

# Foliküler Sıvıya İnsan Koryonik Gonadotropin Difüzyon Oranının Oosit Matürasyonu İle İlişkisi

## RELATIONSHIP BETWEEN OOCYTE MATURATION AND HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN DIFFUSION RATE INTO FOLLICULAR FLUID

Cem S. ATABEKOĞLU\*, Bülent BERKER\*, Bora CENGİZ\*, Oya EVİRGEN\*\*, Hakan ŞATIROĞLU\*\*\*

\* Uz.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları Ve Doğum AD,

\*\* Uz.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Ve Embriyoloji AD,

\*\*\* Doç.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, Öğr.Üy., ANKARA

### Özet

**Amaç:** İnsan koryonik gonadotropinin serumdan foliküler sıvıya difüzyon oranının oosit matürasyonu ile ilişkisini araştırmak.

**Materyal ve Metod:** Bu çalışmada oosit matürasyonu Veeck's sınıflamasına göre değerlendirildi. Araştırma için IVF merkezimize başvuran 44 infertil hastadan oosit aspirasyon günü serum ve 76 foliküler sıvı örneği alındı. Çalışmaya katılan tüm hastalara uzun protokol GnRH-a uygulandı ve hastalar pür FSH yada Humegon ile indüklendi. Ultrason takibinde oosit çapları yeterli boyuta ulaşınca 10000 ünite HCG yapıldı. Bu HCG enjeksiyonundan 36 saat sonra, 16 mm den büyük tüm foliküller 17 numara iğneyle transvajinal olarak toplandı. Folikül sıvısı ve serum  $\beta$ -HCG düzeyleri oranlanarak difüzyon oranları elde edildi ve bu oranlar oosit matürasyonuna göre karşılaştırılmıştır.

**Bulgular:** Serum ve foliküler sıvı  $\beta$ -HCG düzeyleri immatür grupta düşük bulunmuştur. Difüzyon oranlarına bakıldığında ise gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

**Sonuç:** İnsan koryonik gonadotropinin foliküler sıvıya difüzyon oranının oosit matürasyonu ile ilişkisi saptanamamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Oosit matürasyonu,  $\beta$ -HCG difüzyon oranı, Foliküler sıvı

T Klin Jinekoloj Obst 2002, 12:269-271

### Summary

**Aim:** Investigation of the association of oocyte maturation with diffusion rate of human chorionic gonadotropin from plasma to follicular fluid.

**Material and Method:** In this study, oocyte maturation was assessed according to the Veeck's classification. On the day of oocyte aspiration, plasma and 76 follicular fluid sample were collected from 44 patients admitting to our IVF center. Long-protocol GnRH-a therapy was given to all patients enrolled in this study, and ovulation was induced by either pure FSH or Humegon. On the day of adequate follicular diameter HCG was applied and 36 hours later oocyte pick-up was performed. By determining the follicular fluid and plasma levels of  $\beta$ -HCG diffusion rates were assessed, and compared with oocyte maturation.

**Results:** Plasma and follicular fluid  $\beta$ -HCG levels were found lower in the immature group. There was no statistically significant difference in respect of diffusion rates among the study groups.

**Conclusion:** There is no relationship between oocyte maturation and diffusion rate of human chorionic gonadotropin into the follicular fluid.

**Key Words:** Oocyte maturation,  $\beta$ -HCG diffusion rate, Follicular fluid

T Klin J Gynecol Obst 2002, 12:269-271

Oosit matüritesi ile invitro fertilizasyonun başarısı arasında korelasyon bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada fertilizasyon oranları; matür grupta %82, intermediate grupta %69, immatür grupta ise %36 bulunmuştur (1).

Oosit matürasyonu steriomikroskopta çok çabuk değerlendirilmektedir. Oosit, çevresindeki yapılar tarafından örtüldüğü için direkt olarak görülmez. Kümüls ve korona hücrelerinin dağılım ve düzenine bakılarak oosit matürasyonuna Veeck ve arkadaşlarının belirttiği kriterlere göre karar verilir (2).

Foliküler sıvıda over kaynaklı hormonlar dışında, diğer hormon ve kimyasal maddeler de bulunmaktadır. Örneğin bazı kan kaynaklı hormonların düzeyleri plazmadan azdır. Bunun nedeninin foliküler sıvıya sınırlı

geçiş olduğu ileri sürülmektedir. Bu maddelerin konsantrasyonlarının foliküllerin matürasyonu ve sağlığını gösterebileceği ifade edilmiştir, çünkü foliküler sıvıya olan bu geçişin folikülün membran ve damarsal yapılarının sağlığıyla korele olduğu ileri sürülmüştür (3).

Dışarıdan verilen HCG, IVF sikluslarında LH pikini taklit etmek için verilir. LH gibi son foliküler matürasyonu sağladığı düşünülmektedir. Enjeksiyonunu takiben foliküler sıvıda belirmektedir; ancak foliküler sıvıdaki konsantrasyonunun oosit matüritesi ile ilişkisi aydınlatılmalıdır (4).

Bu çalışmanın amacı HCG'nin foliküler sıvıya difüzyon oranının oosit matürasyonu ile ilişkisini göstermektir.

### Materyal ve Metod

Bu çalışma 1997 Ocak- 1998 Ekim ayları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Ana Bilim Dalı İn vitro Fertilizasyon Ünitesi'ne başvuran 44 hasta ve bu hastalardan oosit aspirasyon günü toplanan serum ve 76 foliküler sıvı örneği ile yapılmıştır.

Çalışmaya katılan bütün hastalara uzun protokol GnRH-a ve ovulasyon indüksiyon ajanı olarak pür-FSH veya Human Menopozal Gonadotropin kullanıldı. Ultrasonografi ile foliküler gelişim izlendi ve 17 mm den büyük en az iki folikül tespit edildiğinde 10000 ünite HCG yapılarak ovulasyon tetiklendi. Bu HCG dozundan 36 saat sonra 16 mm' den büyük bütün foliküller 17 numara aspirasyon iğnesiyle transvajinal ultrason eşliğinde aspire edildi.

Aspire edilen foliküllerden elde edilen oositler steromikroskop altında korona-kümüls kompleks morfolojisine göre Veeck ve arkadaşlarının belirttiği kriterlere göre değerlendirilerek matür, intermediate, immatür ve boş folikül (oosit içermeyen) olarak gruplandı.

Steril petri kutusunda foliküler sıvı ya da kültür medyumunda içerisinde steromikroskop altında değerlendirilen oosit kümülüskorona kompleksi gözlenir; bu işlem hızla yapılmalı ve tanınan oositler hızla kültür ortamına alınıp inkübatöre konulmalıdır.

Matür oositlerde, oosit etrafında kümülüskorona hücreleri ışık demeti şeklinde açılmıştır. Zona pellusida net olarak izlenir. 1. polar cisimcik mevcut ancak germinal vezikül mevcut değildir. Intermediate oosit grubunda 1. polar cisimcik de germinal vezikül de mevcut değildir. Kümüls hücreleri dağılmış iken korona hücrelerinde parsiyel dağılma mevcuttur. İmmatür oositlerde germinal vezikül mevcut iken 1. polar cisimcik mevcut değildir. İmmatür oositte kümülüskorona hücreleri oosit etrafında oositi paketlemişçesine sık görülürler. Boş folikül grubunu ise 16 mm den büyük foliküllerde, tekrarlayan aspirasyon ve flushing işlemlerine rağmen, oosit elde edilemeyen foliküller oluşturmaktadır.

Oosit aspirasyonu ile elde edilen foliküler sıvı ve aspirasyon günü elde edilen serum, 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek, -20 derecede  $\beta$ -HCG düzeylerine bakılmaya kadar saklandı.  $\beta$ -HCG değeri radioimmünassay ile ölçüldü.

Foliküler sıvı  $\beta$ -HCG değerleri, serum  $\beta$ -HCG değerleri ve serumdan foliküler sıvıya bu hormonun geçişini gösteren difüzyon oranları; matür, intermediate, immatür ve boş folikül grubunda elde edildi ve dört grup arasında karşılaştırma yapıldı.

Çalışmada elde edilen datalar SPSS software programı kullanılarak varyans ve  $\chi^2$  test ile değerlendirilmiştir.  $P<0.05$  değerinden küçük değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

### Sonuçlar

Çalışma 31 matür (grup A), 19 intermediate (grup B), 7 immatür (grup C) ve 17 boş folikül (grup D) içermektedir. Çalışma grupları arasında immatür grupta yaş ve gonadotropin dozu diğer gruplarla karşılaştırıldığında, anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla  $P<0,01$  ve  $P<0,05$ ). Diğer gruplar arasında yaş, injeksiyon gün sayısı, ampul sayısı, indüksiyon protokolü ve IVF endikasyonu açısından anlamlı fark bulunamamıştır (Tablo 1).

Aspire edilen oosit sayısı  $9.56\pm 6.74$  olarak bulunmuştur.

Yapılan çalışmada her ne kadar immatür grupta serum ve foliküler sıvı  $\beta$ -HCG değerleri diğer gruplardan anlamlı olarak düşükse de (sırasıyla  $P<0,001$  ve  $P<0,05$ ) difüzyon oranlarına bakıldığında bu grupta ve gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunamamıştır (Tablo 2).

### Tartışma

Biz bu çalışmada HCG yerine  $\beta$ -HCG değerlerinden yararlandık, çünkü LH ile HCG arasında %15 oranında çapraz reaksiyon vardır (5). Dışarıdan verilen HCG'nin doğal siklustaki LH pikini taklit edip oositin son matürasyonunu sağladığı ifade edilmiştir. Enien ve arkadaşları yaptıkları çalışmada HCG seviyesini doğal ya da stimüle siklularda, folikül sıvısında benzer oranlarda

**Tablo 1.** Gruplar arası klinik parametrelerin karşılaştırılması

		GRUP A	GRUP B	GRUP C	GRUP D	P
Yaş		32.4 $\pm$ 4.9	32,1 $\pm$ 4.25	40,09 $\pm$ 0.7	34.33 $\pm$ 6.08	p<0.05*
Gün		12.70 $\pm$ 2,06	12,05 $\pm$ 1.49	13,90 $\pm$ 2.55	12.8 $\pm$ 1.83	NS
Ampul sayısı		39.03 $\pm$ 12.8	40.40 $\pm$ 17.68	65,24 $\pm$ 19,80.	41.37 $\pm$ 12.27	p<0.01**
Endikasyon	Tubal	%51,8	%46,5	%20	%47.9	NS
	Unexp.	%48.2	%53,5	%80	%52.6	NS
İndüksiyon tipi	FSH	%33	%32	%20	%36.8	NS
	HMG	%63.6	%68	%60	%53	NS

\*İmmatür (grup C ) grupta yaş daha yüksek ( $\chi^2$  test)

\*\*İmmatür (grup C) grupta ovulasyon indüksiyonunda kullanılan ampul sayısı daha yüksek ( $\chi^2$  test)

**Tablo 2.** Serum ve foliküler sıvı HCG düzeyleri ve difüzyon oranları

	Grup A	Grup B	Grup C	Grup D	p
Folikül sıvı	40,10±25	36,5±20	11,2±7,8	39,5±24	P<0,01*
Serum	93,5±36	82,9±24	28±13	89,54±34	P<0,05*
Diffüzyon oranı	0,43±0,03	0,44±0,03	0,40±0,01	0,44±0,03	P=0,95

\*İmmatür grupta (grup C) serum ve foliküler sıvıda βHCG düzeyleri düşük(varyans analizi)

bulmuşlar ve netice olarak bunun ovulasyonu tetiklemek için verilen eşit doz HCG'den kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir (3). Ayrıca dışarıdan verilen hormon ve kimyasal maddelerin foliküler sıvıya sınırlı geçişinin oosit matürasyonu ile ilişkili olabileceği ifade edilmiştir (2).

HCG'nin de kendi ovaryan kan akımını artırarak kendi foliküler sıvı konsantrasyonunu arttırdığı ratlarda yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (6). Matürasyonunu tamamlamamış oositlerin LH reseptörlerinin tamamlanmamış olabileceği, bu nedenle HCG'ye yeterli yanıt vermediği öne sürülmüştür (7). Yine yakın bir çalışmada IVF'de düşük cevaplı hastaların düşük difüzyon oranları gösterdiği ifade edilmiştir (8). Enien ve arkadaşları HCG'nin foliküler sıvı konsantrasyonunu immatür grupta bizim sonuçlarımızın aksine yüksek bulmuşlar, ancak granüloza hücrelerinin de immünolojik olarak boyama yaptıklarında immün olarak HCG'ye tutunan granüloza hücre sayısını matür grupta yüksek bulmuşlar ve HCG'nin foliküler sıvı değerinin ve HCG boyanmış granüloza hücre sayısının oosit matürasyonu ile ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir (9).

İnjekte edilen hCG'nin difüzyon oranının değerlendirilmesinin, hipofizer down regülasyon altında olan kadınlar için gonadotropinlerin foliküler sıvıya difüzyonunu göstermesi bakımından önemli olabileceği ileri sürülmüştür. HCG'nin serumdan foliküler sıvıya geçiş oranı gonadotropin difüzyonunu yansıtabilir. Gonadotropinlerinde difüzyonu follikülogenezis ve oogeneziste önemli bir faktördür (10).

Bu çalışmada oosit matürasyonunun son aşamasında etkili olduğu düşünülen HCG'nin serumdan foliküler sıvıya geçişindeki oranın oosit matürasyonu ile arttığını savunan klasik bilgiye uygun olarak artacağını düşünürken, çalışma bulgularımız gerçekten matür grupta follikül sıvısı ve serum βHCG değerlerinin yüksek olmasına karşın difüzyon oranının artmadığını göstermiştir.

## KAYNAKLAR

1. Vanluchene E, Hinting A., Dhont M, De Sutter P, Maele VG, and Vandekerckhove D. Follicular fluid steroid levels in relation to oocyte maturity and in vitro fertilization. *J. Steroid Biochem Molec Biol*, 1991;38: 83-7.
2. Carson RS, Salamonsen LA, Findlay JK. Permeability of rat ovarian follicles to LH during development and luteinization. *J Reprod Fertil* 1986; 76, 663-
3. Enien WM, Sahwy SEI, Harris CP, Seif MW, and Elstein M. Human chorionic gonadotropin and steroid concentration in follicular fluid.: the relationship to oocyte maturity and fertilization rates in stimulated and natural in-vitro fertilization cycles. *Human Reprod* 1995; 10: 2840-4.
4. Veeck LL, Wortham JWE, Witmyer J, Sandow BA, Acosta AA, Garcia JE, Jones GS. Maturation and fertilization of morphologically immature human oocytes in a program of invitro fertilization. *Fertil Steril* 1983; 39:594-
5. Jeremy JY, Okonofua FE, Thomas M, Wojdyla J, Smith W, Craft IL, and Dandona P. Oocyte maturity and human follicular fluid prostanoid, gonadotropins, and prolactin after administration of clomiphene and pergonal. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1987; 65 : 402-6.
6. Hartshorne MG. Preovulatory follicular fluid: relationship to ovarian stimulation protocol, fertilization, and sperm penetration in vitro. *Fertil Steril* 1989; 52: 998-1005.
7. Botero-Ruiz W, Laufer N, De Cherney AH, Lake PM, Haseltine FP and Behrman HR. The relationship between follicular fluid concentration and successful fertilization of human oocytes invitro. *Fertil Steril* 1984; 41: 820-261.
8. Nagata Y, Honjou K, Sonoda M, Sumii Y, Inoue Y, Kawarabayashi T. Pharmacokinetics of exogenous gonadotropin and ovarian response in invitro fertilization. *Fertil Steril* 1999; 72: 235-9.
9. Enien WM, Chantler E, Seif MW, Elstein M. Human ovarian granulosa cells and follicular fluid indices: the relationship to oocyte maturity and fertilization in vitro. *Hum Reprod* 1998 May;13(5):1303-6.
10. Dale B, Elder K. Producing gametes. In: Dale B, Elder K, eds. *In vitro fertilization*. Cambridge: Cambridge University Press, 1997:8-18.

**Geliş Tarihi:** 08.09.2001

**Yazışma Adresi:** Dr. Cem Somer ATABEKOĞLU  
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Kadın Hastalıkları Ve Doğum AD,  
csatabek@yahoo.com