



DÖLLENME VE DÖLLENME ANOMALİLERİNİN YARDIMLA ÜREME TEKNİKLERİNDEKİ ÖNEMİ

Dr. F. Gürcan BEBİTOĞLU* gurcanbebitoglu@yahoo.com

ÖZET

Yardımla Üreme Teknikleri (Tüp bebek) uygulamalarında in vitro fertilizasyon (IVF) sonrası 19-20. saatlerde embriyo mutlaka değerlendirilmelidir. Çünkü 2 pronükleus dışındaki oluşumlarda düşük, ölü veya anomalili bebek doğumları söz konusu olacaktır.

Anahtar kelimeler: IVF, döllenme, pronükleus, triploidi

ABSTRACT

The embryo must be absolutely evaluated at 19-20th hours after in vitro fertilization by the applications of Assisted Reproductive Technics. Because miscarriages, stillbirths or births with anomalies will be materialize on the formations except two pronuclei.

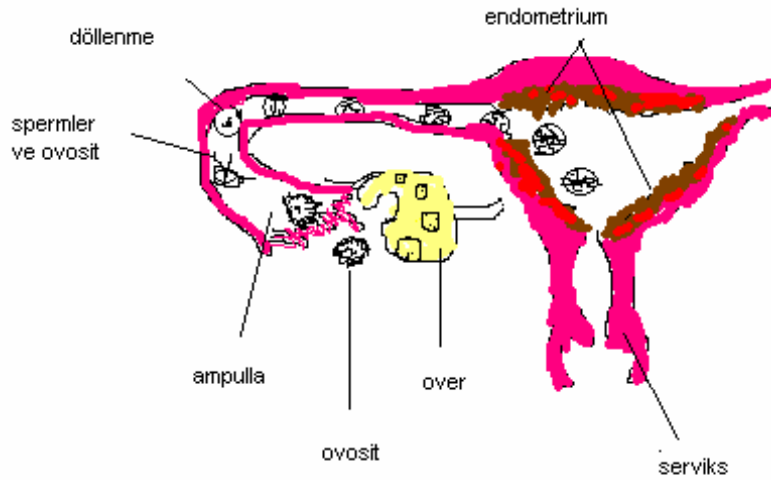
Key words: IVF, fertilization, pronucleus, triploidy

GENEL BİLGİLER

Döllenme koitus (cinsel birleşme) sonrası oosit ve spermatozoonun kaynaşması olayıdır. Tuba uterinanın en uzun parçası ampulladır ve döllenme çoğunlukla burada oluşur. Ovulasyondan hemen önce tuba uterina düz kas hücrelerinin ritmik kasılmaları ve fimbriyumların epitel hücrelerinin siliyer süpürme hareketleriyle sekonder oosit yakalanır ve tuba uterina içine çekilerek, uterusu doğru 2-4 günlük hareketi başlar.

* Aile Hekimliği Uzmanı, IVF Embriyologu, Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü

Dr.F.Gürcan BEBİTOĞLU: *Döllenme ve döllenme anomalilerinin yardımıyla üreme tekniklerindeki önemi*

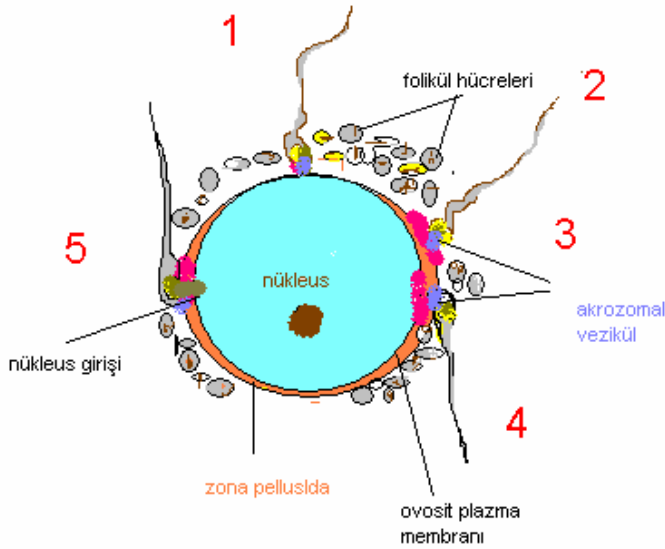


Şekil 1. Tuba uterina ve döllenme lokalizasyonu

Döllenme olmazsa 24-48 saatte canlılığını kaybeder. Koitus sonrası yaklaşık 400-600 milyon spermatozoon 1.000-10.000 kadarı birkaç saatte ampullaya ulaşır.

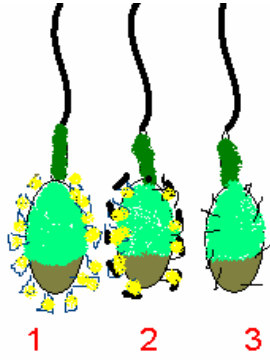
Kadın üreme kanalları içinde yaklaşık 7 saat süren kapasitasyonu sırasında β 1,4-glukozil transferaz ile spermatozoonun üzerindeki glikoprotein kılıf ve seminal plazma proteinleri uzaklaştırılır.

Spermatozoon erkek üreme kanallarında kapasitasyonunun bir dekapasitasyon faktörü ile önlendiği ve kadın üreme kanalındaki diğer bir faktöründe dekapasitasyon faktörünü inhibe ya da bloke ettiği iddia edilmektedir.



Şekil 2. Spermatozoonun zona pellusidaya bağlanması (1)
Akrozomal reaksiyon (2) , Zonaya penetrasyon (3) , membranların füzyonu (4)

Dr.F.Gürcan BEBİTOĞLU: *Döllenme ve döllenme anomalilerinin yardımıyla üreme tekniklerindeki önemi*

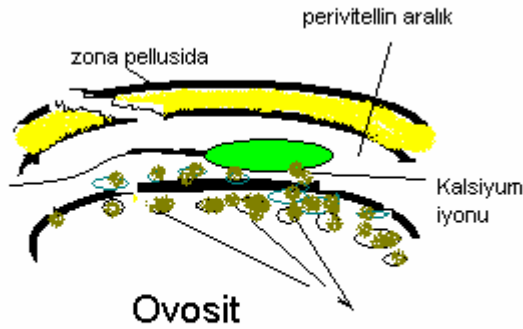


Şekil 3 Spermatozoonun epididimdeki durumu(1)
Ejakülatta seminal plazma ile reaksiyonu (2)
Kadın genitalinde kapasite olmuş hali (3)

Ampullaya ulaşan spermatozoon, kumulus ve korona radiata hücreleri arasından geçerek ZP3 (zona pellusida 3) spermatozoon reseptörleri ile zona pellusidaya bağlanır ve akrozomal reaksiyon başlar. Yaklaşık 15 dakika içinde akrozomal bölge çevresindeki plazma membranı geçirgenliği atar. Akrozomal enzimlerin (esteraz, akrozin, nöraminidaz) salınımını takiben spermatozoon zona pellusidayı geçerek perivitellin boşluğa penetre olur.

DÖLLENME SÜRECİ- zona reaksiyonu ve ovum

Kortikal granüllerin salınımıyla zona pellusida reaksiyonu sonrası zona pellusida kalınlaşır, membran depolarizasyonu ile ani blok oluşturulur ve başka spermatozoon geçişi önlenir.



Şekil 4. Polispermi bloğu

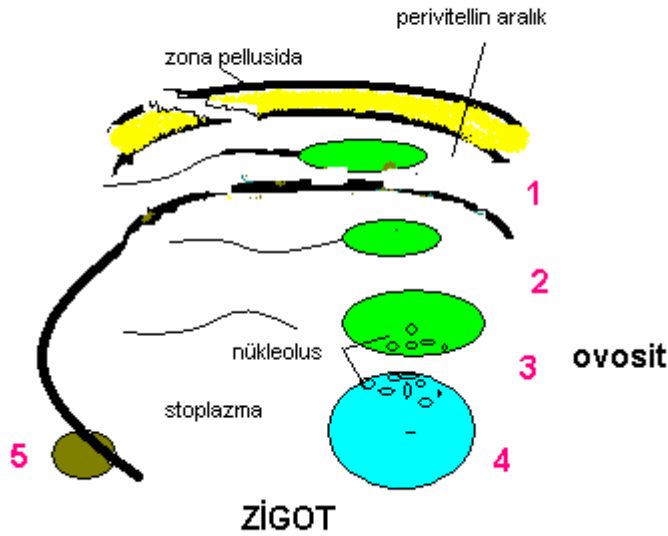
İki hücrenin plazmalemmalarının kaynaşması sonrası spermatozoonun baş ve kuyruk kısmı bütünüyle oosit sitoplazması içine akar. Bu dönemde sekonder oosit 2. mayozun metafazını tamamlayarak kromozom sayısını yarıya indirir ve 2. kutup cisimciğini perivitellin boşluğa atar.

Dr.F.Gürcan BEBİTOĞLU: *Döllenme ve döllenme anomalilerinin yardımıyla üreme tekniklerindeki önemi*

DÖLLENME SÜRECİ-PRONÜKLEUSLARIN (ÖN ÇEKİRDEK) OLUŞUMU

Spermatozoon başının kromozomal içeriği genişleme gösterir,(dekondanse olarak) ovumun kromozomal içeriği de mayozun tamamlanmasını takiben dekondanse duruma gelmiştir.

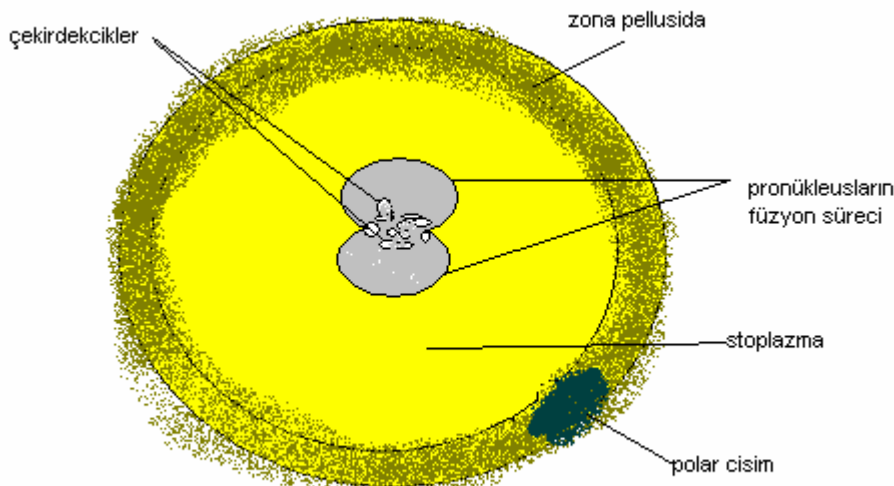
Şekil 5. perivitellin aralıkta spermatozoon(1) , dekondasyon (2) , spermatozoon pronukleusu (3) , ovosit pronukleusu (4) , polar body (5)



DÖLLENME- pronükleus kaynaşması (füzyonu)

Bu evrede erkek ve kadın pronükleusları oluştukları yerden ovoplazmanın ortasına doğru hareket ederler ve 8 şeklinde pozisyon alırlar. Erkek ve kadın pronukleusları bir araya geldiklerinde birbirine yakın bölgeleri düzleşir, aynı anda (1-9 çekirdekcik) çekirdekcikler hareketlenir ve jukstapozisyonel bölgelerde karşı karşıya dizilirler.

Pronukleus membranları ortadan kalkarak kromozomlar mitotik hücre bölünmesi için bir araya gelir. Zigotun mitoz mekiğinin oluşmasında spermatozoonun proksimal sentriyolu faaliyet gösterir. Singami sonrası ilk düşey yarıklanma ile embriyo gelişimi başlar.



Şekil 6:Pronukleusların kaynaşması (füzyonu)

Dr.F.Gürcan BEBİTOĞLU: *Döllenme ve döllenme anomalilerinin yardımla üreme tekniklerindeki önemi*

DÖLLENME ANOMALİLERİNİN YARDIMLA ÜREME TEKNİKLERİNDEKİ ÖNEMİ

GENEL BİLGİLER

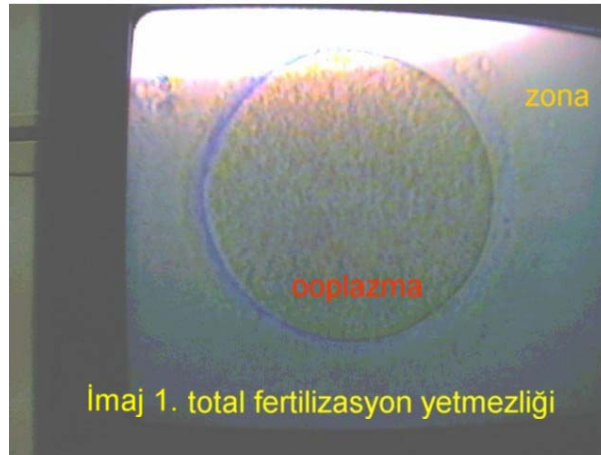
IVF (In vitro fertilizasyon) uygulamaları son 20 yılda gittikçe artmaktadır. ICSI (intrastoplazmik spermatozoon enjeksiyonu) ise 1992 yılından beri yapılmaktadır. Klasik IVF'te oosit başına 50.000-100.000/ml'de normal spermatozoonla döllenme işlemi yapılırken, ICSI işlemiyle tek bir spermatozoon, oosit sitoplazması içine bırakılmaktadır. Döllenmenin düzgün bir biçimde olması için oositin spermatozoon tarafından aktive edilmesi gereklidir. ICSI işleminde oosit aktivasyonu ovolemanın mikropipetle delinmesi ve ovoplazmanın şiddetli bir şekilde aspire edilmesiyle olmaktadır. ICSI de döllenme oranı %40-70 dir.

ICSI veya Klasik IVF ile döllendirme işlemi sonrası 19-20. saatte pronükleusların görülebildiği evreye pronükleer evre adı verilmekte ve oluşan yapıya prezigot denmektedir.

IVF DÖLLENME ANOMALİLERİ

Döllenmenin değerlendirilmesinde 2 pronükleusun görülmesi gerekir.

1- **Total Fertilization Failure:** (tümüyle_döllenme yetmezliği) zona pellusidaya tutunan spermatozoon varlığı araştırılır.Tutunma yoksa reseptör problemi olabilir.

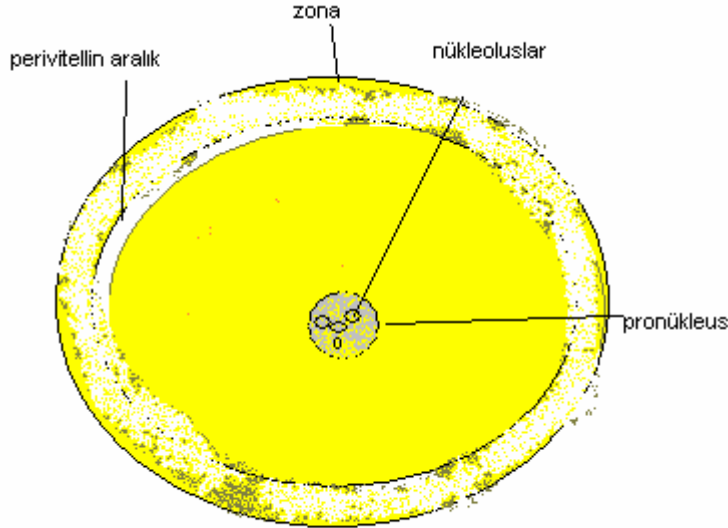


2- **Haploidi:** Döllenme kontrolünde 2 yerine 1 pronükleus olmasıdır. % 5-10 görülür. 4-6 saat IVF kültüründe bırakılıp tekrar incelendiğinde %25 inin 2 pronükleuslu olduğu görülmüştür (gecikmiş döllenme). Pronükleusların kaynaştığı singami aşamasında da 1 pronükleus görülebilir.Böyle zigotlar mitoz bölünme öncesindedirler ve aslında normal döllenmiş olabilirler. 1 pronükleuslu zigotlarda yapılan genetik incelemelerde;

- %80 inin normal döllenmiş,
- %10 unun haploidik ve
- %5inin triploidik olduğu gösterilmiştir.

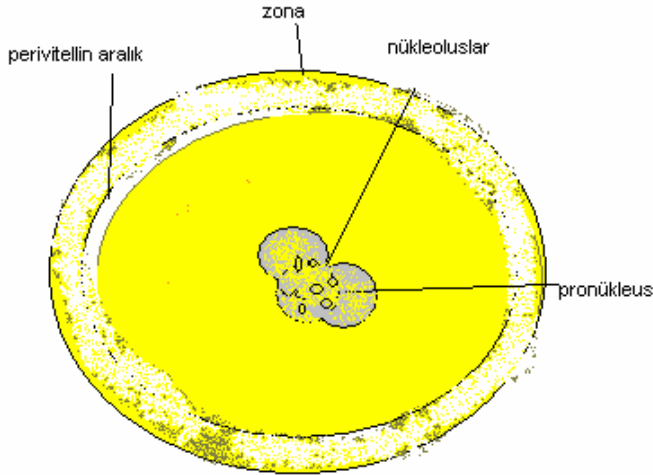
Dr.F.Gürcan BEBİTOĞLU: *Döllenme ve döllenme anomalilerinin yardımıyla üreme tekniklerindeki önemi*

Partenogenetik aktivasyonda da 1 pronükleus oluşabilmektedir. (ani ısı, şok, kimyasal maddelerle).



Şekil 7: döllenme kontrolünde tek pronukleusun görülmesi

3- **Triploidi ve poliploidi:** Oosit sitoplazmasında döllenme kontrolü esnasında 2 pronükleus yerine 3 pronükleus görülmesidir. Triploidi 2 spermatozoonla döllenme sonucu oluşur.



Şekil 8. Triploidik (3 pronükleus) döllenme

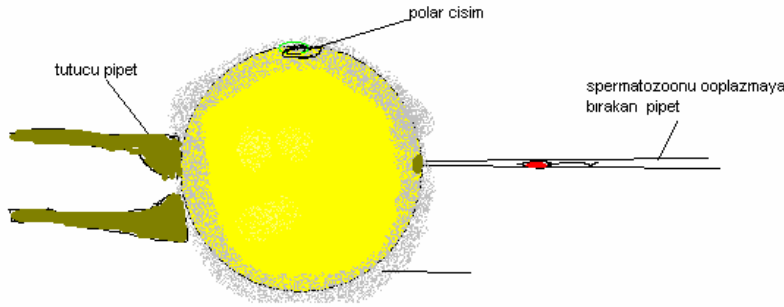
4- 5 pronükleus (multipronükleer=poliploidi)) görülebiliyorsa da bunların bazılarının vakuol olduğu elektron mikroskobu ile gösterilmiştir. Yardımla üreme tekniklerinde triploidi %5-10, poliploidi ise %1-3 oranında görülmektedir.

Polispermik döllenme sonrası gelişen 3 pronükleuslu zigotun yarıklanma bölünmeleriyle embriyonal gelişimi normal döllenmiş 2 pronükleuslu zigotların embriyonal gelişiminden ayırd edilemez. Bu nedenle döllenme işlemi sonrası döllenme kontrolü zamanında (19-20. saatte)

Dr.F.Gürcan BEBİTOĞLU: *Döllenme ve döllenme anomalilerinin yardımıyla üreme tekniklerindeki önemi*

yapılmalıdır ve zigot singamiye girmeden önce pronükleus sayısı mikroskop altında tam olarak belirlenmelidir. Zira normal döllenmeyen 3 ve daha fazla pronükleus içeren zigotlar embriyo transferinde kullanılamayacağı için hemen imha edilmelidir.

ICSI DÖLLENME ANOMALİLERİ (19-20. Saatlerde değerlendirilir)



Şekil 9. Intrastoplazmik sperm enjeksiyonu

TÜMÜYLE DÖLLENME YETMEZLİĞİ (TFF): ICSI işlemi sonrası döllenme olmayışıdır.

Teknik olarak,

- yetersiz immobilizasyon
- oositin aktive olmaması
- sentrozomun haraplanması ve
- mayoz mekiğinin işlem sırasında parçalanması ile oluşabilir.

TRİPLOİDİ: ICSI işlemi sonrası 3 pronükleus görülmesidir. Teknik olarak iki spermatozoon verilmesi (Dispermi) ya da 2. kutup cisimciğinin atılamaması ile oluşabilir. ICSI işlemi sonrası triploidi görülme olasılığı %5 olarak bildirilmektedir ve daha çok 2. kutup cisimciğinin atılamaması sonucu gelişmektedir. Maalesef, pronükleusların belirlenmesi, ne normal bir döllenme sürecini, ne de her bir pronükleusda paternal ve maternal orijini garanti etmektedir. İkinci polar cisimleri değerlendirme sırasında; birinci polar cismin fragmentasyonu sebebiyle potansiyel olarak yanılgıya düşülebilir. Pronükleer ve polar cisim tanımlamaları, spermatozoon penetrasyonunun değerlendirilmesinde ideal değilsede en faydalı ve en az zaman tüketen morfolojik değerlendirme imkanını sağlamaktadır

Triploidinin düzeltilmesi

Triploidi insanlarda spontan düşüklerin yaklaşık %20 sinden sorumludur. Hangi pronukleusun çıkarılacağına karar vermekte zordur. Çünkü maternal pronukleuslar kalırsa implantasyonu zorlaşır, öte yandan dispermik bir prezigottan maternal pronukleusun çıkarılmasının hidatiform mol oluşumuna yol açma ihtimali yüksektir

Dr.F.Gürcan BEBİTOĞLU: *Döllenme ve döllenme anomalilerinin yardımla üreme tekniklerindeki önemi*

- Üremeye yardımcı tekniklerde klasik IVF uygulamasında oosit ve spermatozoon yan yana bırakılarak doğal seleksiyon imkanı verilmektedir. ICSI de ise seçilmiş spermatozoon doğal seleksiyon olmaksızın tüm engeller ortadan kaldırılıp by-pass edilerek oosit stoplazmasına yerleştirilmektedir.
- Üremeye yardımcı teknikler merkezinde çalışan embriyolog, transfer edilecek doğru embriyoların seçimini belirtilen kriterlere göre yapmak, böylelikle sağlıklı bir gebelik ve sağlıklı bir embriyonun gelişimine olanak sağlamakla yükümlüdür.

TEŞEKKÜR

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın **Doç. Dr. Oya EVİRGEN**'e ile tüm çalışanlarına ve ayrıca Sayın **Dr. Türkan OĞUZHAN**'a ilgi ve yardımlarından dolayı çok teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

1. Lucinda L. Veeck, An atlas of human gametes and conceptuses, An illustrated reference for assisted reproductive technology, The Panthenon Publishing Group, New York, 15 April, 1999
2. H. Nadir Çıray, Yardımla Üreme Laboratuvarı Pratik Bilgiler, Ankara, 2003
3. Edited by David K. Gardner, Ariel Weissman, Colin M. Howles, Zeev Shoham, Textbook of Reproductive Techniques, Laboratory and Clinical Perspectives, London, 2001