

Başlık: İleri maternal yaş, post natal hayatta gelişme değişiklikleri ve kardiyometabolik sağlığın bozulmasına yol açacak şekilde fare blastokistlerinin yanlış programlanmasına sebep olmaktadır.

Orijinal Başlık: Advanced maternal age causes adverse programming of mouse blastocysts leading to altered growth and impaired cardiometabolic health in post-natal life

Enstitü: Centre for Biological Sciences, University of Southampton, Southampton SO16 6YD, UK 2 School of Agriculture, Food & Rural Development, Newcastle University, Newcastle Upon Tyne NE1 7RU, UK 3 MRC Lifecourse Epidemiology Unit, University of Southampton, Southampton SO16 6YD, UK *Correspondence address. Tel: +44-2381-204145; E-mail: t.p.fleming@soton.ac.uk Submitted on December 18, 2015; resubmitted on June 8, 2016; accepted on June 17, 2016

Yazarlar: M.A. Velazquez^{1,2}, C.G.C. Smith¹, N.R. Smyth¹, C. Osmond³, and T.P. Fleming^{1,*}

Dergi: Human Reproduction, Vol.31, No.9 pp. 1970–1980, 2016

Giriş

Genellikle kadınlarda 35 yaş üstü gebelikler olarak tanımlanan ileri maternal yaş (İMY) , dünya çapında artan bir fenomendir. (Laopaiboon ve ark.,2014; Fall et al., 2015; Sauer, 2015). Maternal yaş arttıkça overlerdeki primordial folikül sayısında azalma (Nelson ve ark., 2013) ve oositlerde kromozomal anomali sayısında artış olduğu (Jones and Lane, 2013) kabul edilir. İnsanlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar İMY'nin azalmış konsepsiyon kapasitesi(Dunson ve ark., 2004) ve artmış düşük riski(Khalil ve ark., 2013). ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Gebelikteki istenmeyen etkiler bildirilmiş olup kanıtlar kesin olmamakla birlikte insan çalışmalarındaki pek çok veri İMY'nin kongenital anomliler(Csermely ve ark., 2015), ölü doğum(Laopaiboon ve ark., 2014),preterm doğum(Kenny ve ark., 2013), perinatal ölüm(Laopaiboon ve ark., 2014), makrozomi (Kenny et al., 2013),LGA(Kenny et al., 2013), SGA (Khalil et al., 2013), düşük doğum ağırlığı (Fall et al., 2015) , ve sezaryen ile doğum(Khalil et al., 2013) için bir risk faktörü olduğu fikrini desteklemektedir. Çalışmalar arasında tutarsızlıklar bulunsa da, epidemiyolojik çalışmalar İMY'nin post natal yaşamı insanlarda etkileyebileceğini göstermiştir. Örneğin, İMY'li adaların çocuklarında otizm spektrum bozukluğu da dahil olmak üzere davranışsal farklılık riskinde artış olduğunu destekleyen kanıtlar bulunmaktadır(Lee and McGrath, 2015).30 çalışmadan oluşan bir

metaanalizde diabet geliştirme riski incelenmiş İMY'lı anneden doğan çocuklarda tip 1 diabet riskinin arttığı görülmüştür (Cardwell ve ark. 2010). İMY'lı annelerin genç erişkin çocuklarında bu ilişki saptanamamıştır fakat İMY erken başlangıçlı tip 2 diabet ile ilişkili bulunmuştur(Lammi ve ark., 2007). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, İMY'lı annelerin genç erişkin çocuklarında açlık plazma glukoz seviyelerinde artış olduğu bildirilmiştir. Maternal konsepsiyon yaşı ve çocuklarda 5-7 yaşlardaki kan basıncı (Whincup et al., 1989; Lawlor et al., 2004) ve İMY'lı annenin yenidoğanında görülen yüksek kan basıncı (Gillman et al., 2004) arasındaki gözlemlenen pozitif bağlantı ile kardiyovasküler fonksiyonun da etkilenebileceği gösterilmiştir.İMY' nın yaşam döngüsünü kısalttığı(Wilding ve ark., 2014) ve insan reproduktif kapasitesini azalttığını(Tarin ve ark .,2001; Smits ve ark., 2002) gösteren bulgular da mevcuttur. Aksine, insan çalışmalarında İMY'ın pozitif etkileri de bildirilmiştir. Örneğin, bazı çalışmalar İMY'ın,çocuklarda bazı pozitif davranışsal ve kognitif sonuçlarının olduğunu belirtmiştir(Tearne, 2015). Birleşik Krallık'ta yapılan bir çalışmada, İMY'lı anne çocuklarında istemsiz yaralanma, hastaneye başvuruda azalma, daha iyi dil gelişimi, 9 aylık aşı takvimini tamamlama, sosyal duygusal zorluklarla daha iyi başa çıkabilme yeteneğine olduğu görülmüştür(Sutcliffe ve ark, 2012). Aynı zamanda İMY'lı annelerin çocukları daha uzun daha ince yapılı ve abdominal adipoz dokularının ve insülin benzeri büyüme faktörü-2 'nin plazma konsantrasyonunun daha az olduğu gözlemlenmiştir (Savage ve ark., 2013). Dahası, 73 aşırı kilolu orta yaşlı erkek üzerinde yürütülen çalışma, annelerinin çocuk doğurduğu yaş arttıkça(18-45 yaş arası) gelişmiş insülin hassasiyeti, azalmış açlık glukoz ve insülin konsantrasyonları ve düşük kan basıncı da dahil olmak üzere daha iyi kardiyovasküler ve metabolik fenotip göstermekte olduklarını bildirmiştir(Albert ve ark., 2015). Benzer olarak, yakın zamanda yapılan başka bir çalışma ise, genç erişkinlerde annelerinin çocuk doğurma yaşı ve açlık glukoz seviyeleri arasında tersine bir ilişki olduğu bulunmuştur(Verroken ve ark., 2015).Fakat, İMY' nın bu pozitif etkilerinin muhtemelen çevresel faktörlere bağlı olduğu, üreme yaşının biyolojik mekanizmaları ile direk olarak ilişkili olmayabileceği belirtilmiştir. Bu bağlamda, bazı toplumlarda, ileri yaşlı anneler daha iyi soyoekonomik seviyededir ve/ veya sağlıklı yaşam hakkında (emzirme, dengeli beslenme, fiziksel aktivite vb gibi) daha fazla bilgiye sahiptirler bu da daha sağlıklı ve güvenli bir ortamda çocuk yetiştirmey, sağlayıp erişkinlikte uzun süreli pozitif sonuçlar doğuracaktır(Wilding et al., 2014; Albert et al., 2015; Tearne, 2015). Bazı yazarlar, insan çalışmalarında İMY'ye bağlı olduğu düşünülen bazı istenmeyen etkilerin çevresel faktörlere bağlı olabileceğine inanmaktadırlar. Bu farklı faktörleri kontrol etmek zor olsa da,insan retrospektif çalışmaları İMY' nin uzun dönem etkilerini nitelendirememektedir (Myrskylä

and Fenelon, 2012; Albert et al., 2015). Bu da hayvan deney modellerinin öneminin altını çizmektedir. Farelerde yapılan deneysel çalışmalar, İMY'nin doğal yolla üreme ile elde edilen yavrunun postnatal gelişimini etkilediğini belirtmektedir. Buna bağlı olarak İMY doğumdan sonra ilk 3 gün içindeki yüksek mortalite ,postnatal 8-10(Lerch ve ark.,2015) ya da 24-37 (Tarin ve ark., 2003)haftada davranış değişiklikleri, post natal 40-90 haftada daha düşük vücut ağırlığı ve azalmış yaşam döngüsü (Tarin ve ark., 2005) ile ilişkili bulunmuştur. Fakat İMY'nin deneysel hayvan modellerinde yavruların metabolik ve kardiyovasküler fonksiyonları üzerine uzun dnem etkileri ile ilgili yeteri kadar bilgi bulunmamaktadır. Dahası, İMY'lı kadınlarda infertiliteyi azaltmak için yardımcı üreme tekniklerinin (YÜT) kullanımının artması İMY'lı deneysel YÜT modelleri geliştirme zorunluluğu doğmuştur(Cabry et al., 2014; Jackson et al., 2015). Bu çalışmalar, İMY'nin implantasyon öncesi embriyonun kendisi ile embriyo transferi(ET) sonrası gebeliğin sistemik çevresinden ve maternal traktus üzerine etkilerinin ayrımını sağlayabilir. Şu an ki çalışmada, murin ET modeli kullanarak İMY'nin YÜT ile oluşan yavrunun postnatal gelişimindeki etkisini inceliyoruz. Ovulasyon indüksiyonu, IVF ,genişletilmiş embriyo kültürü ve paternal koşulların potansiyel istenmeyen etkisinden kaçınmak; embriyonun maternal yaş ile ilişkili sonuçlara odaklamak için yaşlı ya da genç dişieri doğal yolla genç erkekler ile eşleştirdik ardından toplama ve hemen genç alıcılara blastokistleri transfer ettik. Yaşlı fareden gelen yavrunun vücut ağırlığı, kan basıncı glukoz metabolizması ve post natal gelişimdeki organ allometrisinde farklılıklar sergileyebileceğini özellikle de dişiler etkilediğine dair kanıt sağlamaktayız. Dahası, verilerimiz istenmeyen fenotiplerin daha blastokist evresinde iken programlandığını göz önüne sermektedir.

Materyal ve Metod

Hayvanlar

Tüm hayvan deneyi UK Home Office Animal (Scientific Procedures) Act 1986 ve Southampton Üniversitesi yerel etik kuruluna göre yürütülmüştür. Tüm hayvanlar Southampton Üniversitesi Biyomedikal araştırma merkezinde 0700-1900h ışık siklusunda 20-228 derecede büyütülmüş ve tutulmuştur. Su ve standart yem (Special Diet Services, Ltd, Witham, Essex, UK) istenildiği zaman bu çalışmada kullanılan tüm hayvanlara sağlanmıştır. Non-superovüle virgin genç(8– 9 hafta) ve yaşlı (34– 39 hafta) dişi farelerin(C57BL/6) in-vivo oluşturulan blastokistleri, genç CBA erkekler(10– 15 hafta; Fig. 1) ile eşleştirilmiştir. Erkek dişi çiftler gece boyu aynı yerde bırakılmıştır ve vajinal tıkaç varlığı başarılı bir çiftleşme olarak kabul edilmiştir. Gün ortasında embriyonik 0.5.(E0.5) günde kabul edilen

dişilerde vajinal tıkaç izlenmiştir. E3.5'te fareler servikal dislokasyon ile öldürülmüş, uterin hornlar hemen diseke edilmiş ve ılık(37.8C) bir salin solüsyonuna yerleştirilmiştir. (BR0053G, OXOID, UK). Her bir uterin horn stereomikroskop altında, 4mg/ml domuz zerum albumini ile desteklenmiş 1ml H6 mediumu ile kibarca boş bir petri kabına boşaltıldı (BSA, A3311, Sigma, UK; Nasr-Esfahani et al., 1990). 2-8 hücre evresinde dondurulmuş ya da parçalanmış embriyolar dejenere embriyo olarak sınıflandırılmıştır. Belirgin fragmantasyon belirtileri olan morula ve blastokistler de dejenere embriyolar olarak kabul edilmiştir. Tüm fragmante olmamış 1 hücreli yapılar (ilk klivaj ayrımı olmayan) fertilize olmamış oositler olarak sınıflandırılmıştır. (ova; Wu ve ark., 2010).Morula ve blastokist evresindeki fragmantasyon belirtisi göstermeyen tüm embriyolar viable embriyolar olarak kabul edildi. Viabilite (total viable embriyo sayısı/ total embriyox100) , fertilizasyon(total embriyo/ total embriyo+ ova x100) ve dejenerasyon (dejenere embriyolar/ total embriyox100) oranları hesaplandı. Kalıntılardan arındırmak için blastokistler 3 kere H6-BSA mediumda yıkandı. Toplanan blastokistler ayırıcı boya ile muamele edildi ya da potasyum ile zenginleştirilmiş 30ml damlalık (damlaya 10-15 blastokist) sentetik oviduktal mediuma transfer edildi (Summers ve ark., 2000) ve %5 CO2 'li hava da 37'8 derecede 2-3 saat kadar ET'ye kadar inkübe edildi.

Blastokistlerde ayırıcı boyama

Blastocoel kavitesi embriyo volümünün yarısından fazla olan blastokistler Hardy ve arkadaşlarının (1989) geliştirdiği bir protokole göre bazı değişiklikler yapıp ayırıcı nükleer işaretleme yapıldı. Aksi gerekmediği sürece, embriyolar 50 ml damlalarla muamele edildi. 1ml ılık(37,5C) asit Tyrode (T1788, Sigma)solüsyonunda zona pellucidayı ayırdıktan sonra, blastokistler 15-20 dakika süre ile 1ml H6-BSA'da yıkandı ve ardından %10 trinitrobenzenesulfonic asit solüsyonunda (TNBS, P-2297, Sigma) oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi. 1% polyvinylpyrrolidone (PVP, P0930, Sigma) eklenmiş H6 mediumu, %10 luk TNBS solüsyonu hazırlamak için kullanılmıştır. Ardınfan blastokistler H6-PVP' de 3 kere yıkanmış ve 0.4 mg/ml goat anti-dinitrophenyl antikor (D9781, Sigma'te H6-PVP'da oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiştir. H6-PVP de 3 kere yıkadıktan sonra,blastokistler 4 ml propidium iodide (1 mg/ml, P4170, Sigma) eklenmiş yeniden yapılandırılmış 50 ml (H6-BSA ile 1:10 dilüe edilmiş) Low-Toxw guinea pig komplemanda 15 dakika boyunca 37.8 derecede inkübe edilmiştir.

Blastokistler tekrar H6-BSA ile 3 kere yıkanıp, 1% Bisbenzimid H 33258 eklenmiş 1 ml buz gibi ethanol ile 1saat boyunca 48 derecede fikse edilmiştir. Hücre ölçümü için, blastokistler buz gibi 1 ml taze ethanol ile yıkanıp, 4 ml gliserol(G5516, Sigma) ile mikroskop lamına yerleştirilip lamel kapatılmıştır. Blastokistlerin dijital fotoğrafları karanlık bir odada ters epifloresan mikroskop (Axiovert 200M, Carl Zeiss Ltd) ile elde edilmiştir. Hücre çekirdekleri MetaMorph yazılım ile manuel olarak sayılmıştır. (Version 6.2r6, Molecular Devices).

Embriyo transferi

Blastokistler embriyo transferinden önce 3 kere M2 mediumda yıkandı (Watkins ve ark., 2007). Uterine horn flank laparotomi ile açığa çıkarıldı ve MF1 pseudo-gebe (E2.5) genç alıcıların uterin kavitesine minimal miktarda medium ile 6 tane gelişen blastokist transfer edildi (8– 9 hafta; Fig. 1). Ardından uterin horn tekrar abdominal kaviteye yerleştirildi ve insizyon hattı kapatıldı. Bu prosedür diğer 6 adet gelişen blastokistin yerleştirildiği karşı flank bölgede de tekrarlandı. Embriyo transferini takiben alıcıların her biri anesteziden derlenmeleri için temiz birer kafese ılık(28-30,8C) bir odaya yerleştirildi. Daha sonra dişiler sessiz bir odaya alındı ve gebelik ve laktasyon için dinlenmede tutuldu.

Yavruların analizi

ET sonucu oluşan yavrular doğumdan 3 hafta sonra süttten kesildi ve cinsiyetlerine göre ayrılarak 30 hafta boyunca haftalık vücut ağırlıkları kaydedildi. Sistolik kan basıncı, Ilık (28– 30’8C; Watkins ve ark., 2007, 2008) bir odada manşonlu pletismografla Non-invaziv kan basıncı monitörü(NIBP-8, Columbus Instruments, Columbus, OH, USA) eşliğinde post natal 9-15-21. Haftalarda standart protokole göre ölçüldü. Her bir fare için iyi dalga şekilli 5 okuma ve iyi, geniş kapsamlı kalite elde edildi (Williams ve ark., 2011). Post natal 30. Haftada 15 saatlik gece açlığını takiben glukoz tolerans testi için standart protokol uygulandı. Kuyruktan alınan küçük bir damla kandan glukometri ile ölçüldü. (Accu-Chek, Aviva, Roche Diagnostics GmbH, Germany). GTT’ye başlamadan 20 dakika önce kuyruğa anestetik krem(Lidocaine 5%, Teva, UK) uygulandı. Bazal glukoz seviyesini kaydettikten sonra (0. Dakika), 2g/kg sozunda i.p. enjeksiyon ile bir glukoz(G8270, Sigma) solüsyonu(steril distile suda, %20) uygulandı. Glukoz seviyeleri uygulamadan sonra 15, 30,60 ve 120. Dakikalarda ölçüldü. (Constantinou et al., 2014; Weidemann et al., 2016). Açlıkta ve GTT sırasında su

istenildiği kadar sağlanmıştır. GTT'Den hemen sonra fareler istenildiği kadar su ve yiyecek dolu temiz kafeslere kondu. GTT' den 2 gün sonra fareler servikal dislokasyon ile öldürüldü ve organlar(dalak, karaciğer, sağ ve sol böbrek, kalp ve akciğerler) ve kalan dokular tartıldı.

İstatistik

İstatistiksel analiz BM SPSS Statistics Software, Version 21 (IBM Corporation UK Ltd, Hampshire, England) ile yapıldı. Tüm veriler Shapiro–Wilk test ile normal dağılım için test edildi. Fertilite ve blastokist hücre ayrımı değişkenleri T-test ile ya da x2 ile analiz edildi. T-test ile analiz edilen veriler analiz öncesi dönüştürüldü. Embriyo transferi sonrası tek sefer oluşan yavruların boyut ve cinsiyet ayrımı T-test ve binominal test ile analiz edildi. Kalan tüm post natal veriler multi seviyeli random etki regresyon modeli ile analiz edildi. Regresyon analizine bağlı olan post natal veri normal dağılımlı olmayıp analiz öncesi Fisher-Yates değişimi çıkan değişkenler üzerine uygulanmıştır. (Crozier et al., 2012).her bir fare için yapılan 5 kan basıncı ölçümünden en yüksek ve en düşük olan değerler dikkate alınmayıp, 3 orta değerlerin ortalaması alınmış ve istatistiksel analiz için kullanılmıştır(Williams et al., 2011). Eğri altında kalan alan GTT verileri için trapezoidal kural ile hesaplanmıştır (Matthews et al., 1990). Aksi gerekmedikçe veriler veriler ortalama olarak sunulmuştur.

Sonuçlar

Maternal yaşlanma fare blastokistindeki hücre dağılımını etkileyebilir.

Embriyo üretememiş pıhtı pozitif dişilerin yüzdesi(Fig 2A) ve donör başına üretilen embriyo sayısı yaş grupları(Fig. 2C). arasında farklılık göstermemiştir. Fakat fertilizasyon oranı yaşlı dişilerde daha düşüktür. (Fig. 2B). Embriyoların bazıları ayırıcı boya ile muamele edilmiş ve analizler, trofoektodermdaki azalmış hücre sayısına(Fig. 3A). bağlı olarak yaşlı farelerde blastokistlerdeki total hücre sayısında azalma olduğunu açığa çıkarmıştır. Hücre dağılımındaki diğer değişkenler etkilenmemiştir. (Fig. 3B).

Yaşlı farelerden toplanan blastokistlerden oluşan yavrularda post natal hayatta cinsiyete bağlı olarak artmış kilo alımı görülmektedir.

İMY'nin YÜT ile olumuş bir yavrunun post natal hayatındaki etkilerini araştırmak için, yaşlı annelerden alınan blastokistleri genç taşıyıcılara yerleştirdik ve ortaya çıkan yavru (yaşlı ET) ile genç anneden toplanan ve genç taşıyıcılara transfer edilen blastokistler(genç ET) karşılaştırıldı. ET takiben, gruplar arasında ürün sayısında ya da ET'nin canlı yavru elde etme etkinliği arasında farklılık gözlenmedi. (yaşlı 66%; genç 65%). Benzer olarak erkek/dişi oranı embriyonun orijininin etkilenmemiştir. (Fig. 4B). Bu deneysel çalışmanın herhangi bir aşamasında, haftalık vücut ağırlığı ölçümlerinde erkek yavruarda kilo alımında bir farklılık görülmemiştir. Aksine yaşlı ET dişiler, genç ET dişilere göre post natal hayatta daha ağırdırlar. Vücut ağırlıklarındaki bu farklılık post natal 13. Haftada belirginleşmeye başlamıştır ve çalışmanın geri kalan sürecinde de belirgin olarak kalmıştır. (Fig. 5C).

Yaşlı farelerden toplanan blastokistlerden oluşan yavrularda post natal hayatta cinsiyete bağlı olmayan hipertansiyon gelişimi görülmektedir.

Yavrunun non invaziv kan basıncı ölçümleri post natal 9,15,21. Haftalarda yapılmıştır. Analizler, yaşlı ET erkek yavrularda 9-15. Haftalarda genç ET'ye göre kan basıncında belirgin artış göstermektedir(Fig. 5B). Fakat, 21.haftadan itibaren sistolik kan basıncı değerleri gruplar arası belirgin farklılık göstermemektedir. (Fig. 5B). Benzer bir senaryo dişi yavrularda da gözlemlenmiştir fakat bu farklılık post natal 15. Haftada belirgindir(Fig. 5D). Bu 3 ölçümü ortalaması yaşlı ET yavrularda her iki cinsiyet için de daha yüksektir fakat bu istatistiksel olarak önem taşımamaktadır.

Tartışma

Bu çalışmada, post natal dönemde AMA'nın yavru gelişimi üzerindeki uzun dönem etkisini araştırdık. Verilerimizin ET modelinde; yaşlı dişi farelerden (genç erkeklerle çiftleştirilen) elde edilen genç embryo alıcılarına transfer edilen embryolardan gelişen yavrularda; kilo alımı, kan basıncı, glukoz metabolizması, post natal organ allometrisinde değişiklikler gözlenmektedir. Değişiklik gösteren fenotiplerin çoğu sex-spesifik biçimde gözlenmiş olup dişiler daha çok etkilenmiştir. Bizim çalışmamız, yaşlı dişi farelerin YÜT ilişkili prosedürlerle oluşturulan yavrularının metabolik ve kardiyovasküler fonksiyonunu inceleyen ilk çalışmadır. ET'i takiben normalize edilmiş invivo maternal çevrede fenotipik değişikliklerin gözlemlenmesi; İMY tarafından meydana gelen olumsuz programlanmanın bazılarının, embryo blastosist evresine gelmeden oluşmuş olduğu ve gebeliğin ilerleyen dönemlerindeki durumlardan bağımsız olduğu anlamına gelmektedir. Bizim mevcut bulgularımızı

destekleyecek şekilde; kemiriciler ve geviş getirenler ile ilgili deneysel veriler, post natal yaşamda değişiklik gösteren fenotiplerin, ovaryen folikülogenez, preimplantasyon embryo gelişimi gibi kritik üreme olaylarının olduğu, aşırı beslenme, yetersiz beslenme, YÜT ilişkili prosedürlere veya inflamasyona maruz kalmış perikonsepsiyonel dönemde programlandığını göstermektedir.

Biz, yaşlılığa bağlı kaçınılmaz üretkenlik kaybından ziyade orta yaş kadınlardaki reproduktif yaşlanmanın başlangıcını göstermek amacıyla İMY modelimizde 34-39 haftalık fareler kullandık. Çalışmamızda, superovule olmamış farelerden elde edilen embryo sayısı etkilenmemiştir, bu da benzer yaşlardaki farelerle yapılan İMY çalışmalarında, İMY'nin normal çiftleşmeyi takiben oluşan yavru sayısına etkisinin olmayışı ile karşılaştırılabilir. Her ne kadar 60larında gebe kalan kadınlar ile ilgili olgular bildirilmiş olsa da, bizim modelimizin, yaşlı bireylerden ziyade orta yaşlı kadınların anneliği ertelediği, geciktirilmiş çocuk bakımındaki mevcut akıma daha yakın olduğuna inanıyoruz.

Yaşı ilerleyen annelerden gelen embryolarda, azalmış fertiliteye katkı sağlayabilecek olan aneploidide artış olduğunu biliyoruz. Diğer taraftan, fare cinsine bağlı olarak fare embryolarında, özellikle de bu çalışmada kullanılan yaş aralığında, aneploidi görülmesi daha az olasıdır. Bu ayrılık, her ne kadar insan konsepsiyon çalışmalarından elde edilen durumlardan bir farklılık yansıtırsa da, sağkalımda artışa neden olarak maternal yaş ile ilişkili postnatal sağlığı değerlendirmemize olanak verdiği için bu fare modelinde bizim lehimizeyiz. Ayrıca, aneploidi, implantasyon başarısızlığı, düşük, yavrunun konjenital bozukluklarla doğması ile sonuçlandığı için, insan IVF başarısızlığındaki temel neden gibi görülmektedir. Ayrıca klinik çalışma bakışaısından, bizim çalışmamız, ama embryolarının daha genç bir alıcıya transfer edildiği ve bu embryoların potansiyel programlanmasının donör maternal yaşa bağlı olduğu, insan taşıyıcı anneliği ile bağlantılıdır.

Bizim çalışmalarımız, maternal yaşlanmanın, blastosist evresindeki hücrelerin sayısındaki azalmayı, özellikle trophectoderm evresinde, tetikleyebileceğini göstermektedir. Fareler ile yapılan yakın zamanlı bir çalışmada, konsepsiyonda İMY ile büyümesi kısıtlanmış dişilerde, trophoectodermde daha az sayıda hücre olan, daha düşük sayıda hücreden oluşan blastosist oluştuğu bildirilmiştir. Blastosistteki azalmış hücre sayısı; mitokondrial disfonksiyonlu bir fare grubunda azalmış plasental ve fetal ağırlık ile ilişkilidir. Biz çalışmamızda fetal gelişimi incelemedik, ancak İMY'nin fare yavruları modelinde, yavru sayısında azalma olmaksızın embryo boyutunda ve somit sayısında azalma bildirilmiştir. Çalışmamızda doğum ağırlığı incelenmemiştir, ancak bizim çalışmamız gelişimin erken dönemindeki hücre bölünmesindeki

deviasyonun, bozulmuş post natal sağlığın bir göstergesi olduğunu öne sürmektedir. Yetişkinlikte yüksek kan basıncı izlenen kemirgen yavrularında, preimplantasyon dönemi öncesinde invitro bir ortama veya yetersiz beslenmeye maruz kaldıktan sonra blastokist evresinde hücre sayısında değişiklik olduğu gözlenmiştir.

Çalışmamızdaki yaşlı farelerin dişi yavrularında glukoz dengesinde hemen göze çarpmayan bozulmalar, yakın zamanda yapılan çoklu ülke katılımlı, İMY'nin genç erişkinlerde plazma glukoz seviyelerini artmaya neden olabileceğini öne süren bir çalışmayı desteklemektedir(Fall et al., 2015). Fakat, bu epidemiolojik insan çalışmasında(Fall et al., 2015), bizim sonuçlarımızın tersine bozulmuş glukoz metabolizması cinsiyet spesifik değildir.post natal glukoz metabolizmasındaki bu cinsiyete spesifik olmama durumunun, paterfnal yaşa bağlı olup olmadığını deneysel koşullarda test etmek ilginç olabilir. Önceki epidemiyolojik insan çalışmaları da İMY'nin yavrunun erişkinlikteki vücut ağırlığı(Myrskylä and Fenelon, 2012) ya da kan basıncı(Fall et al., 2015; Verroken et al., 2015) üzerine etkisini belirlemede başarısız olmuştur. Burada, epidemiyolojik çalışmalarda ilgili şaşırtıcı faktörleri kontrol etmek ve yaşam tarzı alışkanlıkları ve sağlık durumu ile ilgili doğru, uzun dönem bilgi toplamanın zorluğunun da altı çizilmelidir. Farelerde iyi kontrol edilmiş deneysel koşullarda, anne yaşlanmasının cinsiyet spesifik olmayan bir şekilde yetişkinlikte yüksek kan basıncı gelişimini programladığını açığa çıkardık. Ancak, yaşlı ET yavrularında gözlemlenen yüksek kan basıncı, sadece dişilerde artmış vücut ağırlığı ile eşlik etmektedir. Benzer olarak, önceki deneylerde farelerde perikonsepsiyonel dönemde yetersiz beslenmenin ve in vitro kültürün etkileri araştırılırken, post natal gelişim sırasında vücut ağırlığında belirgin değişiklik olmaksızın erkek yavrularında kan basıncının arttığını gözlemledik. Başka bir gelişimsel programlama modelinde de obez farelerin erkek yavrularında post natal gelişim sırasında kardiyovasküler fonksiyonla ilişkili vücut ağırlığından bağımsız pek çok değişken görülmesi kardiyak aktivite ve vücut yapısı arasında ilişki olmadığını göstermiştir. Programlama eğrisinde bulunan cinsiyet spesifik yavru fenotipinin arkasında erkek ve dişi arasındaki sex kromozom doz farklılığının olduğuna inanılmaktadır. Bu senaryoda, sex kromozomları arasındaki gen dozaj farklılığının, otozomal genlerin transkripsiyonel aktivitesini farklı etkileyebileceğini; sonuç olarak da genomun , sexome'un, büyük bir kısmını etkileyebilecek ve bu sayede gen ağında cinsiyet yanlısı modülatör bağlantılara neden olabilecek sex spesifik fenotipler oluşturabilecektir. Gen ekspresyonu,mitokondrial fonksiyon ve epigenetik fonkiyondaki sex spesifik değişiklikler, preimplantasyon döneminde de mevcut olup embriyogenez boyunca sürmesi beklenmektedir.

İlginçtir ki, İMY modelimiz, farelerde in vitro embriyo kültüründe uzun dönem etkileri inceleyen bir önceki çalışmamızla benzerlikler göstermektedir. Bu çalışmada, trofektoderm ve iç hücre kitlesindeki az hücre sayısı dişilerde artmış vücut ağırlığı, cinsiyetten bağımsız olarak da tüm yavrularda yüksek kan basıncı ile ilişkilidir. Ancak, blastokist transferinden önce kısa bir embriyo kültürü yavrunun kan basıncını minimal artırmak için yeterlidir. Dahası, bu çalışmada embriyonun anne yaşı ve in vitro kültürü ve transferinin kombine etkisi büyük ihtimalle post natal fenotip değişikliklerinin arkasındaki nedendir. Yine de amacımı İMY'li kadınlarda şu an kullanılan YÜT'ü geliştirmektir. ET'nin çalışmamızda kullanımı büyük olasılıkla vücut ağırlığındaki artıştan sorumludur bu da önceden belirtilen normal yaşta, eşleşmiş farenin yaşlı maternal trakt ortamı ile karşılaşması sonucu oluşan daha düşük vücut ağırlıklı yavru ile kontrast oluşturmaktadır. Fakat, her iki modelde de erken dönemde olmasada geç dönemde post natal gelişimde, süttten kestikten sonra vücut ağırlığında deviasyon gözlenmiştir. Dahası çalışmamızda gözlemlediğimiz İMY ile ilişkili azalmış dalak ağırlığı, doğal yolla elde edilen yaşlı fare gebeliklerinde de görülmüştür. Şu an bu azalmış dalak ağırlığının immün sistem fonksiyonunu etkileyip etkilemediği bilinmemektedir.

Oositlerde artmış oksidatif strese bağlı mitokondrial disfonksiyon, yaşlılığın uzun dönem etkileri arkasındaki olası mekanizma olarak öne sürülmektedir. Aslında farelerde ve insanlarda yapılan pek çok çalışma, yaşlı dişilerdeki oositlerde mitokondrial fonksiyonda değişiklikler bulmuştur. Yetişkinlikte görülen hastalıkların perikonsepsiyonel programlanmasının altında yatan potansiyel mekanizmanın epigenetik modifikasyon olduğu öne sürülmektedir. Yaşlı farelerin ve insanların oositlerindeki pek çok epigenetik modifikasyon raporlanmıştır. Fakat, hastalıkların uzun dönem programlanması ve oosit değişiklikleri arasında direkt bir bağlantı bulunamamıştır. Ek olarak, deneysel kanıtlar uterin yaşlanmanın moleküler ve morfolojik değişikliklerle birlikte görüldüğünü gösterse de bunların fertilité için zararlı olabileceği görülmüştür. Yaşlı annenin uterusu ve tüpündeki mikroortamın postnatal yaşamdaki uzun dönem fenotip programlamasına katkısı bilinmemektedir. İlginçtir ki, genç ve yaşlı annelerden yapılan resiprok transplant yapılan yakın zamandaki bir çalışmada uterin çevrenin, oositin değil, yaşlı farenin yavrusunda kongenital kalp defektlerinde hayati öneme sahip olduğu belirtilmiştir. İMY'ye bağlı bozulmuş oosit kalitesi ve kongenital kalp defekti gelişimi, beslenme ve egzersiz müdahaleleri ile iyileştirilebilir. İMY ile ilişkili farklı post natal fenotip gelişim riskinin benzer müdahalelerle azalabileceğinin belirlenmesi kritiktir. Hayvan modellerindeki verilerin insanlara uyarlanmayacağını fakat bu çalışmalarını hedef tür üzerinde test edilebilir hipotezleri geliştirmek açısından değerlidirler.

Sonuç olarak,

Murin bir YÜT modelinde, maternal yaşlanmanın post natal yaşamda bozulmuş kardiyovasküler ve metabolik fonksiyon gelişimini programlayabileceğini gösterdik. Dahası, verilerimiz preimplantasyon döneminin, İMY'nin istenmeyen programlanmanın İMY'ye bağlı olabileceği ve gebeliğin oluştuğu maternal traktus ve sistemik çevreden bağımsız olduğunu göstermektedir. Yine de, insan embriyosu fareye göre daha fazla anöploid göstermektedir, verilerimizin taşıyıcı annelik dahil YÜT kullanan İMY'li kadınlar için önemli olduğuna inanıyoruz.

Teşekkür

Biomedical Research Facility at the University of Southampton'ın teknik desteğine teşekkür ederiz.

Yazarların rolü

M.A.V. deneyleri gerçekleştirdi verileri analiz etti ve yazdı. C.G.C.S. deneyler planladı ve programladı. N.R.S. deneyleri gerçekleştirdi ve yazıları düzenledi. C.O. istatistikî tecrübe sağladı ve yazıları düzenledi. T.P.F. çalışmayı kavradı ve düzenledi yazıları düzeltti.

Kaynak

Bu çalışma European Union FP7-CP-FP Epihealth programme (278418) to T.P.F. and the BBSRC (BB/F007450/1) to TPF tarafından desteklendi.

Çıkar çatışması

Yazarların belirtecek hiçbir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Referanslar

Albert S, Wolf PL, O'Mara C, Barany W, Pryjma I. Influence of maternal age and parity on development of lymphoreticular organs of offspring in mice. J Gerontol 1965;20:530–535. Albert BB, De Bock M, Derraik JG,

Brennan CM, Biggs JB, Hofman PL, Cutfield WS. Increasing parental age at childbirth is associated with greater insulin sensitivity and more favorable metabolic profile in

overweight adult male offspring. *Am J Hum Biol* 2015;27:380–386.

Arnold AP, Luskis AJ. Understanding the sexome: measuring and reporting sex differences in gene systems. *Endocrinology* 2012;153:2551–2555.

Blackmore HL, Niu Y, Fernandez-Twinn DS, Tarry-Adkins JL, Giussani DA, Ozanne SE. Maternal diet-induced obesity programs cardiovascular dysfunction in adult male mouse offspring independent of current body weight. *Endocrinology* 2014;155:3970–3980.

Cabry R, Merviel P, Hazout A, Belloc S, Dalleac A, Copin H, Benkhalifa M. Management of infertility in women over 40. *Maturitas* 2014;78:17–21.

Campbell A, Fishel S, Bowman N, Duffy S, Sedler M, Thornton S. Retrospective analysis of outcomes after IVF using an aneuploidy risk model derived from time-lapse imaging without PGS. *Reprod Biomed Online* 2013;27:140–146.

Carbone L, Chavez SL. Mammalian pre-implantation chromosomal instability: species comparison, evolutionary considerations, and pathological correlations. *Syst Biol Reprod Med* 2015;61:321–335.

Cardwell CR, Stene LC, Joner G,

Bulsara MK, Cinek O, Rosenbauer J, Ludvigsson J, Jane M, Svensson J, Goldacre MJ et al. Maternal age at birth and childhood type 1 diabetes: a pooled analysis of 30 observational studies. *Diabetes* 2010;59:486–494.

Constantinou C, Mpatsooulis D, Natsos A, Petropoulou PI, Zvintzou E, Traish AM, Voshol PJ, Karagiannides I, Kypreos KE. The low density lipoprotein receptor modulates the effects of hypogonadism on diet-induced obesity and related metabolic perturbations. *J Lipid Res* 2014;55:1434–1447.

Crozier SR, Harvey NC, Inskip HM, Godfrey KM, Cooper C, Robinson SM; SWS Study Group. Maternal vitamin D status in pregnancy is associated with adiposity in the offspring: findings from the Southampton Women's Survey. *Am J Clin Nutr* 2012;96:57–63.

Csermely G, Czeizel AE, Veszpremi B. Distribution of maternal age and birth order groups in cases with unclassified multiple congenital abnormalities according to the number of component abnormalities: a national population-based case-control study. *Birth Defects Res A Clin Mol*

Teratol 2015;103:67–75.

Cutas D, Smajdor A. Postmenopausal motherhood reloaded: advanced age and in vitro derived gametes. *Hypatia* 2015;30:386–402.

Donjacour A, Liu X, Lin W, Simbulan R, Rinaudo PF. In vitro fertilization affects growth and glucose metabolism in a sex-specific manner in an outbred mouse model. *Biol Reprod* 2014;90:80.

Dunson DB, Baird DD, Colombo B. Increased infertility with age in men and women. *Obstet Gynecol* 2004;103:51–56.

El Hajj N, Haaf T. Epigenetic disturbances in in vitro cultured gametes and embryos: implications for human assisted reproduction. *Fertil Steril* 2013;99:632–641.

Fall CH, Sachdev HS, Osmond C, Restrepo-Mendez MC, Victora C, Martorell R, Stein AD, Sinha S, Tandon N, Adair L et al. Association between maternal age at childbirth and child and adult outcomes in the offspring: a prospective study in five low-income and middle-income countries (COHORTS collaboration). *Lancet Glob Health* 2015;3:e366–e377.

Franasiak JM, Scott RT Jr. Embryonic aneuploidy: overcoming molecular genetics challenges improves outcomes and changes practice patterns. *Trends Mol Med* 2014;20:499–508.

Ge ZJ, Schatten H, Zhang CL, Sun QY. Oocyte ageing and epigenetics. *Reproduction* 2015;149:R103–R114.

Gillman MW, Rich-Edwards JW, Rifas-Shiman SL, Lieberman ES, Kleinman KP, Lipshultz SE. Maternal age and other predictors of newborn blood pressure. *J Pediatr* 2004;144:240–245.

Hardy K, Handyside AH, Winston RM. The human blastocyst: cell number, death and allocation during late preimplantation development in vitro. *Development* 1989;107:597–604.

Jackson S, Hong C, Wang ET, Alexander C, Gregory KD, Pisarska MD. Pregnancy outcomes in very advanced maternal age pregnancies: the impact of assisted reproductive technology. *Fertil Steril* 2015;103:76–80.

Jones KT, Lane SI. Molecular causes of aneuploidy in mammalian eggs. *Development* 2013;140:3719–3730.

Kenny LC, Lavender T, McNamee R, O'Neill SM, Mills T, Khashan AS. Advanced maternal age and adverse pregnancy outcome: evidence from a large contemporary cohort. *PLoS One* 2013;8:e56583.

Khalil A, Syngelaki A, Maiz N, Zinevich Y, Nicolaides

KH. Maternal age and adverse pregnancy outcome: a cohort study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013;42:634–643. Kleemann DO, Kelly JM, Rudiger SR, McMillen IC, Morrison JL, Zhang S, MacLaughlin SM, Smith DH, Grimson RJ, Jaensch KS et al. Effect of Velazquez et al. 1978 at ANKARA on August 29, 2016 <http://humrep.oxfordjournals.org/> Downloaded from periconceptional nutrition on the growth, behaviour and survival of the neonate. *Anim Reprod Sci* 2015;160:12–22. Kujjo LL, Perez GI. Ceramide and mitochondrial function in aging oocytes: juggling a new hypothesis and old players. *Reproduction* 2012;143:1–10. Kwong WY, Wild AE, Roberts P, Willis AC, Fleming TP. Maternal undernutrition during the preimplantation period of rat development causes blastocyst abnormalities and programming of postnatal hypertension. *Development* 2000;127:4195–4202. Laguna-Barraza R, Bermejo-Alvarez P, Ramos-Ibeas P, de Frutos C, Lopez-Cardona AP, Calle A, Fernandez-Gonzalez R,

Pericuesta E, Ramirez MA, Gutierrez-Adan A. Sex-specific embryonic origin of postnatal phenotypic variability. *Reprod Fertil Dev* 2012;25:38–47. Lammi N, Moltchanova E, Blomstedt P, Eriksson JG, Taskinen O, Sarti C, Tuomilehto J, Karvonen M. The effect of birth order and parental age on the risk of type 1 and 2 diabetes among young adults. *Diabetologia* 2007; 50:2433–2438. Laopaiboon M, Lumbiganon P, Intarut N, Mori R, Ganchimeg T, Vogel JP, Souza JP, Gulmezoglu AM. Advanced maternal age and pregnancy outcomes: a multicountry assessment. *BJOG* 2014;121(Suppl 1):49–56. Lawlor DA, Najman JM, Sterne J, Williams GM, Ebrahim S, Davey Smith G. Associations of parental, birth, and early life characteristics with systolic blood pressure at 5 years of age: findings from the Mater-University study of pregnancy and its outcomes. *Circulation* 2004;110:2417–2423. Lee BK, McGrath JJ. Advancing parental age and autism: multifactorial pathways. *Trends Mol Med* 2015;21:118–125. Lerch S, Brandwein C, Dormann C, Gaspar S, Chourbaji S. Mice age: does the age

of the mother predict offspring behaviour? *Physiol Behav* 2015; 147:157–162. Lopes FL, Fortier AL, Darricarrere N, Chan D, Arnold DR, Trasler JM. Reproductive and epigenetic outcomes associated with aging mouse oocytes. *Hum Mol Genet* 2009;18:2032–2044. Lo ´pez-Cardona AP, Ferna ´ndez-Gonza ´lez R, Pe ´rez-Crespo M, Ale ´n F, de Fonseca FR, Orio L, Gutierrez-Adan A. Effects of synchronous and asynchronous embryo transfer on postnatal development, adult Health, and behavior in Mice. *Biol Reprod* 2015;93:85. Lucas E. Epigenetic effects on the embryo as a result of periconceptional environment and assisted reproduction technology. *Reprod Biomed Online* 2013;27:477–485. Master JS, Thouas GA, Harvey AJ, Sheedy JR, Hannan NJ, Gardner DK, Wlodek ME. Low female birth weight and advanced maternal age programme alterations in next-generation blastocyst development. *Reproduction* 2015;149:497–510. Matthews JN, Altman DG, Campbell MJ, Royston P. Analysis of serial measurements in medical research. *Br Med J* 1990;300:230–235. Munne ´

S. Chromosome abnormalities and their relationship to morphology and development of human embryos. *Reprod Biomed Online* 2006; 12:234–253. Myrskylä M, Felton A. Maternal age and offspring adult health: evidence from the health and retirement study. *Demography* 2012;49:1231–1257. Myrskylä M, Elo IT, Kohler IV, Martikainen P. The association between advanced maternal and paternal ages and increased adult mortality is explained by early parental loss. *Soc Sci Med* 2014;119:215–223. Nasr-Esfahani M, Johnson MH, Aitken RJ. The effect of iron and iron chelators on the in-vitro block to development of the mouse preimplantation embryo: BAT6 a new medium for improved culture of mouse embryos in vitro. *Hum Reprod* 1990;5:997–1003. Nehra D, Le HD, Fallon EM, Carlson SJ, Woods D, White YA, Pan AH, Guo L, Rodig SJ, Tilly JL et al. Prolonging the female reproductive lifespan and improving egg quality with dietary omega-3 fatty acids. *Aging Cell* 2012;11:1046–1054. Nelson SM, Telfer EE, Anderson RA. The ageing ovary and uterus: new

biological insights. *Hum Reprod Update* 2013;19:67–83.

Rattanatr L, MacLaughlin SM, Klee mann DO, Walker SK, Muhlhausler BS, McMillen IC. Impact of maternal periconceptional overnutrition on fat mass and expression of adipogenic and lipogenic genes in visceral and subcutaneous fat depots in the postnatal lamb.

Endocrinology 2010; 151:5195–5205. Rexhaj E, Paoloni-

Giacobino A, Rimoldi SF, Fuster DG, Andereg M, Somme E, Bouillet E, Allemann Y, Sartori C, Scherrer U.

Mice generated by in vitro fertilization exhibit vascular dysfunction and shortened life span. *J Clin Invest* 2013;123:5052–5060. Sauer MV. Reproduction at an advanced maternal age and maternal health. *Fertil Steril* 2015;103:1136–1143.

Savage T, Derraik JG, Miles HL, Mouat F, Hofman PL, Cutfield WS. Increasing maternal age is associated with taller stature and reduced abdominal fat in their children. *PLoS One* 2013;8:e58869.

Schulkey CE, Regmi SD, Magnan RA, Danzo MT, Luther H, Hutchinson AK, Panzer AA, Grady MM, Wilson DB, Jay PY. The maternal-age-associated

risk of congenital heart disease is modifiable. *Nature* 2015;520:230–233. Sinclair KD, Allegrucci C, Singh R, Gardner DS, Sebastian S, Bispham J, Thurston A, Huntley JF, Rees WD, Maloney CA et al. DNA methylation, insulin resistance, and blood pressure in offspring determined by maternal periconceptional B vitamin and methionine status. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:19351–19356. Smits LJ, Zielhuis GA, Jongbloet PH, Van Poppel FW. Mother's age and daughter's fecundity. An epidemiological analysis of late 19th to early 20th century family reconstitutions. *Int J Epidemiol* 2002;31:349–358. Summers MC, McGinnis LK, Lawitts J A, Raffin M, Biggers JD. IVF of mouse ova in a simplex optimized medium supplemented with amino acids. *Hum Reprod* 2000;15:1791–1801. Sutcliffe AG, Barnes J, Belsky J, Gardiner J, Melhuish E. The health and development of children born to older mothers in the United Kingdom: observational study using longitudinal cohort data. *Br Med J* 2012; 345:e5116. Tarin JJ, Vidal E, Perez-Hoyos S, Cano A, Balasch J. Delayed motherhood increases the probability of sons to be infertile. *J*

Assist Reprod Genet 2001;18:650–654. Tarin JJ, Gomez-Piquer V, Manzanedo C, Minarro J, Hermenegildo C, Cano A. Long-term effects of delayed motherhood in mice on postnatal development and behavioural traits of offspring. Hum Reprod 2003; 18:1580–1587. Tarin JJ, Gomez-Piquer V, Rausell F, Navarro S, Hermenegildo C, Cano A. Delayed motherhood decreases life expectancy of mouse offspring. Biol Reprod 2005;72:1336–1343. Tearne JE. Older maternal age and child behavioral and cognitive outcomes: a review of the literature. Fertil Steril 2015;103:1381–1391. Verroken C, Kaufman J-M, Goemaere S, Toye K, Lapauw B. Maternal age at childbirth is associated with glucose metabolism in adult men. Endocr Rev 2015;36:FRI-616-FRI-616. Wakefield SL, Lane M, Mitchell M. Impaired mitochondrial function in the preimplantation embryo perturbs fetal and placental development in the mouse. Biol Reprod 2011;84:572–580. Watkins AJ, Platt D, Papenbrock T, Wilkins A, Eckert JJ, Kwong WY, Osmond C, Hanson M, Fleming TP. Mouse embryo culture induces

changes in postnatal phenotype including raised systolic blood pressure. Proc Natl Acad Sci USA 2007;104:5449–5454. Watkins AJ, Ursell E, Panton R, Papenbrock T, Hollis L, Cunningham C, Wilkins A, Perry VH, Sheth B, Kwong WY et al. Adaptive responses by mouse early embryos to maternal diet protect fetal growth but predispose to adult onset disease. Biol Reprod 2008;78:299–306. Weidemann A, Lovas A, Rauch A, Andreas N, von Maltzahn J, Riemann M, Weih F. Classical and alternative NF- κ B signaling cooperate in regulating adipocyte differentiation and function. Int J Obes (Lond) 2016;40: 452–459. Advance maternal age and offspring post-natal life 1979 at ANKARA on August 29, 2016 <http://humrep.oxfordjournals.org/> Downloaded from Whincup PH, Cook DG, Shaper AG. Early influences on blood pressure: a study of children aged 5–7 years. Br Med J 1989;299:587–591. Wilding M, Coppola G, De Icco F, Arenare L, Di Matteo L, Dale B. Maternal non-Mendelian inheritance of a reduced lifespan? A hypothesis. J

Assist Reprod Genet 2014;31:637–643. Williams CL, Teeling JL, Perry VH, Fleming TP. Mouse maternal systemic inflammation at the zygote stage causes blunted cytokine responsiveness in lipopolysaccharide-challenged adult offspring. BMC Biol 2011;9:49.

Wu LL, Dunning KR, Yang X, Russell DL, Lane M, Norman RJ, Robker RL. High-fat diet causes lipotoxicity responses in cumulus-oocyte complexes and decreased fertilization rates. Endocrinology 2010;151: 5438–5445. Yue MX, Fu XW, Zhou GB, Hou YP, Du M, Wang L, Zhu SE. Abnormal DNA methylation in oocytes could be associated with a decrease in reproductive potential in old mice. J Assist Reprod Genet 2012;29: 643–650. Yun Y, Holt JE, Lane SI, McLaughlin EA, Merriman JA, Jones KT. Reduced ability to recover from spindle disruption and loss of kinetochore spindle assembly checkpoint proteins in oocytes from aged mice. Cell Cycle 2014;13:1938–1947.

Velazquez et al. 1980

at ANKARA on August 29,
2016 <http://humrep.oxfordjournals.org/Download>