

# Konu 2

## OPU Sonrası Oositlerin Manipülasyonu

Uzm. Biolog Arife KUNT

IVF uygulamasında başarının eve götürülen sağlıklı tekil bebek olduğunu hepimiz biliyoruz. İnfertilite uygulamasında ilaç tedavisi kadar psikolojik destek de önemlidir. Hastanın anamnezi, muayenesi ve semen analizi sonuçlarıyla birlikte hangi tedavi protokolüne başlanacağı, tedaviye verdiği yanıtın usg ve hormon değerleri ile takip edilip ilaç dozlarının ayarlanması ve OPU için zamanlamanın ayarlanması hekimin kontrolündedir. Oositlerin uygun bir şekilde alınıp, IVF ya da mikroenjeksiyonun yapılarak kaliteli embriyo olarak transfere hazır hale getirilmesi, hatta çoğul gebeliklerin önlenmesi açısından 1 ya da 2 embriyo seçebilecek şekilde blastosist aşamasına kadar kültürü başarılı bir şekilde devam ettirilmesi de embriyoloğun sorumluluğunda laboratuvar ekibin işidir. Laboratuvarın iyi sonuçlar vermesi öncelikle iyi bir setup ve deneyimli bir embriyolog, laboratuvarınıza uygun medium, ekipman ve prosedürlerin seçimi, titiz çalışma ve düzenli kalite kontrollerine bağlıdır.

Tedaviye alınan hastanın yumurta toplama işlemine karar verildiğinde OPU günü embriyoloji laboratuvarına bildirilir. Embriyolog hastanın sperm durumuna, yumurta sayısına ve iş akışına göre OPU saatine karar verir. Yumurta toplama işlemi uygulanan protokole göre hCG iğnesinin (çatlatma iğnesi) yapılmasından sonra 35.-36. saatte yapılır. OPU'dan bir gün önce kullanılacak mediumlar hazırla-

nır. Kaliteli blastosistlerin elde edilmesi için önemli olan embriyo kültür mediumlarının çeşitlerine ve içerikleri aşağıda ayrıntılı şekilde irdelenmiştir.

### IVF de kullanılan mediumlar

**Tamponlu Basit Tuz Solusyonları:** Piruvat, laktat ve glukoz gibi enerji substratları içeren bikarbonat tamponlu solusyonlardır. IVF de kullanılanlar modifiye Earle's, modifiye Whittingham's T6, CZB ve KSOM dur. Bu grup mediumların türevlerinden geliştirilenler ise HTF ve PI mediumlarıdır. Bu mediumlar IVF'de serum ya da serum albumini eklenerek kullanılmıştır.

**Kompleks Mediumlar:** Somatik hücre kültürleri için geliştirilen bu mediumlar, birinci grup mediumlardan farklı olarak amio asit, nükleik asit öncülleri ve vitaminleri içerirler ve % 5-20 oranında serum eklenerek kullanılır. Ham's F10, Menezo's B2 ve B3 kompleks mediumlardır.

**Ardışık Mediumlar:** Zigot evresinden blastosist evresine kadar embriyoların fizyolojik özellikleri ve gereksinimleri düşünülerek üretilen mediumlardır. G1 ve G2, Universal IVF medium ve M3, Blastosist mediumu ile birlikte P1 ardışık mediumlardır (1).

Dişi genital kanalında bulunan karbonhidratların miktarı, hem bölgesel olarak fallop tüpleriyle, uterus sıvılarında ve hemde siklus evrelerine göre farklılık gösterir. Bu sebeple gelişen embriyo farklı konsantrasyonlardaki karbonhidratlarla karşılaşır. Embriyo kültür ortamında karbonhidrat olarak piruvat, laktat ve glukoz bulunur. Oositin ve erken dönem embriyonun etrafını çevreleyen kumulus hücreleri glukozdan piruvat ve laktat oluştururlar (2). Piruvat ve laktat en yüksek oranda fallop tüplerinde iken, uterusunda en düşük düzeydedir. Glikoz da bunun tam aksine tüplerde düşük oranda, uterusunda yüksek konsantrasyondadır. Yapılan çalışmalar insan embriyolarının 8h'li aşamaya kadar piruvata gereksinimi olduğunu, kompaktlaşmadan sonra glikoz ihtiyacının arttığını göstermiştir. Dolayısıyla ardışık mediumlarda D3'e kadar kullanılan mediumlarda glikoz düşük, D3'den sonra yüksek orandadır.

şekilde testisten her odaktan parça alınmasına gerek kalmaz. Elde edilen materyal direk ya da santrifüj edilerek kullanılabilir. Mikroenjeksiyon işleminden sonra yeterli sperm kalırsa dondurularak, gerektiğinde sonraki denemelerinde kullanılmak üzere saklanabilir.

*Sperm elde etme ve hazırlama yöntemi ne olursa olsun amaç iyi kalitede embriyo elde etmektir.*

Sperm motilitesinin düşük olduğu durumlarda, motiliteyi artırmak için pentoksifilin kullanılır. Ancak pentoksifilin toksik etkisi göz önünde bulundurularak bu prosedürün motilitenin olmadığı, vitalitenin çok düşük olması durumunda dikkatli uygulanması önerilir.

## KAYNAKLAR

1. Trounson AO, and Gardner DK, Handbook of In Vitro Fertilization, Second Edition 2000; 208
2. Gardner DK, Lane M, Calderon I, and Leeton J. Environment of the preimplantation human embryo in vivo: metabolite analysis of oviduct and uterine fluids and metabolism of cumulus cells. Fertil Steril 1996; 65:349
3. Leese HJ, Metabolism of the preimplantation mammalian embryo, in Oxford Reviews of Reproductive Biology, Milligan SR Ed, Oxford University Press, Oxford 1992; 35
4. Lane M, Gardner DK. Differential regulation of mouse embryo development and viability by amino acids. J Reprod Fertil 1997;109:153–64.
5. Zhang X, and Armstrong DT, Presence of amino acids and insulin in a chemically defined medium improves development of 8-cell rat embryos in vitro and subsequent implantation in vivo, Biol. Reprod 1990;42:662
6. Lane M, Maybach JM, Hooper K, et al. Cryosurvival and development of bovine blastocysts are enhanced by culture with recombinant albumin and hyaluronan. Mol Reprod Dev 2003;64:70–8.
7. Noda Y, Embryo development in vitro, Assist Repro Rev. 1992;2:9.
8. Quinn P, Barros C, Whittingham DG. Preservation of hamster oocytes to assay the fertilizing capacity of human spermatozoa. J Reprod Fertil 1982; 66: 161–8.
9. Lane M, Gardner DK. Preparation of gametes, in vitro maturation, in vitro fertilization, embryo recovery and transfer. In: Gardner DK, Lane M, Watson AJ, eds. A Laboratory Guide to the Mammalian Embryo. New York: Oxford University Press, 2004:24–40.
10. Gardner DK, Weissman A, Howles CM, Shoham Z, Tetbook of Assisted Reproductive Technologies, Third Edition. 2009; 645
11. Pickering Sj, Braude PR, Johnson MH, Cant A, and Curie J, Transient cooling to room temperature can cause irreversible disruption of meiotic spindle in the human oocyte. Fertil Steril 1990;43:255
12. Rattanachaiyanont M, Leader A, Leveille MC. Lack of correlation between oocyte–corona–cumulus complex morphology and nuclear maturity of oocytes collected in stimulated cycles for intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril 1999;71:937–40.
13. Ng ST, Chang TH, Wu TC. Prediction of the rates of fertilization, cleavage, and pregnancy success by cumulus–coronal morphology in an in vitro fertilization program. Fertil Steril 1999;72:412–17.
14. Lin YC, Chang SY, Lan KC, et al. Human oocyte maturity in vivo determines the outcome of blastocyst development in vitro. J Assist Reprod Genet 2003;20:506–12.
15. McKenzie LJ, Pangas SA, Carson SA, et al. Human cumulus granulosa cell gene expression: a predictor of fertilization and embryo selection in women undergoing IVF. Hum Reprod 2004;19:2869–74.
16. Van de Velde H, Nagy ZP, Joris H, De Vos A, Van Steirteghem AC. Effects of different hyaluronidase concentrations and mechanical procedures for cumulus cell removal on the outcome of intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 1997;12:2246–50.
17. Coetzee K, Windt ML. Fertilization and pregnancy using metaphase I oocytes in an intracytoplasmic sperm injection program. J Assist Reprod Genet 1996;13:768–71
18. Nagy ZP, Cecile J, Liu J, et al. Pregnancy and birth after intracytoplasmic sperm injection of in vitro matured germinal-vesicle stage oocytes: case report. Fertil Steril 1996;65:1047–50.
19. Eichenlaub-Ritter U, Shen Y, Tinneberg HR. Manipulation of the oocyte: possible damage to the spindle apparatus. Reprod Biomed Online 2002;5:117–24.
20. Cohen Y, Malcov M, Schwartz T, et al. Spindle imaging: a new marker for optimal timing of ICSI? Hum Reprod 2004;19:649–54.
21. Loutradis D, Drakakis P, Kallianidis K, et al. Oocyte morphology correlates with embryo quality and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril 1999;72:240–4.
22. Balaban B, Urman B, Sertac A, et al. Oocyte morphology does not affect fertilization rate, embryo quality and implantation rate after intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 1998;13:3431–3.
23. Alikani M, Palermo G, Adler A, et al. Intracytoplasmic

- mic sperm injection in dismorphic human oocytes. *Zygote* 1995;3:283–8.
24. Kahraman S, Yakın K, Dönmez E, Şamlı H, Bahçe M, Cengiz G, Sertyel S, Şamlı M, İmirzalıoğlu N. Relationship between granular cytoplasm of oocytes and pregnancy outcome following intracytoplasmic sperm injection. *Human Reproduction*, 2000; Vol: 15, Issue: 11, 2390-2393.
  25. Ebner T, Moser M, Sommergruber M, et al. First polar body morphology and blastocyst formation rate in ICSI patients. *Hum Reprod* 2002;17:2415–18.
  26. Rienzi L, Ubaldi FM, Iacobelli M, et al. Significance of metaphase II human oocyte morphology on ICSI outcome. *Fertil Steril* 2008 Vol. 90, Issue 5, 1692-1700
  27. Ebner T, Moser M, Sommergruber M, et al. Occurrence and developmental consequences of vacuoles throughout preimplantation development. *Fertil Steril* 2005;83:1635–40.
  28. Y. Shen, T. Stalf, C. Mehnert, U. Eichenlaub-Ritter, and H.-R. Tinneberg High magnitude of light retardation by the zona pellucida is associated with conception cycles *Human Reproduction* 2005;20:596-1606
  29. Savasi V, Ferrazzi E, Lanzani C, et al. Safety of sperm washing and ART outcome in 741 HIV-1-serodiscordant couples. *Hum Reprod* 2007;22:772–7.
  30. Bujan L, Sergerie M, Kiffer N, et al. Good efficiency of intrauterine insemination programme for serodiscordant couples with HIV-1 infected male partner: a retrospective comparative study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007;135:76–82.