



Ovaryum kriyoprezervasyonu ve ototransplantasyonu sonrasında ortaya çıkan primordiyal folikül kaybında folikül havuzunu koruyan baskılayıcı molekül kaybının rolü olabilir mi?

Soner Çelik¹, Ferda Topal-Çelikkan², Sinan Özkavukcu³,
Alp Can², Çiler Çelik-Özenci¹

¹Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Akdeniz Üniversitesi

²Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Ankara Üniversitesi

³ÜYTE Merkezi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Ankara Üniversitesi

Giriş

Ovaryum kriyoprezervasyonu:

- *Kanser tedavisini (kemoterapi) geciktirmemesi gereken kadınlarda,
- *Prepubertal kızlarda fertilitate korunmasında temel bir yaklaşımdır.
- *Ovaryum doku parçalarının dondurulup-saklanarak daha sonra kişiye geri transplante edilmesi prensibine dayanır.

Bu yöntemle dünyada **60 canlı doğum** gerçekleşmiştir.

(Donnez J. and Dolmans MM., J Assist Reprod Genet, 2015)

Ovaryum Kriyoprezervasyonu sonrasında karşılaşılan problemler:

**Folikülogenez bozuklukları

(granüloza hücreleri ile oosit arasındaki uyumsuzluk)

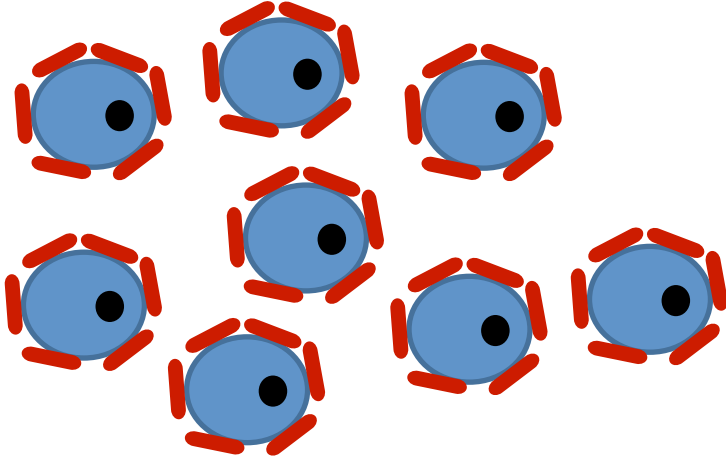
**Ovaryan rezervin azalması

(primordiyal foliküllerin aşırı aktivasyonu ve “tükenmesi”)

**graftın anjiyogenez sürecindeki geciken revaskülarizasyonu (iskemi)

Dondurulup çözölen ovaryumların ototransplantasyonu sonrasında ortaya çıkan **“global folikül aktivasyonu veya kaybı”**nın mekanizması aydınlatılmamıştır.

Ovaryan transplantasyondan sonra...



Dokudaki iskemiden dolayı primordiyal foliküllerin %50'sinden fazlası tükenir.

(Van Eyck, A. S. et al., Fertil Steril, 2010)

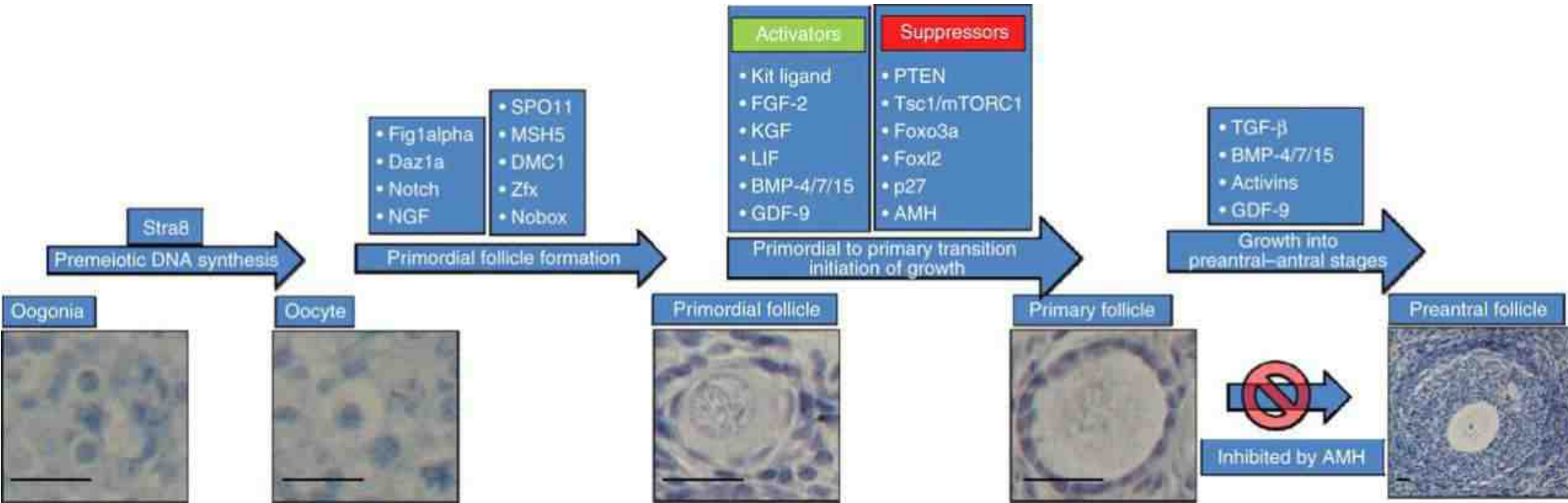
Geciken anjiyogenez sadece folikül kaybına sebep olmaz, granüloza hücreleri ile oosit arasındaki iletişimin bozulmasına da sebep olur.

(Nottola, S. A. et al., Fertil. Steril, 2008)

Bu nedenle;

Dondurulup-çözülen ve transplante edilen ovaryumlarda doku özelliklerinin geri kazanım mekanizmalarını anlamak önemlidir.

Normal folikülogenez sürecinde rol alan 'uyarıcı ve baskılayıcı sinyaller' birbirinden bağımsız ancak dengeli biçimde çalışır.



pTEN, Tsc1, p27 ve AMH primordiyal folikül aktivasyonunu engelleyerek, primordiyal folikül rezervinin korunmasında önemli baskılayıcı rollere sahiptir.

pTEN, Tsc1 ve p27 gen ifadelerinin kaldırıldığı kemirgen modellerinde prematür ovaryan yetmezlik ortaya çıkmaktadır.

Crino, P.B., et al. N Engl J Med, (2006)
Saal, L.H., et al., Proc Natl Acad Sci USA, (2007)
Drolle, H., et al., Leuk Res, (2015)

Global folikül aktivasyonu ve kaybının nedeni primordiyal folikül gelişimini kontrol eden iç mekanizmaların bozulması olabilir mi?

Amaç

Sıçanlarda ovaryum kriyoprezervasyonu ve ototransplantasyonu sonrasında **pTEN, Tsc1, p27 ve AMH** proteinlerinin varlığını ve yerleşimini immünohistokimyasal olarak değerlendirmektir.

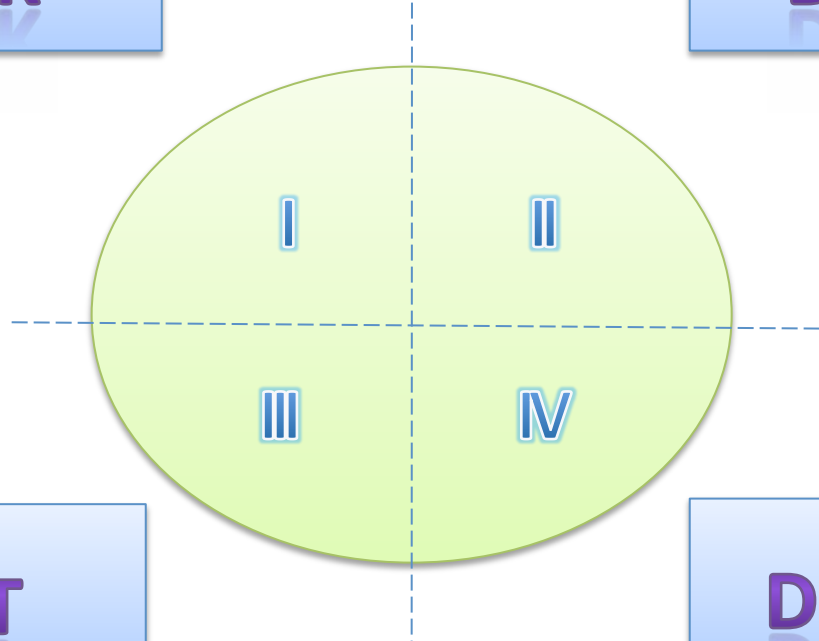
Gereç ve yöntem

Siklusa bağlı değişiklikleri ekarte etmek ve ototransplantasyon modelini oluşturmak için aynı sıçana ait olan ovaryumlar 4 parçaya bölünerek 4 farklı grup oluşturulmuştur (n=28)

Transplante edilmeyen grup (Kontrol)



Dondurulup çözülen grup



Sırt kasına transplante edilen grup



Dondurulup çözüldükten sonra sırt kasına transplante edilen grup

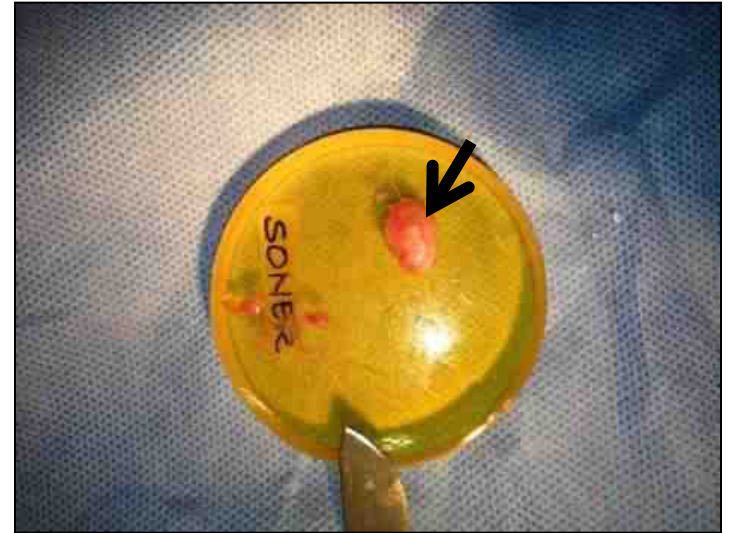


Gereç ve yöntem

Kriyoprotektan: 1.5 M DMSO ve 0.1 M sükroz içeren L-15 medyumu

Dondurma Protokolü: Yavaş Dondurma

Transplantasyondan **14 gün** sonra, graftlar fare sırt kasından çıkarıldı ve parafin kesit için doku takibi yapıldı.

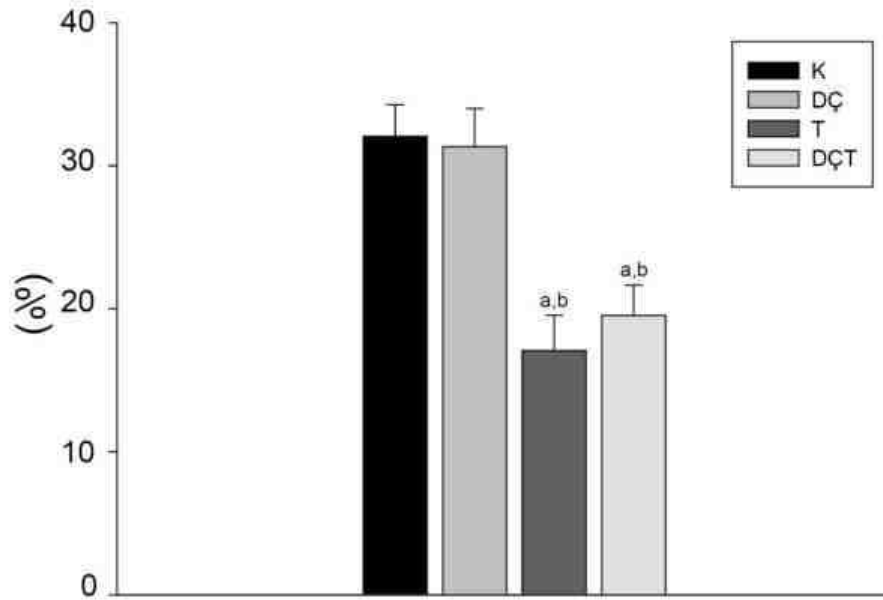


pTEN, Tsc1, p27 ve AMH immünohistokimyal ifadesi tüm gruplarda değerlendirildi. İmmünohistokimya bulguları H-Score analizleri ile değerlendirilerek karşılaştırmalı istatistiksel analizler gerçekleştirildi.

Primordiyal Folikül Oranları

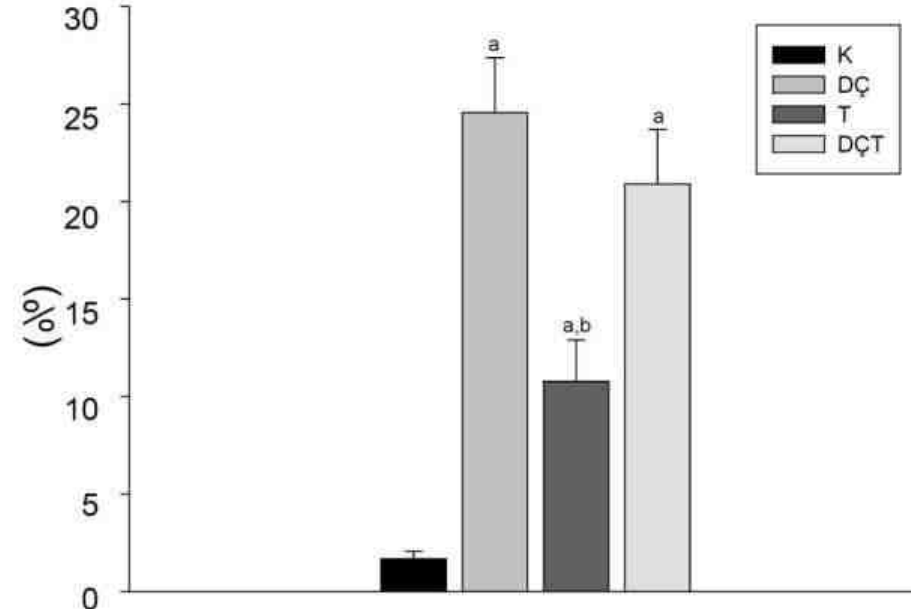
TOPLAM

A.



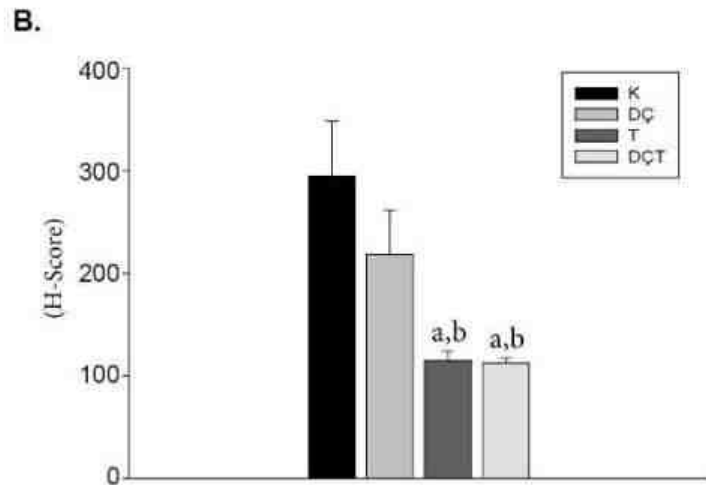
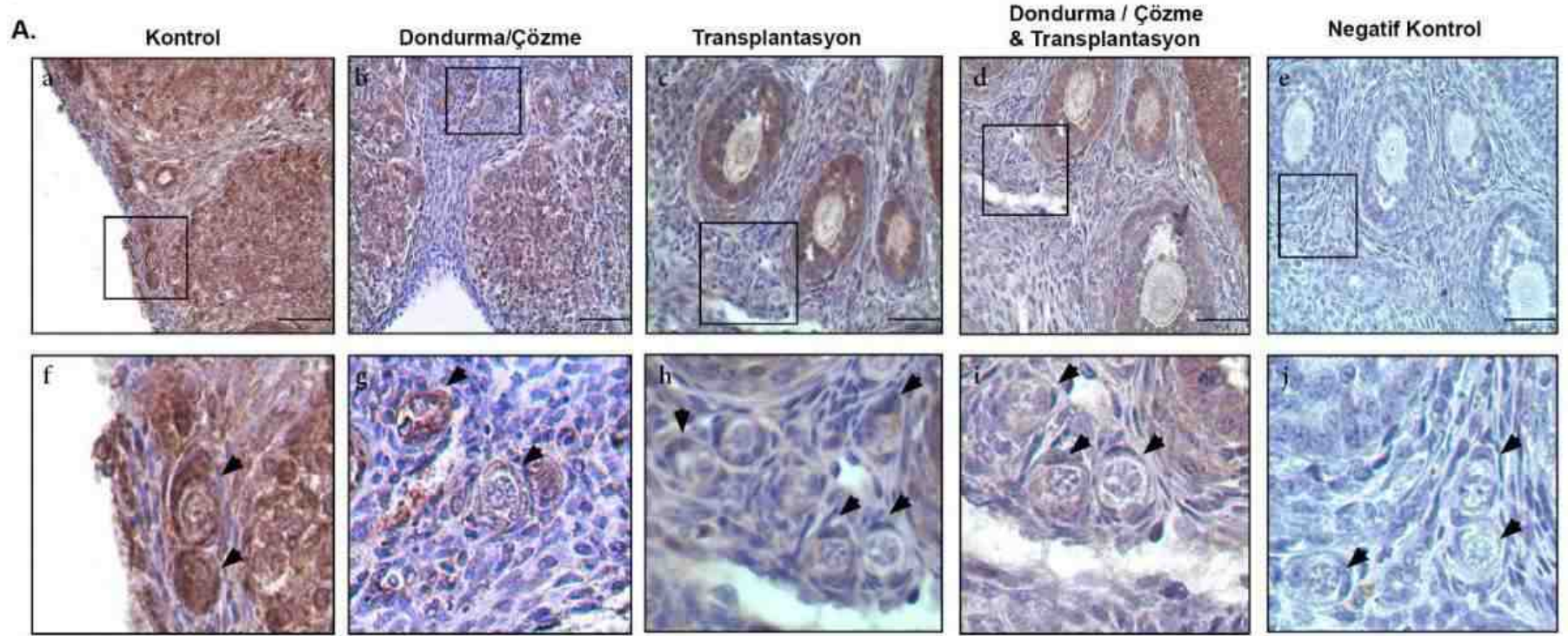
ATRETİK

B.



K: Kontrol grubu, **DÇ:** Dondurup-çözülen grup,
T: Transplante edilen grup, **DÇT:** Dondurup-çözülen ve transplante edilen grup,
a: K grubuna göre anlamlı olarak farklı ($p < 0,05$)
b: DÇ grubuna göre anlamlı olarak farklı ($p < 0,05$)

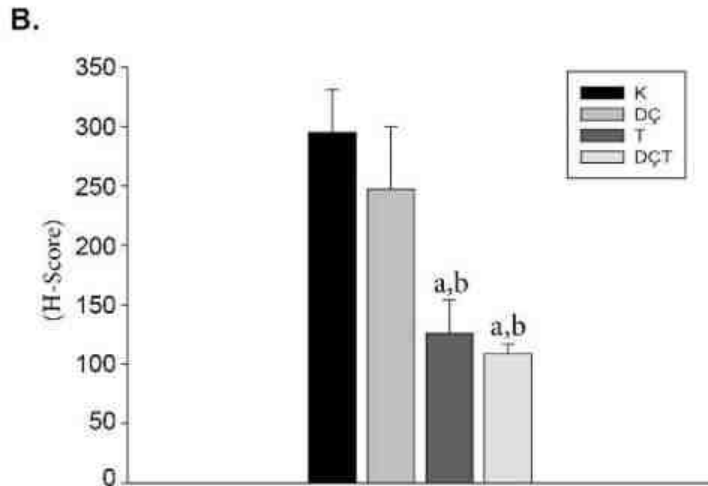
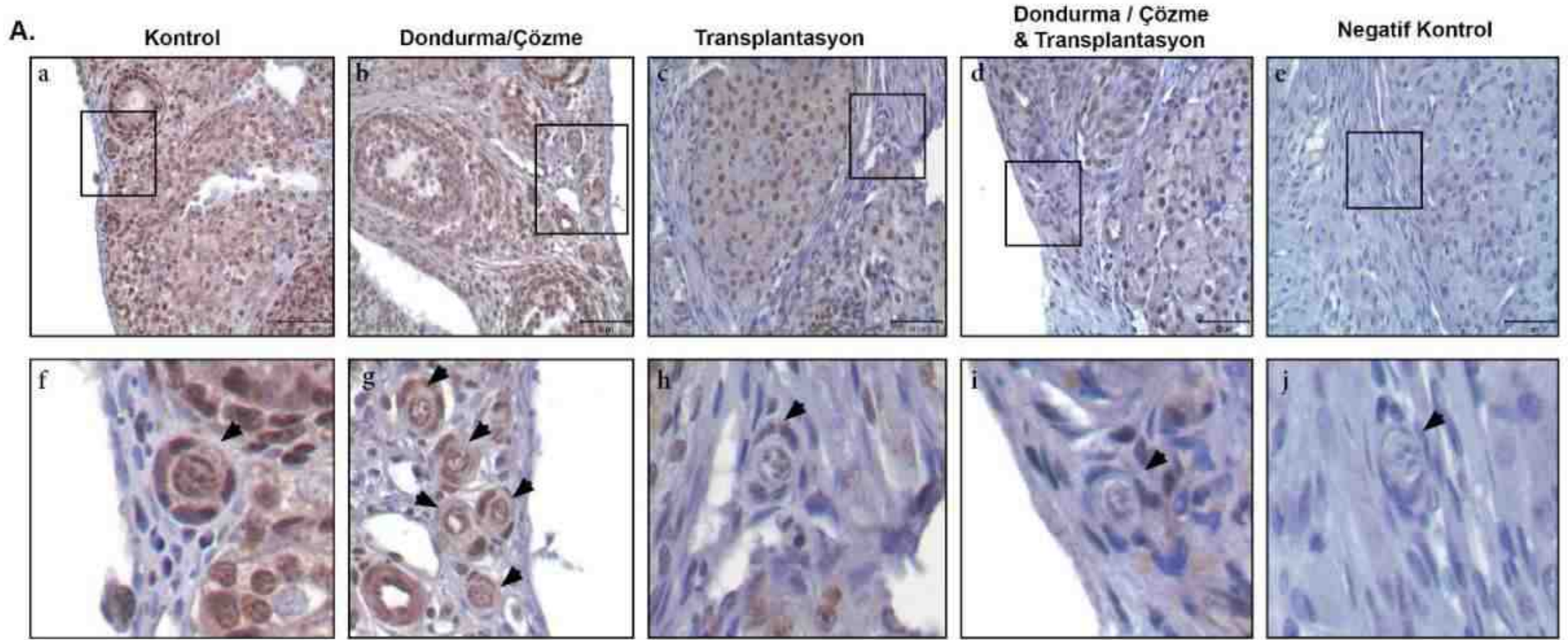
pTEN (Phosphatase and tensin homolog)



C.

	Oosit		Folikül Hücresi	
	Nükleus	Sitoplazma	Nükleus	Sitoplazma
Kontrol	+	++	++	+++
Dondurma/Çözme	-	+	+	++
Transplantasyon	-	-	-	+
Dondurma/Çözme & Transplantasyon	-	-	-	+

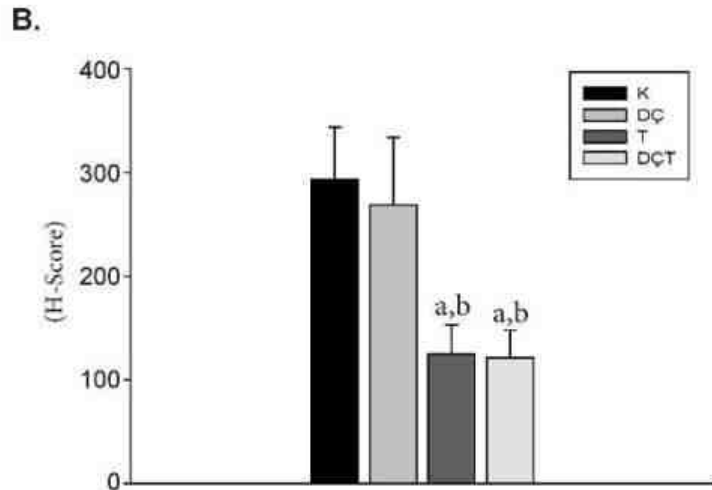
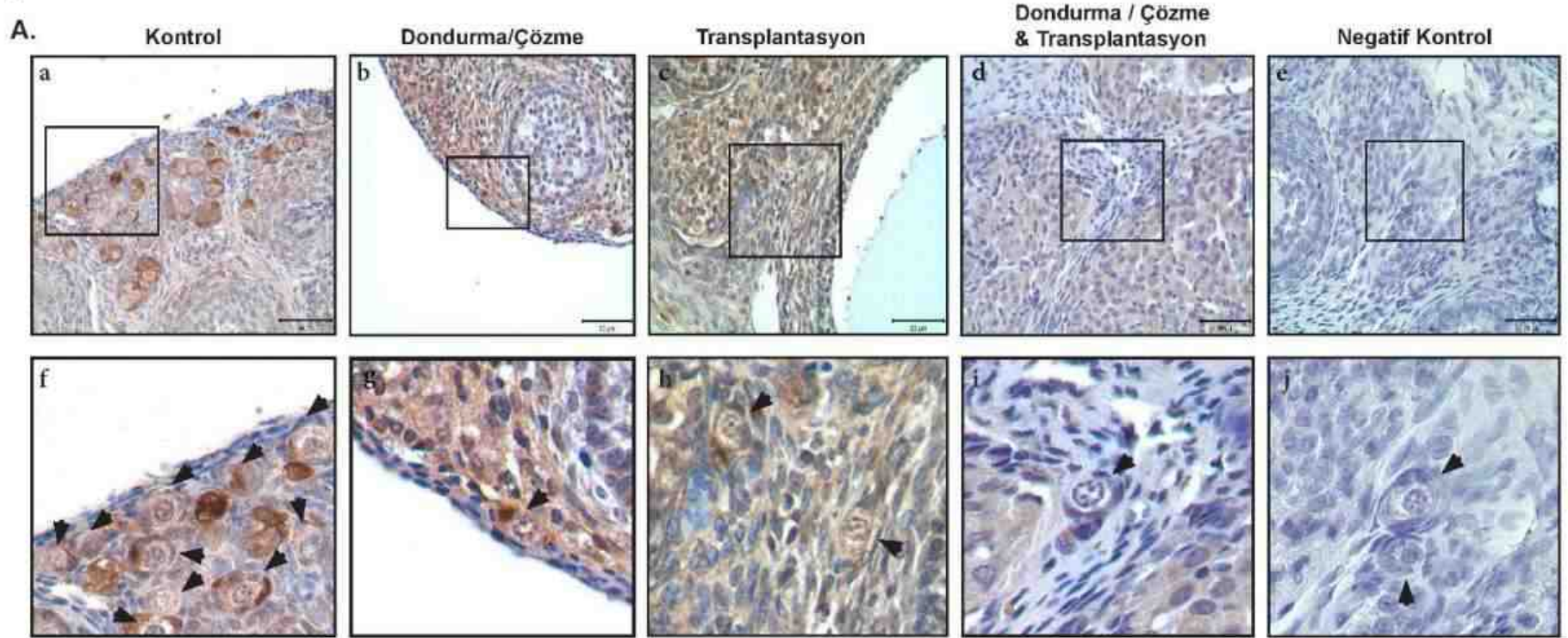
Tsc1 (tuberous sclerosis complex1)



C.

	Oosit		Folikül Hücresi	
	Nükleus	Sitoplazma	Nükleus	Sitoplazma
Kontrol	+++	++	+++	++
Dondurma/Çözme	++	++	++	++
Transplantasyon	-	-	-	+
Dondurma/Çözme & Transplantasyon	-	-	-	-

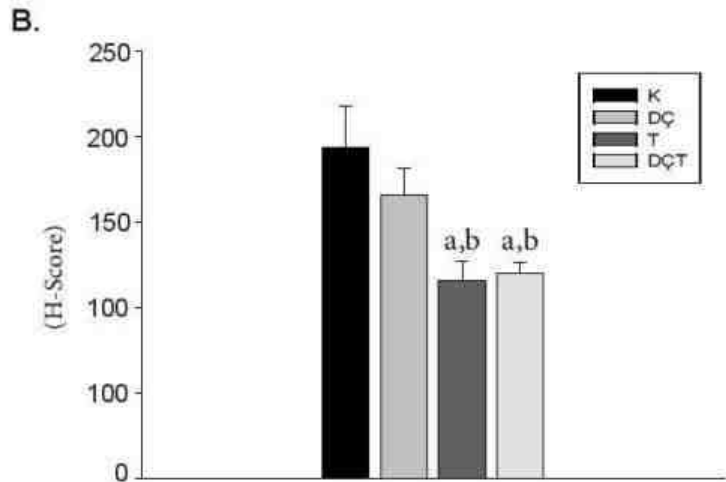
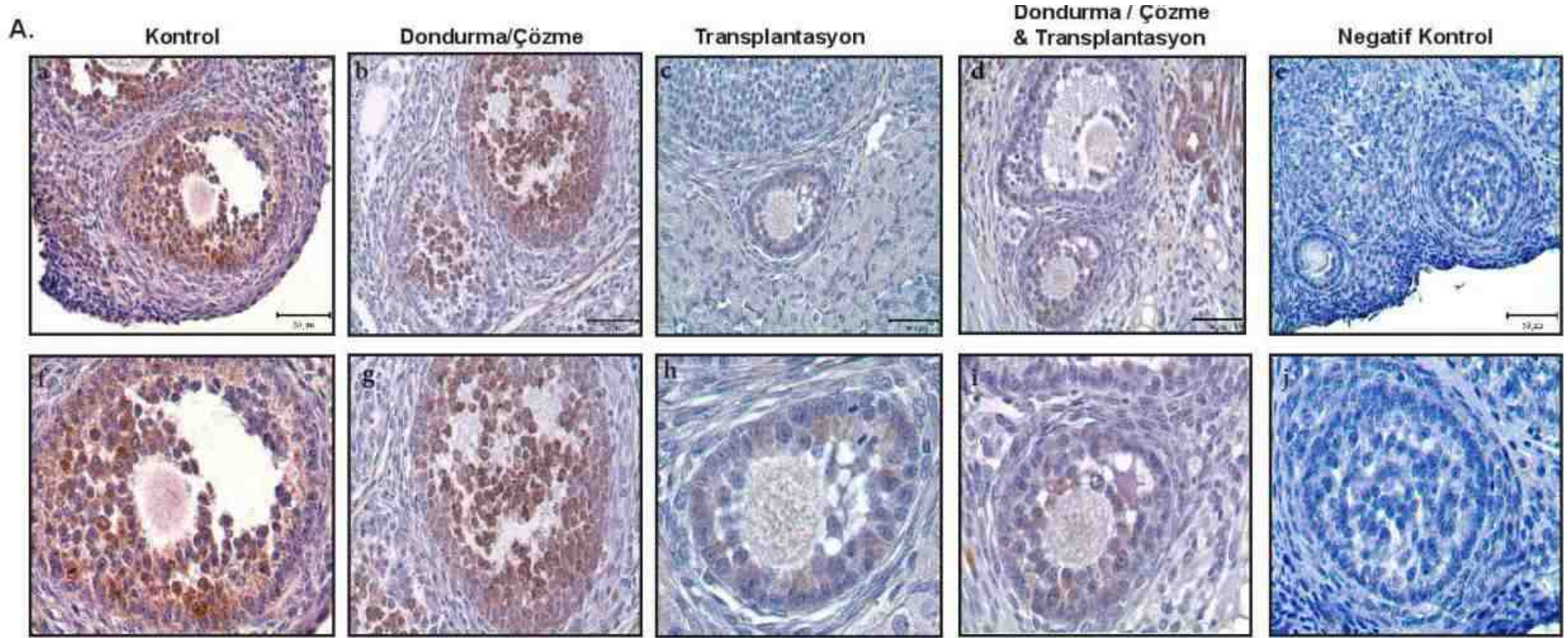
P27 (Cyclin-dependent kinase inhibitor 1B)



C.

	OOSİT		FOLİKÜL HÜCRESİ	
	Nükleus	Sitoplazma	Nükleus	Sitoplazma
Kontrol	+	++	+	+++
Dondurma/Çözme	+	+	+	++
Transplantasyon	-	-	-	+
Dondurma/Çözme &Transplantasyon	-	-	-	+

AMH (Anti-Mullerian Hormon)



C.

	Folikül Hücresi	
	Nükleus	Sitoplazma
Kontrol	+	++
Dondurma/Çözme	+	++
Transplantasyon	-	+
Dondurma/Çözme &Transplantasyon	-	-

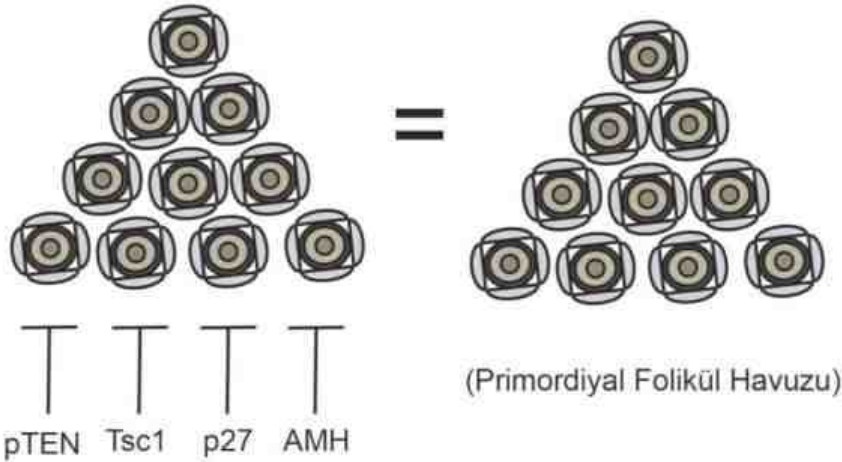
Sonuç

1- Ovaryum dokusunun **dondurulup-çözülmesi**

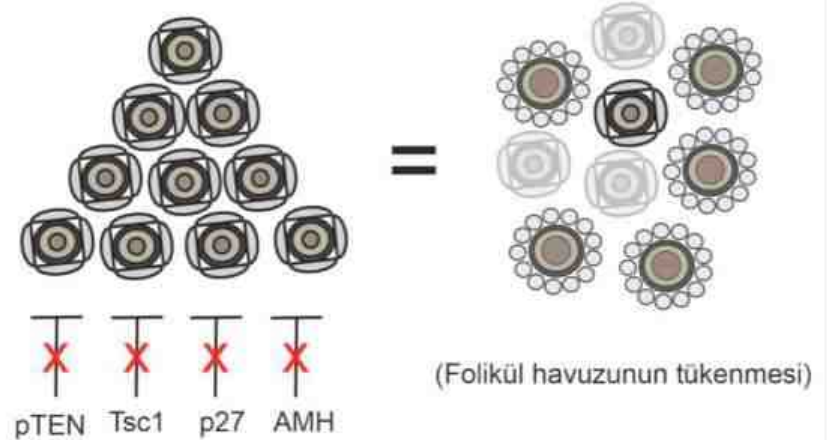
pTEN, Tsc1, p27 ve AMH ekspresyonunu deęiřtirmez.

2- Taze ve dondurulup-çözöldükten sonra **transplante edilen** ovaryumda, foliköl rezervini koruyan bu baskılayıcı moleküllerinin ekspresyonunu azalmaktadır.

Normal Şartlarda Primordiyal Foliköl Havuzu



Ovaryum Kriyoprezervasyonu ve Transplantasyonu Sonrasında Primordiyal Foliköl Havuzu





Teşekkürler...

Çalışmamız 2013.02.0122.03 numaralı projeye Akdeniz Üniversitesi BAP tarafından desteklenmiştir.