



Yapay oosit aktivasyonu *in vitro* insan embriyo gelişimini bozabilir

Enver kerem dirican, Batu Aydınuraz, şafak Olgan, özlem Aksünger, Leman Raşa Erel, onur kadir Ertürk



Düşük – hiç fertilizasyon - ICSI

Oosit kaynaklı

Sperm kaynaklı

Açıklanamayan

Doğal nedenler

Kötü praktis – hasta

Kötü praktis – ekip/ekipman



o Fertilizasyon başarısızlığı?

o >2 semen analizi

- o Morfoloji değerlendirme eğitimi
- o Motilite – Vitalite

o Fertilizasyon oranları

- o 9 turadan sonra yazı gelme şansı hala %50dir

o Oosit – matürasyon sayıları

- o Sayı azaldıkça şans azalır

o Enfeksiyonlar

- o Lökositospermi - ROS

o Oosit aktivasyon yetersizliği nedir?





Assiste fertilizasyon - ICSI

İnvazif

Agressif sperm immobilizasyonu

Lazer sperm immobilizasyonu

Sperm motilite artışı

- Kimyasal - pentoksifilin

Yapay oosit aktivasyonu

- Mekanik aktivasyon
- Elektrik aktivasyon
- Kimyasal aktivasyon

Non-invazif

Spindle görüntüleme

Sperm motilite artışı

- Kültürde hiperaktivasyon - kapasitasyon

Sperm seleksiyonu

- Konvansiyonel preparasyon
- Hipo-ozmotik seçim
- Hyaluronik asit affinitesi
- Non-apoptotik seçim
- Morfolojik seçim
 - Standart
 - Yüksek büyütme



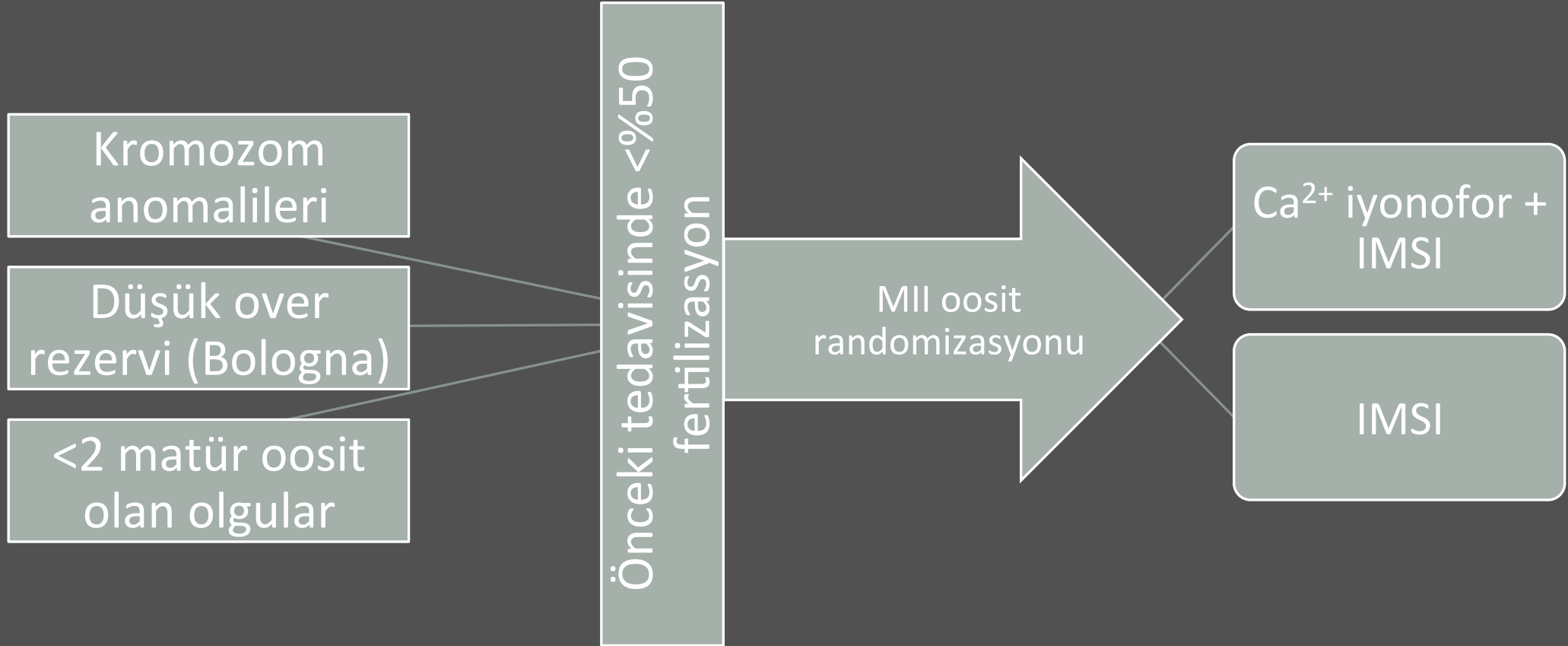
Kalsiyum iyonofor

- A23187 – bir antibiyotik
- Divalan katyonlara bağlanma özelliğindedir (Ca^{2+} , Mg^{2+})
 - Tüm biyolojik membranlardan divalan katyonların serbest geçişine izin verir
- Kalsiyum-kalmodulin ikinci haberci sistemini aktive ederek gen ekspresyonunu başlatır
- Anomalili spermelerde hep iyi sonuç verdi
- Normal morfoloji varsa?

İntra sitoplazmik morfolojik seçilmiş sperm enjeksiyonu

- 6000 x büyütme
- Hoffmann optik
- Baş morfolojisi
 - Çekirdek şekli
 - Oval konfigürasyon
 - Uzunluk ve genişlik
 - Vakuoller

Çalışma dizaynı

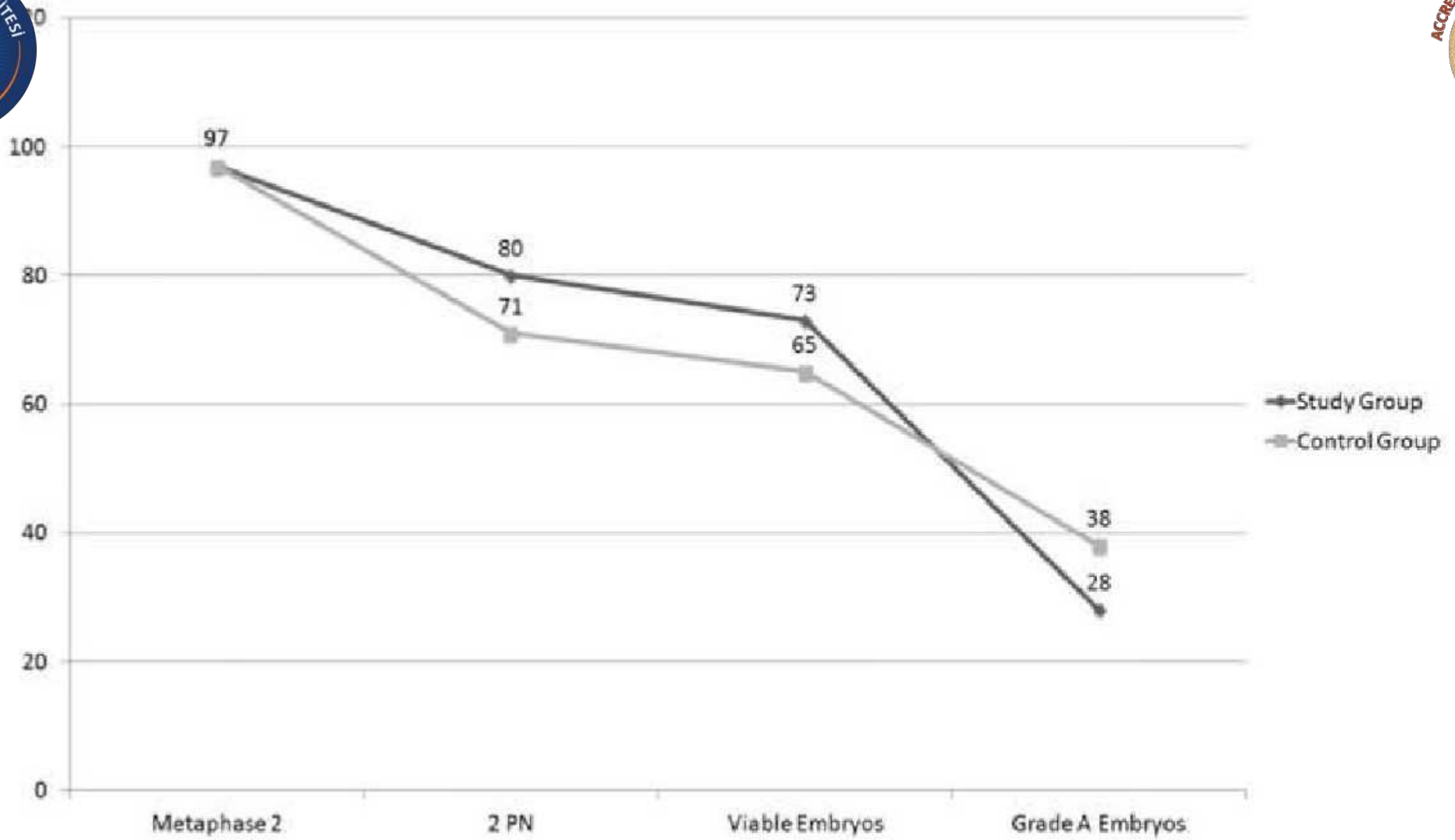


	AOA group	Control group	<i>P</i> value
Total number of MII oocytes	97	97	
MIII oocytes per patient	4.6±2.4	4.6±2.3	0.929
Total number of fertilized oocytes (n,%)	80/97 (82.5)	71/97 (73.2)	0.125
Fertilized oocytes per patient	3.8±2.5	3.4±1.8	0.817
Total number of cleaved embryos (n,%)	73/80 (91.3)	65/71 (91.5)	0.999
Embryos per patient	3.5±2.4	3.1±1.6	0.938
Total number of top quality embryos (n,%)	28/80 (35.0)	38/71 (53.5)	0.024
Top quality embryos per patient	1.3±1.5	1.8±1.2	0.112
Number of cases with ≥1 top quality embryo (n,%)	13/21 (61.9)	20/21 (95.2)	0.006
Number of transferred embryos			
	in DET	6	0.170
	SET	10	
Pregnancy outcome ^a			
Implantation	2 (33.3)	4 (40.0)	0.608
Biochemical pregnancy	0 (0.0)	0 (0.0)	-
Clinical pregnancy	2 (33.3)	4 (40.0)	0.608
Spontaneous abortion	0 (0.0)	1 (10.0)	0.625
Ongoing pregnancy ^b	2 (33.3)	3 (30.0)	0.654

IMSI, intracytoplasmic morphologically selected sperm injection; AOA, artificial oocyte activation; MII, metaphase 2; SET, single embryo transfer; DET, double embryo transfer. Mann-Whitney U test or Pearson Chi-Square test was used for the analysis. Data are mean±SD or n (%) unless otherwise specified. Boldface data indicates statistical significance (p<0.05).

^a Data for pregnancy outcomes are expressed per embryo transfer and only for SET.

^b Defined as progression beyond 12 weeks of gestation.





Kaygılar

Santella ve Dale, 2015, Rbmo

- Fizyolojik olmayan bir mekanizma ile intraselüler kalsiyum depolarından (ER) sitoplazma içine kalsiyum salınmasına neden olabilir
- **Literatürde gösterilen başarı artışını yeni tedavideki iyonofor kullanımına bağlamak yerine gametlerin seçimindeki ilerlemelere bağlamak gerekir**
- Epigenetik etkileri belli değildir
- Defektif gametlerin döllenme üzerine etkilerinin ortadan kaldırılması yerine gametogenezin iyileştirilmesi yoluna gidilmeli

Van Blerkom ve Cohen, 2015, Rbmo

- Doğal ve yapay oosit aktivasyonlarında kalsiyum osilasyonları farklı
 - Organogenezde problemlere yol açabileceği bildiriliyor
- Gösterilen başarılı sonuçlar ve güvenliliği, bu tekniğin (tıpkı ICSI'de olduğu gibi) yaygın bir kullanım alanı bulabileceğine ilişkin riskleri göstermekten uzak
- Çeşitli kalite testlerinden geçerek kullanıma sunulan ticari form bir ilerleme olarak kabul edilebilir ancak yeterli değildir



Sonuçlar

Sperm morfolojisi çok önemli

- ICSI fertilizasyon problemlerinin temelinde ekseriya sperm morfolojisi yatıyor gibi görünüyor – klasik IVF döneminde de olduğu gibi...
- Komplet globozoospermia, fibröz kın displazisi gibi ender patolojiler dışında ve cerrahi sperm alma yolları hariç, hemen tüm olgularda normal veya hafif sorunlu sperm hücreleri tespit edilebilir (IMSI)
- Assiste fertilizasyonda normal morfolojili spermlerin kullanımı, daha ileri oosit aktivasyon metodlarının kullanımını gereksiz kılmıştır
- Bilinen (globozoospermia ve PLC zeta yetersizliği) fertilizasyon defektleri hariç kesinlikle kullanılmamalıdır
- IVF uygulamalarında hasta ekibin ortağı olmalıdır. İyi açıklanan riskleri hastaların çoğu anlamaktadır. Mutlak fertilizasyon baskısı bu yolla aşılabılır