

# Konu 4

## Fertilizasyon Kontrolü ve Embriyo Derecelendirmesi

Dr. Mehmet CINCIK

### A. Fertilizasyon kontrolü

#### 1. Fertilizasyonun Tanımı ve Evreleri:

Fertilizasyon dişi ve erkek gamet (sperm ve oosit) hücrelerinin yeni bir bireyi meydana getirecek zigotu oluşturmak üzere membranlarının füzyonuyla başlayıp spermin oosit içerisine girerek onun aktivasyonunu sağlayan ve nihayet singami ile biten, çekirdek ve tüm sitoplazmik komponentlerinin katılımıyla, birbirini düzenli bir sıra ile takip eden moleküler olaylar zinciri olarak tanımlanır (Acosta AA, Obstet Gynecol Surv, 1994). Embriyoloji otoritelerine göre **fertilizasyon, insan gelişiminin, zigot da hayatın başlangıcıdır** (The Developing Human: Clinically Oriented Embryology, 8th Edition 2007)

Fertilizasyon zincirinin evreleri şu şekilde sıralanabilir (Şekil 1).

1. Kumulus oophorus matriksi + spermium etkileşmesi
2. Kapasitasyon
3. ZP3 aracılığı ile birinci bağlanma
4. Akrozomal reaksiyon
5. ZP2 ile ikinci bağlanma
6. Zona pellusidaya penetrasyon
7. Oolemmaya penetrasyon
8. Korteks granülleri reaksiyonu

9. II. mayozun tamamlanması ve II. kutup hücresinin atılması
10. Pronükleus oluşumu
11. DNA replikasyonu
12. Homolog kromozom eşleşmesi
13. Oosit iç iplikleri aktivasyonu
14. Yarıklanma

In-vivo şartlarda, tuba uterinaların ampulla bölgesinde olan ve birbirini izleyen bu karmaşık olaylar zincirinin döllenme sırasındaki aşamalarını özetlersek:

1. Spermilerin oosite bağlanması
2. Gametlerin plazma zarlarından füzyonu (sitoplazmik singami)
3. Kromozom eşleşmesi
4. Oosit aktivasyonu
5. Sperm nükleusunun dekonkansasyonu ve pronükleusların oluşması (nükleer singami).

### Fertilizasyon şu sonuçları ile doğanın en muhteşem olayı olarak değerlendirilmelidir:

1. Diploid kromozom sayısı yeniden kurulur.
2. Cinsiyet belirlenir.
3. Türe özgü kromozom sayısı korunur (türler korunur) ve türler arasında cins varyasyonları oluşur.
4. Yarıklanma başlatılır.

### Spermin fertilizasyon sürecinde etkili özelliklerini hatırlatmak yararlı olacaktır:

- a. Kumulus hücreleri arasında ilerleme -mekanik yol→motilite sayesinde
- enzimatik yol →hyaluronidaz etkisiyle olmaktadır.
- b. Kapasitasyon
- c. İn-vitro kapasitasyon (sperm hazırlama solüsyonları bunu sağlamaktadır)
- d. Hiperaktivasyon
- e. Akrozom reaksiyonu gerçekleşmektedir.
- f. Moleküler düzeyde sperm hücre zarının lipid ve protein içeriği ve özellikleri etkili olmaktadır.

Diğer bir özelliği de canlılık süresinin 72 saat, dölleme süresinin 48 saat olduğudur. Oositin döllenme süresi ise 24 saattir.

b. Blastomerler eşit büyüklükte,  
c. Fragmantasyon oranı %20'den az olmalı  
ve

d. Blastomerlerde multinukleasyon gözlenmemelidir.

#### **İnseminasyon ya da ICSI'den 66-68 saat sonra;**

a. Blastomer sayısı 8 yada 8'den fazla,  
b. Blastomerler eşit büyüklükte,  
c. Fragmantasyon oranı %20'den az olmalı  
ve

d. Blastomerlerde multinukleasyon gözlenmemelidir.

#### **İnseminasyon ya da ICSI'den 106-108 saat sonra;**

a. Blastosel embriyoyu kaplamalı  
b. Sıkıca paketlenmiş, çok sayıda hücre içeren iç hücre kitlesi gözlenmeli ve trofoektodermin tek katlı yassı epitel hücreleri, birbirleriyle bağlantılı olarak düzenli bir tabaka oluşturmaktadır (Gardner DK, 2001).

### KAYNAKLAR

1. Acosta AA. Process of fertilization in the human and its abnormalities: diagnostic and therapeutic possibilities. *Obstet Gynecol Surv.* 1994;49:567-76.
2. Tesarik, J. and Greco, E. The probability of abnormal preimplantation development can be predicted by a single static observation on PN stage morphology. *Hum Reprod.* 1999;14:1318-1323.
3. Tesarik et al. The probably of abnormal preimplantation development can be predicted by a single static observation on pronuclear stage morphology. *Human Reprod.* 1999;14:1318.
4. Lucinda Week, an atlas of human gametes and conceptuses, Parthenon publishing, 1999.
5. Oehninger S, Acosta AA, Veeck LL, et al. Delayed fertilization during in vitro fertilization and embryo transfer cycles: analysis of cause and impact of overall results. *Fertil Steril* 1989;52:991-997.
6. Benkhalifa M, Menazo Y, Janny L et al. Cytogenetics of uncleaved Oocytes and arrested zygotes in IVF programs. *J Assist Reprod Genet.* 1996;13:140.
7. Dozortsev D, De Sutter P, Dhont M. Behaviour of spermatozoa in human oocytes displaying no or one pronucleus after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1994;9:2130-2144.
8. Gianaroli L, Magli MC, Ferraretti AP et al. Pronuclear morphology and chromosomal abnormalities as scoring criteria for embryo selection. *Fertil Steril* 2003;80:341-9.
9. Delilbaşı L, Balaban B. 2000-2001. Gametler, Fertilizasyon ve Embriyoner Gelişim. Serono Yayınları 1. Baskı.
10. Sakkas D et al. Early cleavage of human embryo to the two cell stage after ICSI as an indicator of embryo viability. *Hum Reprod* 1998;13:182-187.
11. Braude P et al. Human gene expression first occurs between the 4 and 8 cell stages of preimplantation development. *Nature*, 1988;332:459-461.
12. Baczkowski T, Kurzawa R, glabaowski W. Methods of Embryo Scoring in vitro fertilization. *Reproductive Biology*, 2003;4:5-22.
13. Tesarik J et al. Ultrastructural and autoradiographic observations on multinucleated blastomers of human cloning embryos obtained by IVF. *Hum Reprod* 1987;2:127-136.
14. Munne S, Cohen C. Unsuitability of Multinucleated Human Blastomers for preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod* 1993;8:1120-1125.
15. Kligman I, et al. The presence of multinucleated blastomers in human embryos is correlated with chromosomal abnormalities. *Hum Reprod* 1996;11:1492-1498.
16. Jackson KV, et al. Multinucleation in normally fertilized embryos is associated with an accelerated ovulation induction response and lower implantation and pregnancy rates in in vitro fertilization embryo transfer cycles. *Fertil Steril* 1998;70:60-66.
17. Pickering S, et al. An analysis of multinucleated blastomere formation in human embryos, *Mol Hum Reprod* 1995;10:1912-1922
18. Van Royen et al. Multinucleation in cleavage stage embryos. *Hum Reprod* 2003;18:1062-1069.
19. Staessen, A. van Steirteghem. The genetic constitution of multinuclear blastomeres and their derivative daughter blastomeres, *Hum. Reprod.* 1998;13:1625-1631.
20. Jurisicova A., Varmuza S and Casper RF. Programmed Cell death and human fragmentation. *Mol Hum Reprod* 1996;2:93-98.
21. Giorgetti C et al. Embryo score to predict implantation after in-vitro fertilization: based on 957 single embryo transfers. *Hum Reprod* 1995;14:429-447.
22. Alikani M. et al. Human Embryo Fragmentation in-vitro and its implications for pregnancy implantation. *Fertil Steril* 1999;71:836-842.
23. Desai NN et al. Morphological Evaluation of Human Embryos and Derivation an Embryo Quality Scoring System Specific for Day 3 embryos: a preliminary study. *Hum Reprod* 2000;15:2190-2196.

24. Gardner DK, Schoolcraft W et al. Towards reproductive certainty: infertility and genetics beyond. Carnforth: Parthenon Press; 1999; In vitro culture of human blastocyst, p.378
25. Gardner DK, Weissman A. Howles CM et al. Textbook of assisted Reproductive Technics Laboratory and Clinical Perspectives 2000, p.228-229 Martin Dunitz, United Kingdom
26. L, Sakkas D, Seli E. Metabolomics and its application for non-invasive embryo assessment in IVF. *Mol Hum Reprod.* 2008;14:679-90.
27. Van Royen E, Mangelschots K, Vercruyssen M, De Neubourg D, Valkenburg M, Ryckaert G, Gerris J. Hum Multinucleation in cleavage stage embryos. *Reprod* 2003;18:1062-9.
28. Salumets A, Hydén-Granskog C, Suikkari AM, Tiitinen A, Tuuri T. The predictive value of pronuclear morphology of zygotes in the assessment of human embryo quality. *Hum Reprod* 2001;16:2177-81.
29. Racowsky C, Ohno-Machado L, Kim J, Biggers JD. Is there an advantage in scoring early embryos on more than one day? *Hum Reprod* 2009;24:2104-13.
30. Brezinova J, Oborna I, Svobodova M, Fingerova H. Evaluation of day one embryo quality and IVF outcome--a comparison of two scoring systems. *Reprod Biol Endocrinol* 2009;3:7-9.
31. Qian YL, Ye YH, Xu CM, Jin F, Huang HF J. Accuracy of a combined score of zygote and embryo morphology for selecting the best embryos for IVF. *Zhejiang Univ Sci B* 2008;9:649-55.
32. Cassuto NG, Bouret D, Plouchart JM, Jellad S, Vanderzwalmen P, Balet R, Larue L, Barak Y. A new real-time morphology classification for human spermatozoa: a link for fertilization and improved embryo quality. *Fertil Steril.* 2009;92:1616-25.
33. Liu Q, Zhu G, Hu J, Wei Y, Ren X, Zhang H, Li Y, Jin L, Yue JJ. Relationship between pronuclear scoring and embryo quality and implantation potential in IVF-ET. *Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2008 ;28:204-6.
34. Depa-Martynow M, Jedrzejczak P, Pawelczyk L. Pronuclear scoring as a predictor of embryo quality in in vitro fertilization program. *Folia Histochem Cytobiol* 2007;45 Suppl 1:S85-9.
35. Takeuchi T, Rosenwaks Z. Review ICSI: where we have been and where we are going. *Semin Reprod Med* 2009;27:191-201.
36. Racowsky C, Ohno-Machado L, Kim J, Biggers JD. Is there an advantage in scoring early embryos on more than one day? *Hum Reprod* 2009;24:2104-13.
37. Botros L, Sakkas D, Seli E. Metabolomics and its application for non-invasive embryo assessment in IVF. Molecular Biometrics LLC, Montreal, Quebec, Canada. *Mol Hu m reprod.* 2008;14:679-90.
38. Gasser RF, ed. Digitally Reproduced Embryonic Morphology (DREM stage 1-4) [CD-ROM database of human embryos (Stages 1-4)]. 2005. www.virtualhumanembryo.isuhsc.edu.
39. Scott L. Pronuclear scoring as a predictor of embryo development. *Reprod Biomed Online* 2003;6:201-14.
40. Scott L, Alvero R, Leondires M, Miller B. The morphology of human pronuclear embryos is positively related to blastocyst development and implantation. *Hum Reprod* 2000;15:2394-403.