



KRİYOPREZERVASYON

İlknur M. GÖNENÇ

-
- Kriyoprezervasyon hücrelerinin özel koruyucu maddelerle (Kriyoprotektan)
- -196 °C'lik azot tanklarında saklanmasıdır

- İlk defa 1949'da Polge ve arkadaşları uygulamış
- ilk doğum raporu 1954'de Bunge ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır.

- Ülkemizde embriyoların dondurularak saklanması, 1996 yılı Kasım ayında Sağlık Bakanlığı tarafından yayınlanan yönetmelik sonrasında uygulamaya başlanmıştır.
- Bu tarihten itibaren dondurulup çözülen embriyoların kullanımı ile çok sayıda canlı doğum ve devam eden gebelikler elde edilmiştir

KRİYOBİYOLOJİNİN TEMEL PRENSİPLERİ

1. Dondurularak spermlerin önce kriyoprotektan maddelerle bir araya getirilerek dengelenmesi
2. Belirli bir hızla soğutularak, sıvı nitrojen içinde depolanması,
3. Çözülme aşamasında dilüsyon ile kriyoprotektanların ortamdan uzaklaştırılması ve gelişimlerine izin verecek fizyolojik solüsyonlar içerisine alınması esasına dayanır.

Bütün bu işlemler yapılırken;

- Hücre hasarı minimal olmalıdır
- Hücrenin yapısal bütünlüğü ve fonksiyonel özellikleri korunmalıdır
- İdeal olanı, $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'da sıvı nitrojenle saklamaktır. Ancak $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ - $196\text{ }^{\circ}\text{C}$ arasında daha kısa süre saklanabilir. (2 ay)

İki tip dondurma yöntemi kullanılmaktadır;

- Birincisi yavaş dondurma,
- İkincisi ise hızlı dondurmadır.

Yavaş dondurma laboratuvarı

YAVAŞ DONDURMA

- 1. Dondurma öncesi
- 2. Dondurma
- 3. Saklama

I. Dondurma öncesi


- Embriyolarının oda sıcaklığında kriyoprotektana maruziyeti
- Dondurma işlemlerinde kriyoprotektan kullanımı bir **ZORUNLULUKTUR.**

Kriyoprotektan nedir?

- Biyolojik dokuları ve hücreleri donma hasarından korumaya yarayan maddelerdir.
- ETKİ MEKANİZMASI

Kriyoprotektanlar

- Hepsi hiperozmotiktir
- 2 gruba ayrılırlar:
 - ▲ hücre içine girebilenler
 - ▲ hücre içine giremeyenler




Kriyoprotektanın hücre içine geçişini etkileyen faktörler:

3. Saklama

- -120°C 'nin altında saklanmaları uzun-dönem canlılık sağlar.
- Sıklıkla -196°C 'de saklanmaktadır.

Çözdürme

- 40°C/dak'nın altındaki hızlarda yavaşça yapılmalıdır.
- Hızlı yapıldığı takdirde, ozmotik şoka bağı olarak sağkalım oranı düşmektedir.

- 
- kriyoprotektan embriyolardan kademeli uzaklaştırılması
 - çözündürme solüsyonları süktroz içermeli

VİTRİFİKASYON

- Hızlı dondurma yönteminde ise örnek ya doğrudan sıvı azota daldırılmakta ya da kontrollü cihazlarda daha yüksek bir soğutma hızı kullanılmaktadır.

- Vitrifikasyon da başarıyı etkileyen 3 temel parametre bulunmaktadır.
- Bunlardan ilki soğutma ve çözme hızıdır.
- İkinci temel parametre kullanılan dondurma solüsyonlarının konsantrasyonudur.
- Üçüncü temel parametre ise örnek hacmi ve hücrelerin içerisinde vitrifiye edilip sıvı nitrojen içerisinde saklanabilecekleri özel aparatlardır.



Teşekkürler