

Süperovulasyon Protokolünde Kullanılan GnRH Agonistinin Oosit Olgunluğu ve Çapına Etkileri

Murat Başar¹, Mehmet Türker¹, Tülay İrez², Oktay Arda¹

¹Istanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²Istanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İstanbul

Özet

Amaç: Bu çalışmada FSH ve hCG kullanılarak süperovule edilen farelerde GnRH'nın ovaryum morfolojisi, oosit çapı, sayısı ve olgunluğuna etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada, 3 aylık (25-30 gr), dişi BALB/C fareler kullanılmış ve kontrol, süperovulasyon protokolü uygulanmış ve süperovulasyon protokolünden önce GnRHa uygulanmış grup olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır (n=10/grup). Kontrol grubundaki farelere i.p. olarak %0.09'lük NaCl enjeksiyonu uygulanmıştır. Süperovulasyon, 5 IU FSH (i.p.) ve bu enjeksiyondan 48 saat sonra hCG (i.p.) enjeksiyonu uygulanarak sağlanmıştır.

Bulgular: Süperovülasyondan önce GnRHa ile muamele edilen gruptaki farelere süperovulasyon uygulamasından 24 saat önce GnRHa (20 mg/kg) i.m. olarak uygulanmıştır. Fareler, hCG enjeksiyonundan 13 saat sonra servikal dislokasyon yöntemiyle sakrifiye edilmişlerdir. Ovaryumlar ve tuba uterinale histolojik inceleme için alınmıştır.

Sonuç: Önceden GnRHa ile muamele edilen grupta, kontrol ve süperovulasyon gruplarına göre oosit sayısı, oosit olgunluğu, ovulasyon oranı ve oosit çapları istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (p<0.001). Sonuç olarak, GnRHa uygulanması farelerde oosit sayısı ve olgunluğunu arttırmanın yanında ovulasyon oranında da artış sağlamaktadır. Ayrıca, oosit çapı incelemesinin İVF prosedüründe iyi bir oosit değerlendirme kriteri olacağını ve oosit çapının dikkate alınmasının sağlıklı embriyolar ve gebelikler elde etmede yararlı olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: FSH, GnRHa, hCG, in vitro fertilizasyon, oosit çapı, süperovulasyon

Cerrahpaşa Tıp Derg 2008; 39: 41-48

Morphological effect of different superovulation protocols to the mouse ovary

Abstract

Objectives: The objective of this study was to evaluate the effects of GnRHa on; ovarian morphology, oocyte diameter, number and maturation of oocytes in superovulated mice with FSH and hCG.

Methods: Three month old BALB/C female mice (weight: 25-30 g) were assigned to 3 experimental groups, which were: control, superovulated and superovulated with GnRHa pretreatment (n=10 per group). Control mice had an i.p. injection of 0.1 ml 0.9% NaCl.

Results: Superovulation induced with 5 IU FSH (i.p.) and 5 IU hCG (i.p.) 48 hours later. Mice in the superovulated with GnRHa pretreatment group received GnRHa (20 mg/kg) 24 hours before superovulation. Mice were sacrifice by cervical dislocation thirteen hours after hCG administration. The ovaries and oviducts harvested for histological assessment.

Conclusion: The oocyte numbers and their maturation, ovulation rate, and the diameters of the oocytes were higher in GnRHa pretreated group than the control and superovulated ones (p<0.001). In conclusion, the GnRHa administration increased the number and the maturation of oocytes and the rate of ovulation in mice. Additionally, we concluded that as an oocyte assessment criteria evaluation of oocyte diameters in IVF procedure is an useful tool and better embryo for successful pregnancy.

Key words: FSH, GnRHa, hCG, in vitro fertilization, oocyte diameter, superovulation

Cerrahpasa J Med 2008; 39: 41-48

Alındığı Tarih: 14 Şubat 2008
Yazışma Adresi (Address): Msc. Murat Başar
İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
34098 - Cerrahpaşa - İstanbul
e-posta: basar.murat@yahoo.com

Süperovulasyon uygulaması infertilite nedeniyle tedavi görmek isteyen çiftlerden kadınlara yaygın olarak uygulanmaktadır. Uygulamanın amacı IVF uygulamasında dölleme şansını arttırmak için en çok sayıda,

en iyi kalitede, olgunlaşmış oositler elde etmektir. Elde edilen oosit sayısı ve olgunluğu ne kadar iyi ise embriyo kültürü ve implantasyon başarısı da o oranda artacaktır. Fakat süperovulasyon tedavi süreci sorunsuz değildir. Karşılaşılan en önemli sorulardan biri erken Luteinizan Hormon (LH) artışıdır. Erken LH artışıyla birlikte luteinizasyon görülmekte ve kaliteli, olgun oosit elde edilmesi şansı çok azalmaktadır.

1971’de küçük bir decapeptit olan GnRH izole edilmiş ve yapısı açıklanmıştır [1,2]. Bu decapeptit hipotalamus tarafından portal dolaşıma salınır, hipofizer gonadotropinleri uyarır ve böylece LH ve FSH sentezlenip salınır [3]. GnRH’nın bu uzun süreli merkezi etkisinin yanında insan ovaryumu üzerine steroidogenezi düzenleyen otokrin ve/veya parakrin etkisi de vardır [4].

Başlangıçta GnRH’nın reseptörüne bağlanması aktivasyonla sonuçlanmasına rağmen devam eden bağlanma hipofizer GnRH reseptörlerinin kümelenmesine ve içe alınmasına bağlı olarak duyarsızlaşmaya neden olur. Süperovulasyon protokolü sırasında erken LH artışını engellemek için GnRH agonisti kullanımı 1980’lerin ilk yarısında başlamıştır [5, 6]. Erken LH artışına maruz kalma foliküllerin erken luteinizasyonuna ve başlanan IVF uygulamalarının tamamlanmadan iptaline neden olmaktadır. GnRH agonistinin klinik olarak gelişimi IVF uygulamalarında birden fazla folikül geliştirebilmek amacıyla yapılan süperovulasyon protokolleri sırasında hipofizer gonadotropinlerin salınımını baskılar [6-9]. Hipofizer baskılanmanın uyarılması, başarılı IVF sonuçlarında artış ve erken luteinizasyonun önlenmesi nedeniyle iptal edilen IVF uygulamalarında da azalma ile sonuçlanmıştır [10]. Ayrıca gonadotropinlerle yapılan süperovulasyon protokollerinin GnRH agonisti ek tedavisi ile desteklenmesi IVF uygulamasının başlama zamanının ve oosit elde etme zamanının ayarlanmasında da kolaylık sağlar.

GnRH agonisti kullanımıyla erken LH artışı, erken oosit olgunlaşması ve zamansız luteinizasyon engellenmiş olur.

Bu çalışmanın amacı FSH ve hCG kullanılarak süperovulasyon yapılan farelerde GnRHa’nın ovulasyon oranı, elde edilen oositlerin sayısı, olgunluk ve çaplarına etkilerinin incelenmesidir.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında gerçekleştirilmiştir. Çalışma süresince Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurul kararlarına uyulmuştur.

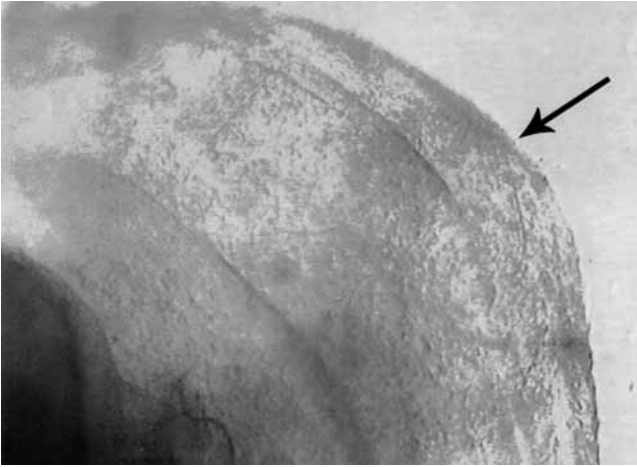
Çalışma Grubu

Süperovulasyon protokolünde GnRHa diğer uyarılma protokolleriyle kıyaslanması amacıyla yapılan çalışmada 3 aylık, 25–30 gram ağırlığında, dişi BALB/C fareler kullanıldı. Farelerin biyolojik ritimlerini sabit tutmak için yapay olarak 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsü uygulandı.

BALB/C fareler i) Kontrol ii) FSH (Puregon, ORGANOON, İstanbul, Türkiye) ve hCG (Pregnyl, ORGANON, İstanbul, Türkiye) kullanılarak süperovulasyona zorlanan iii) FSH ve hCG uygulanmasından önce GnRHa (Lucrin, Leuprolde Asetat, ABBOTT) verilen grup olmak üzere üç gruba ayrıldı. Her grupta 10 denek kullanıldı. Kontrol grubunda bulunan farelere ensülin enjektörü (BD-Microfine enjektör, 1 ml) yardımı ile periton içine (i.p.) 0,1 ml %0.9’luk NaCl verildi. Her iki süperovulasyon yapılan gruba da FSH ve hCG verildi. Superovule edilen farelere birinci gün i.p. 5 IU FSH verildi. FSH enjeksiyonundan 48 saat sonra ise i.p. olarak 5 IU hCG verildi. GnRHa verilen gruba FSH+hCG enjeksiyonundan 24 saat önce 20 mg/kg kas içi (i.m.) GnRHa enjeksiyonu yapıldı.

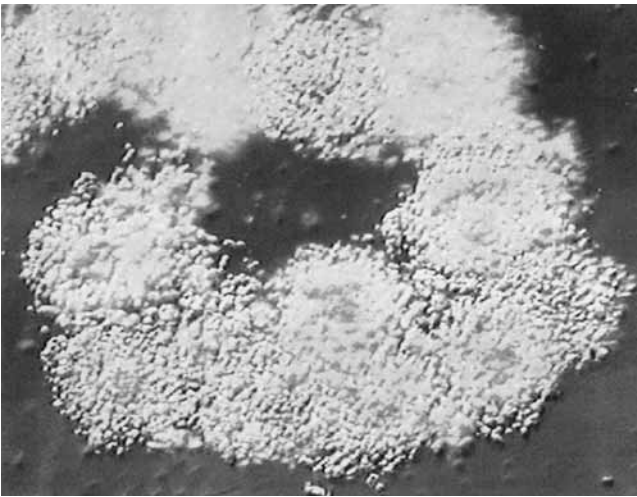
Morfolojik İnceleme İçin Oositlerin Elde Edilmesi

hCG enjeksiyonundan 13 saat sonra fareler servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Oosit olgunluğunun ve ovaryum yapısının histolojik incelenmesi için ovaryumlar ve tuba uterinalar farelerden çıkarıldı (Şekil 1). Tuba uterinaların içinde bulunan oositlerin incelenebilme süresine kadar sağ kalabilmesini sağlamak için IVF mediyumu içeren (IVF Universal Culture Medium, Medicult, Denmark) steril tüplere (14 ml Round-Bottom Tube, No.2001, FALCON Tubes) kondu. Ovaryumlar ise histolojik olarak incelenmek üzere %4’lük tamponlanmış formaldehit tespit eriğine kondu.



Şekil 1. Süperovulasyonun son aşaması olan hCG enjeksiyonundan yaklaşık 13 saat sonra tuba uterina (**ok**) içine salınan kumulus-oosit kompleksleri. Tuba uterinaların disseke edilmesiyle oosit-kumulus kompleksleri incelenmek üzere toplanır.

Oositlerin toplanabilmesi için tuba uterinalar, IVF medyumunda içinde ve laminar flow hoodunun (K-System, Denmark) içine yerleştirilmiş stereomikroskop (Olympus SZX12) yardımı ile disseke edildi. Oosit-kumulus kompleksleri tuba uterina dışına çıktı. Pastör pipet (Long 230 mm, No.567/2, Assistent) yardımıyla oosit-kumulus kompleksleri toplandı (Şekil 2). İlk önce Wolf ve ark. (1988) oosit morfolojisi için inceleme sistemine göre incelendi. Bu sisteme göre 1. derece (A) olarak sı-



Şekil 2. Tuba uterinaların disseke edilmesiyle elde edilen kumulus-oosit kompleksleri.

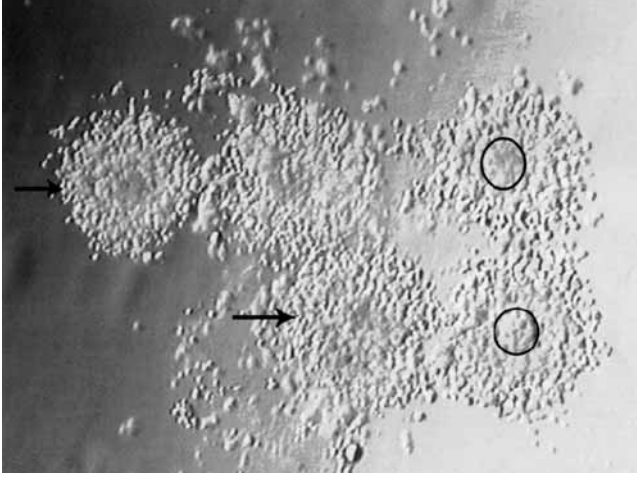
nıflanan kumulus-oosit kompleksleri olgunlaşmamış, 2. derece olarak sınıflanan kumulus-oosit kompleksleri olgunluğa yakın ya da olgunluk öncesi oositler, 3. derece olarak sınıflanan kumulus-oosit kompleksleri olgun, 4. derece olarak sınıflanan kumulus-oosit kompleksleri de dejenere olarak kabul edildi (Tablo 1). Bu incelemeden sonra kumulus-oosit kompleksleri 30 dakika %6 CO₂, 37 °C olan inkübatörde (Heraus, Germany) bekletilmiş mineral yağ (Sigma-Aldrich Chemie, Germany) ile örtülü 0.5 mg/ml hyaluronidaz (80 IU/ml, Linaris, Germany) içeren IVF medyumunda damlacıkları içine yerleştirildi. Bu medyum içinde pipet yardımı ile kısa ve zarif aralıklarla emip boşaltma yaparak oositler kumulus hücrelerinden ayırd edildi. Hyaluronidazın zararlı etkilerinden oositi korumak için oosit yeni IVF medyumunda yıkandı. İncelenmek üzere hazırlandılar. Elde edilen oositlerin sayısı ve olgunluğunun değerlendirilmesi inverted mikroskop (Olympus) ile yapıldı. Oositlerin olgunluğu polar cisimciğin incelenmesine göre yapıldı. Polar cisimciğin saptanması oositin Metafaz II (MII) olduğunu ortaya koydu. Polar cisimciğin olmadığı durumlarda oositin sitoplazmasındaki değişiklikler incelendi. Germinal vezikül (GV) görüldüğü durumlarda GV oosit olarak kabul edildi. GV görülmediği durumlarda ise Metafaz I (MI) oosit olarak kabul edildi. Resimler Inverted mikroskoba bağlı bulunan CCD (Charged Coupled Device) kamera sistemi ile çekildi.

Daha sonra oositlerin morfometrik olarak değerlendirilmesi, Gamet ve Embriyo Analiz Sistemi (Cronus Re-

Tablo 1. Wolf ve ark.'nın (1988) oosit-kumulus kompleksi için inceleme sistemi.

1. Derece (A)	Seyrek ya da bulunmayan kumulus ooforus hücreleri ve 1-3 tabaka korona radiata hücreleri.
2. Derece (B)	Yoğun kumulus ooforus hücreleri ve sıkı paketlenmiş korona radiata hücreleri.
3. Derece (C)	Genişlemiş, yumak şeklinde kumulus ooforus hücreleri ve genişlemiş korona hücreleri.
4. Derece (D)	Genişlemiş, seyrek kumulus ooforus hücreleri ve genişlemiş, genellikle kısmen yok olmuş korona radiata hücreleri.

search Instruments LTD., Version 3.1.0) kullanılarak yapıldı. Oositlerin çapları çift ölçüm yapılarak bulundu. İkinci ölçüm birinci ölçümün sağ tarafından ve ilk yapılan ölçümü ortalayacak şekilde yapıldı. İki ölçümün ortalaması alındı ve oositin çapı olarak belirlendi.



Şekil 3. Tuba uterinalar dissekte edilerek oositler IVF medyumunda toplandı ve ilk morfolojik incelemesi yapıldı. Burada oositler (**daire**) kumulus ooforus (**ok**) ile birlikte dir.

Ovulasyon oranı tuba uterinalardan elde edilen oositlerin sayısı ile ovaryumda bulunan korpus luteum sayılarının oranı ile elde edildi. Ovaryumlardaki korpus luteum sayısı 5 µm kalınlığındaki histolojik kesitlerde ışık mikroskobu (Leica Microscopy Systems, Wetzlar GmbH) yardımıyla incelendi ve dijital kamera ile (Leica Microscopy Systems AG, DC180) görüntüldü.

Elde edilen sonuçların istatistiksel incelemesi karşıtık analizi yöntemi (ANOVA) kullanılarak yapıldı.

Bulgular

Deney grubundaki 30 BALB/C fareden elde edilen 377 oositin tamamının morfolojik açıdan düzenli olduğu gözlemlendi (Şekil 3). Ayrıca kumulus ooforus ile birlikte olan oositlerin kumulus ooforus hücrelerinin de düzenli ve sağlıklı olduğunu, karanlık sahalar olmadığı tespit edildi.

Ayrıca oosit sitoplazmasında ve perivitellin aralıkta granülasyon olmadığını, bununla birlikte elde ettiğimiz oositlerin %2-4'ünde dejenerasyon gözlemlendi.

Deney gruplarımızdan GnRHa tedavisi verilerek süperovulasyon yapılan deney grubunda (n=10) toplam 169 adet oosit elde edildi. Bu gruptan elde edilen oositlerin %75'inin (127) olgunlaşmış MII oosit iken %25'inin (42) ise olgunlaşmamış MI ve GV oosit olduğu gözlemlendi. Olgunlaşmamış oositlerden de %57'sinin (24) MI oosit iken %43'ünün (18) GV oosit olduğu görüldü.

GnRHa tedavisi verilmeden süperovulasyon yapılan deney grubunda (n=10) toplam 128 adet oosit elde ettik. Bu grupta elde edilen oositlerin %53'ünün (68) olgunlaşmış MII oosit iken %48'inin de (60) olgunlaşmamış MI ve GV oosit olduğu görüldü. Olgunlaşmamış oositlerden ise %55'inin (33) MI oosit iken, %45'inin de (27) GV oosit olduğu gözlemlendi.

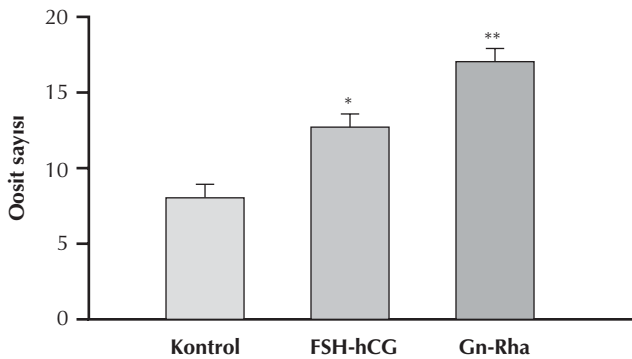
Tablo 2. Oosit olgunluğunun gruplara göre yüzde dağılımı.

	Olgun Oosit	Olgunlaşmamış Oosit (MI)	Olgunlaşmamış Oosit (GV)
GnRHa verilen grup (GnRHa+FSH+hCG) (n=10)	%75(127)	%14(42)	%11(24)
Süperovulasyon grubu (FSH+hCG) (n=10)	%53(68)	%26(33)	%21(27)
Kontrol grubu (n=10)	%42(34)	%30(24)	%28(22)

Kontrol grubundan (n=10) ise toplam 80 oosit elde edildi. Elde edilen bu oositlerin %42'sinin (34) olgunlaşmış MII oosit iken, %58'inin (46) olgunlaşmamış MI ve GV oosit olduğu gözlemlendi. Olgunlaşmamış oositlerden ise %51'inin (24) MI oosit iken %49'unun da (22) GV oosit olduğu gözlemlendi (Tablo 2).

Grupları elde edilen oosit sayıları kıyaslandığında, kontrol grubu ile sadece süperovulasyon protokolü (FSH+hCG) uygulanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlılık gözlemlendi ($p<0.001$). Süperovulasyon protokolüne ek olarak GnRHa verilen deney grubu ile kontrol grubunu elde edilen oosit sayısı bakımından kıyaslandığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlılık gözlemlendi ($p<0.001$). Aynı zamanda süperovulasyon protokolüne ek olarak GnRHa verilen deney grubu ile sadece süperovulasyon uygulanan grubu elde edilen oosit sayısı bakımından kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlılık gözlemlendi ($p<0.001$) (Şekil 4) (Tablo 3).

Deney gruplarında ovulasyon oranları incelendiğinde her üç grup arasında da istatistiksel olarak anlamlılık gözlemlendi ($p<0.001$) (Şekil 5) (Tablo 4).



Şekil 4. Deney gruplarından elde edilen oositlerin sayılarının kıyaslanması. * $p<0.001$ vs. Kontrol ** $p<0.001$ vs. FSH+hCG.

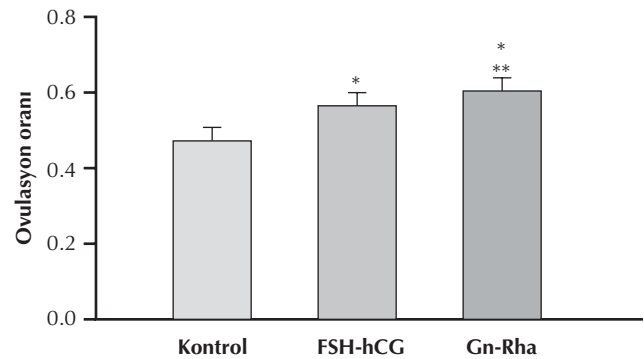
Tablo 3. Oosit sayısının gruplara göre istatistiksel dağılımı.				
Deney grupları	Ortalama	Std. Dev.	SEM	
Kontrol (n=10)	8	0.816	0.258	
FSH+hCG (n=10)	12.8	1.476	0.467	
GnRHa (n=10)	16.9	1.197	0.379	

Deney grupları arasında elde edilen oositlerden olgunlaşmış oosit (MII) sayısını kıyaslandığında zaman her üç deney grubu arasında da istatistiksel olarak anlamlılık gözlemlendi ($p<0.001$) (Şekil 6) (Tablo 5).

Deney gruplarında elde edilen olgun (MII) oositlerin çaplarını istatistiksel olarak incelediğinde de süperovulasyon uygulamasına ek olarak GnRHa uygulanan grupta kontrol ve süperovulasyon uygulanan grup arasında olgunlaşmış oositlerin çapları bakımından istatistiksel olarak anlamlılık olduğu gözlemlendi ($p<0.001$) (Resim 7) (Şekil 8) (Tablo 6). Fakat kontrol grubu ile süperovulasyon uygulanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlılık gözlemlendi ($p=0.121$).

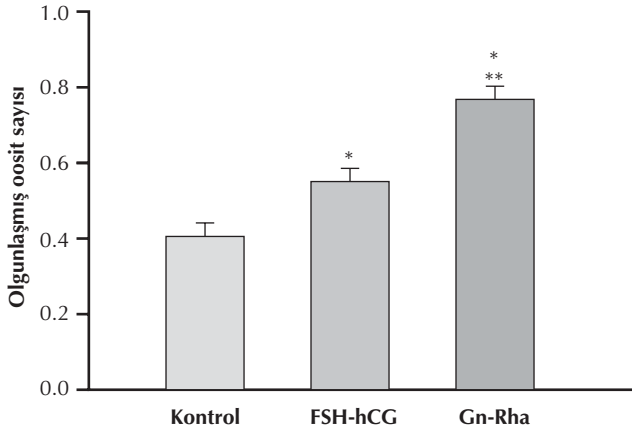
Tartışma

İnfertilite tedavisinde IVF'in kullanılmasından itibaren, döllenme şansını arttırmak amacıyla kaliteli, olgunlaşmış (MII) fazla sayıda oosit elde etmek için süperovulasyon protokolleri ÜYTE'nin vazgeçilmez bir parçası

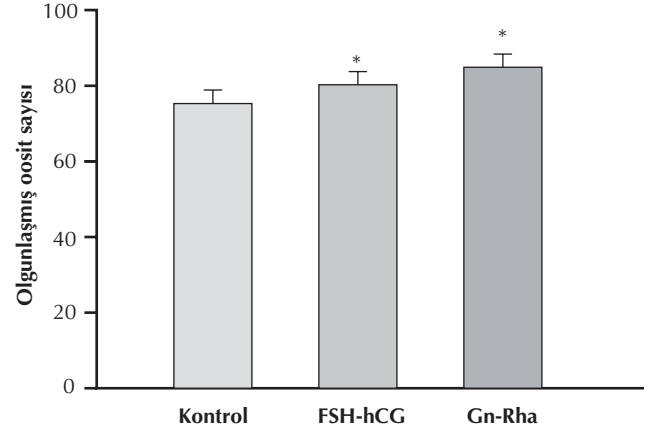


Şekil 5. Deney grupları arasındaki ovulasyon oranlarının kıyaslanması. * $p<0.001$ vs. Kontrol ** $p<0.001$ vs. FSH+hCG.

Tablo 4. Ovulasyon oranının gruplara göre istatistiksel dağılımı.				
Deney grupları	Ortalama	Std. Dev.	SEM	
Kontrol (n=10)	0.465	0.0698	0.0221	
FSH+hCG (n=10)	0.540	0.0623	0.0197	
GnRHa (n=10)	0.624	0.0716	0.0227	



Şekil 6. Deney gruplarından elde edilen olgunlaşmış oositlerin sayısının kıyaslanması.* p<0.001 vs. Kontrol ** p<0.001 vs FSH+hCG.



Şekil 7. Deney gruplarından elde edilen olgun oositlerin çaplarının karşılaştırılması. * p<0.001 vs. Kontrol ve FSH+hCG.

Tablo 5. Olgun oosit sayısının gruplara göre istatistiksel dağılımı.

Deney grupları	Ortalama	Std. Dev.	SEM
Kontrol (n=10)	0.410	0.0790	0.0250
FSH+hCG (n=10)	0.534	0.0708	0.0224
GnRHa (n=10)	0.752	0.0393	0.0124

Tablo 6. Olgun oosit çaplarının gruplara göre istatistiksel olarak dağılımı.

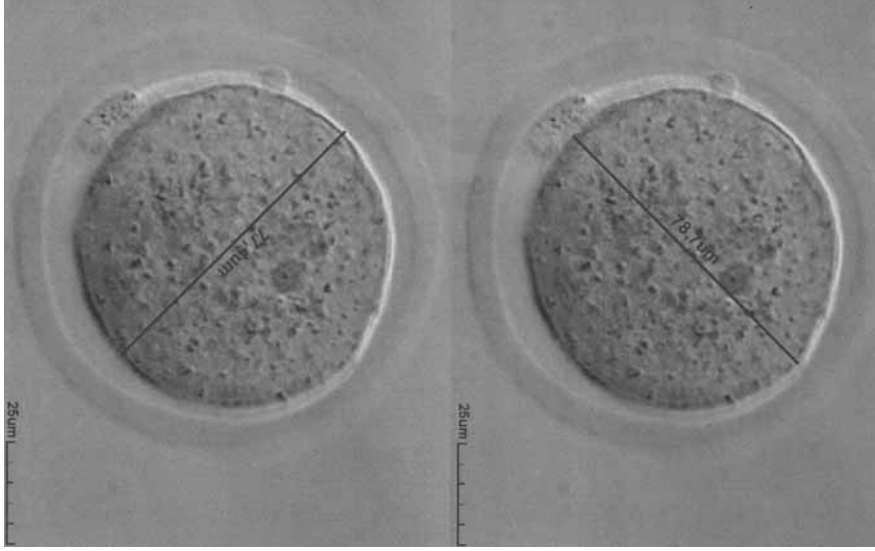
Deney grupları	Ortalama	Std. Dev.	SEM
Kontrol (n=10)	72.960	1.399	0.443
FSH+hCG (n=10)	73.720	0.691	0.218
GnRHa (n=10)	77.600	0.970	0.307

olmuştur. Süperovulasyonun normal ovulasyondan farkı, normal ovulasyonda her döngüde tek bir olgun folikül gelişip ovule olurken, süperovulasyon protokolünde dışardan verilen hormonların etkisiyle birden fazla olgun folikül gelişir ve daha sonra bunlar cerrahi bir girişimle toplanır [11-13]. Süperovulasyon uygulaması sayesinde hastalardan normalden fazla sayıda olgun oosit elde edildiğinden fazla sayıda da embriyo elde edilecek ve böylece de gebelik şansı artmış olacaktır. Bununla birlikte hastaya sınırlı sayıda embriyo aktarıldığından, artan embriyolar süperovulasyon uygulamasına ve invaziv bir yöntem olan oosit toplanmasına maruz kalmadan hastanın tekrardan gebe kalabilmesi için kullanılabilir [14,15].

GnRHa uyguladığımız deney grubunda elde edilen oositlerin olgunluğu bakımından hem kontrol grubu ile hem de yalnızca süperovulasyon uyguladığımız grup

arasında istatistiksel olarak anlamlı derece de fark bulduk. Bu sonuç bize GnRHa'nın, sadece süperovulasyon uygulanan döngülerde foliküler fazın ortasında meydana gelen erken LH artışını hipofizer gonadotropinlerin salgılanmasını baskılayarak önlediğini düşündürmüştür. Ayrıca oositlerin olgunluğunun GnRHa uyguladığımız grupta diğerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla olması, GnRHa'nın oosit olgunluğunu ovulasyon öncesi folikülde prostaglandin sentezini uyarak sağladığı [16] ve bundan dolayı da daha fazla sayıda olgun oosit elde edildiği [6-9] bulgusuyla uyumaktadır. Bununla birlikte GnRH, oosit ile doğrudan ilişki kurarak mayozun tekrar başlamasını uyarır [17,18]. Bu çalışmada GnRHa verilen grupta artmış olgun oosit sayısı GnRH'nın ovaryum foliküllerinde mayozun devamını uyardığı fikrini desteklemektedir.

Yaptığımız çalışmada GnRHa verdiğimiz grupta elde ettiğimiz oosit sayısının diğer deney gruplarımıza gö-



Şekil 8. GnRH_a uygulanan deney grubuna ait olgun oositlerin çaplarının ölçülmesi. Elde ettiğimiz olgun oositlerin çapı birincisi polar cisimcik ekseninde olacak, ikincisi de bu eksen ortalayacak şekilde ölçülüyor ve istatistiksel incelemede bu iki ölçümün ortalaması kullanılıyor.

re istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla olması GnRH'nın ovaryum foliküllerinde cAMP düzeyini artırarak hem elde edilen oosit sayısında, ovulasyon oranında ve de elde edilen olgun oosit sayısında artışa neden olduğunu düşündürmüştür. Fakat bu çalışmada folikül içi cAMP düzeyleri ölçülmediğinden detaylı bir çalışma gerektirmektedir.

Oositlerin gelişim kapasiteleri ve kaliteleri, ovule olmadan önce içinde buldukları folikülün çapından [19,20] ve folikülün kalitesinden etkilenir [21,22]. Bununla birlikte büyük foliküllerden elde edilen oositlerin gelişimsel kapasitelerinin küçük foliküllerden elde edilen oositlere oranla daha fazla olduğu bildirilmiştir [22]. Ayrıca Suzuki ve ark. [23] oosit çapının olgunlaşma sırasında değiştiğini bildirmiştir.

Oositlerde nükleer olgunlaşma başarıyla tamamlansa bile döllenmeden sonraki gelişimi tamamlayabilmek ve sağlıklı embriyo gelişimi için oosit sitoplazmasında da değişiklikler meydana gelmelidir. Buna da "Sitoplazmik Olgunlaşma" denir. Sitoplazmik olarak olgunlaşmasını tamamlayamayan oositlerin kaliteleri kötüdür ve normal gelişimsel süreçleri tamamlayamazlar [24].

Oosit çapı ile embriyo gelişmesi ve ilerleyen embriyonel gelişimi destekleme yeteneğinin kazanılması arasında doğrudan bir ilişki vardır ve oositler sınır çaplarına (örneğin sığır için bu değer 120 µm'dir) ulaşmadan mayotik yeteneği kazansalar dahi sitoplazmik olgunlaşma meydana gelmediğinden, ileri embriyonik gelişimi destekleyemezler.

Biz yaptığımız çalışmada insan gonadotropinleri kullanarak oluşturduğumuz fare süperovulasyon modelinde GnRH_a uyguladığımız deney grubundan elde ettiğimiz olgun oositlerin çaplarının diğer gruptan elde edilen olgun oosit çaplarına göre istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gözlemledik.

Bu bilgiler ışığında oluşturduğumuz fare süperovulasyon modelinde klasik IVF uygulamasında da kullanılan GnRH_a'lerinin elde edilen oosit ve olgun oosit sayısına, ovulasyon oranına ve olgun oositlerin çaplarına etkisinin olumlu olduğunu düşünüyoruz. Bununla birlikte klasik IVF uygulamalarında folikül çapının yanı sıra oosit çapının da dikkate alınmasının sağlıklı embriyolar ve gebelikler elde etmede yararlı olacağını düşünmekteyiz.

Teşekkür

Kendisinden çok şeyler öğrendiğim, bilimsel olarak gelişmemde büyük emeği olan, desteğini hiç esirgemen, her zaman örnek aldığım çok değerli bir hoca olan Doç. Dr. Ümit Ali Kayışlı'ya sonsuz teşekkürü bir borç bilirim. Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından T637/17032005 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

Kaynaklar

1. Guillemin R, Amoss M, Blackwell R, et al. Polypeptides antagonists of the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor. *Gynecol Invest* 1971; 2: 2-12.
2. Schally AV, Nair RM, Redding TW, Arimura A. Isolation of the luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone-releasing hormone from porcine hypothalamic. *J Biol Chem* 1971; 246: 7230-7236.
3. Huirne JA, Lambalk CB. Gonadotropin-releasing-hormone-receptor antagonists. *Lancet* 2001; 358: 1793-1803.
4. Gründker C, Schulz K, Günthert AR, Emons G. Luteinizing hormone-releasing hormone induces nuclear factor kappaB-activation and inhibits apoptosis in ovarian cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3815-3820.
5. Fleming R, Adam AH, Barlow DH, et al. A new systematic treatment for infertile women with abnormal hormone profiles. *Br J Obstet Gynaecol* 1982; 89: 80-3.
6. Porter RN, Smith W, Craft IL, et al. Induction of ovulation for in-vitro fertilisation using busserelin and gonadotropins. *Lancet* 1984; 2: 1284-1285.
7. Fleming R, Conaghan C, Coutts JR. The uses of LH-releasing hormone and analogs in infertility. *Ir J Med Sci* 1986; 155(12 Suppl): 22-29.
8. Shaw RW, Ndukwe G, Imoedemhe DA, et al. Twin pregnancy after pituitary desensitisation with LHRH agonist and pure FSH. *Lancet* 1985; 2: 506-507.
9. Wildt L, Diedrich K, van der Ven H, et al. Ovarian hyperstimulation for in-vitro fertilization controlled by GnRH agonist administered in combination with human menopausal gonadotrophins. *Hum Reprod* 1986; 1: 15-19.
10. Smitz J, Devroey P, Camus M, et al. The luteal phase and early pregnancy after combined GnRH-agonist/HMG treatment for superovulation in IVF or GIFT. *Hum Reprod* 1988; 3: 585-590.
11. Fauser BC, Devroey P. Reproductive biology and IVF: ovarian stimulation and luteal phase consequences. *Trends Endocrinol Metab* 2003; 14: 236-242.
12. Fauser BC, Devroey P, Yen SS, et al. Minimal ovarian stimulation for IVF: appraisal of potential benefits and drawbacks. *Hum Reprod* 1999; 14: 2681-2686.
13. Oehninger S, Hodgen GD. Induction of ovulation for assisted reproduction programmes. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1990; 4: 541-573.
14. Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature* 1983; 305: 707-709.
15. Zeilmaker GH, Alberda AT, van Gent I, et al. Two pregnancies following transfer of intact frozen-thawed embryos. *Fertil Steril* 1984; 42: 293-296.
16. Wong WY, Richards JS. Induction of prostaglandin H synthase in rat preovulatory follicles by gonadotropin-releasing hormone. *Endocrinology* 1992; 130: 3512-3521.
17. Yoshimura Y, Nakamura Y, Ando M, et al. Protein kinase C mediates gonadotropin-releasing hormone agonist-induced meiotic maturation of follicle-enclosed rabbit oocytes. *Biol Reprod* 1992; 47: 118-125.
18. Yoshimura Y, Nakamura Y, Oda T, et al. Induction of meiotic maturation of follicle-enclosed oocytes of rabbits by a transient increase followed by an abrupt decrease in cyclic AMP concentration. *J Reprod Fertil* 1992; 95: 803-812.
19. Lonergan P, Monaghan P, Rizos D, et al. Effect of follicle size on bovine oocyte quality and developmental competence following maturation, fertilization, and culture in vitro. *Mol Reprod Dev* 1994; 37: 48-53.
20. Pavlok A, Lucas-Hahn A, Niemann H. Fertilization and developmental competence of bovine oocytes derived from different categories of antral follicles. *Mol Reprod Dev* 1992; 31: 63-67.
21. Carolan C, Lonergan P, Monget P, et al. Effect of follicle size and quality on the ability of follicular fluid to support cytoplasmic maturation of bovine oocytes. *Mol Reprod Dev* 1996; 43: 477-483.
22. Hazeleger NL, Hill DJ, Stubbing RB, Walton JS. Relationship of morphology and follicular fluid environment of bovine oocytes to their developmental potential in vitro. *Theriogenology* 1995; 43: 509-522.
23. Suzuki H, Shibata H, Takita T, et al. Steroid contents and cortical steroidogenic enzymes in non-hyperfunctioning adrenal adenoma. *Endocr J* 1994; 41: 267-274.
24. Krisher RL. The effect of oocyte quality on development. *J Anim Sci* 2004; 82: E14-23.