Skarin G, Nillius SJ: Pulsátil low dose gonadotropin releasing hormone treatment of anovulatory infertility. *Fertil. Steril.* 40 (4), 1983.
32. Srinath BR, Wickins EJ: Active immunization of follicul stimulating hormone for fertility control. *Fertil. Steril.* 40(1), 1983.
33. Tezok F: Genetikte temel prensipler ve insan genetiğinin değerlendirilmesi. Bursa Tıp Fak. Yy., 1977.
34. Torjesen PA, Aakvag A: Ovarien production of progesteron and 20 a dihidroprogesterone in vitro following PGF2a induced luteolysis.
35. Yüregir G, Kılıçoğlu L: Seminal plazmanın içerdiği kimyasal bileşikler ve sperm sayısı. *Biyokimya Derg.* 4(2), 1979.
36. Wakar A, Master RW: Protein and isoenzym components in normal and abnormal semen. *Clin. Acta.* 39 (4), 1972.
37. Wattanaresec J, Svasti J: Effect of vitamin A deficiency on testis in rat. *J. Biochem.* 95 (1), 1984.