

Şiddetli Oligoastenoteratozoospermisi Olan Olgularda, Kalsiyum İyonofor İle Oosit Aktivasyonu İşleminin, Embriyogenez ve Klinik Sonuçlara Etkilerinin Araştırılması

Investigation of the Effects of Calcium Ionophore Oocyte Activation on Embryogenesis and Clinical Outcomes in Cases with Severe Oligoasthenozoospermia

 Reccai PABUÇCU^a,  Emre Göksan PABUÇCU^a,  Ayşenur ÖZDEMİR KANAT^a

^aUfuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, Ankara, Türkiye

ÖZET

Amaç: Bu araştırma kapsamında, oosit aktivasyon bozukluğu yaşayan şiddetli oligoastenoteratozoospermi (OAT) hastalarının intrasitoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI) işlemi sonucunda, kalsiyum iyonofor işlemi uygulanan ve uygulanmayan olguların embriyo kalitesi ve klinik gebelik sonuçları retrospektif olarak incelenmiş ve literatüre katkı sağlaması amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** Ocak 2014 ile Aralık 2019 tarihleri arasında Centrum Klinik Kadın Sağlığı Merkez'ine başvuruda bulunan 100 ICSI olgusunun verilerinin retrospektif veri tarama çalışmasıdır. Analize dahil edilme kriterleri şiddetli OAT tanısı alan ve bu nedenle erkek faktörü infertilitesi olarak değerlendirilmiş olgulardır. ICSI sonrası oosit aktivasyonu için kalsiyum iyonofor uygulananlar deney grubu olarak, uygulanmayanlar ise kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edilmiştir. Her iki grup arasında toplam oosit sayısı, 2 pn fertilize oosit sayıları, fertilizasyon yüzdesi, 3. gün toplam embriyo sayıları, iyi kalite klivaj embriyo sayıları, 5. gün toplam embriyo sayıları, iyi kalite blastosist sayıları, klinik gebelik yüzdesi, biyokimyasal gebelik ve abortus yüzdesi sonuçları karşılaştırılmıştır. **Bulgular:** Şiddetli OAT olgularında kalsiyum iyonofor kullanılan yani deney grubunun fertilize oosit sayılarında, fertilizasyon yüzdelinde, iyi kalite klivaj embriyo sayıları, iyi kalite blastosist sayılarında istatistiksel açıdan anlamlı bir artış olduğu gözlemlenmiştir. Klinik olarak karşılaştırılması yapılan klinik gebelik ve canlı doğum oranlarında yüzde olarak deney grubunda bir artış görülmesine karşın istatistiksel olarak anlamlı bir artışın olmadığı gözlemlenmiştir. **Sonuç:** Klinik açıdan daha iyi fikir sahibi olunabilmesi için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Oosit aktivasyonu; kalsiyum iyonofor; şiddetli oligoastenoteratozoosperm; fertilizasyon

ABSTRACT

Objective: In this study, after intracytoplasmic sperm injection (ICSI) was performed to patients with severe oligoasthenozoospermia (OAT) in oocyte activation disorder, the embryo quality and clinical pregnancy outcomes of the cases with or without calcium ionophore treatment were retrospectively examined and contribute to the literature. **Material and Methods:** This is a retrospective data scanning study of the data of 100 ICSI cases who applied to Centrum Clinical Women's Health Center between January 2014 and December 2019. Inclusion criteria in the analysis were cases diagnosed with severe OAT and therefore evaluated as male factor infertility. Those who were applied calcium ionophore for oocyte activation after ICSI were included in the study as the experimental group, and those who were not applied as the control group. Between both groups, total oocyte count, 2 pn fertilized oocyte count, fertilization percentage, total embryo counts on day 3, good quality cleavage embryo counts, day 5 total embryo counts, good quality blastocyst counts, clinical pregnancy percentage, biochemical pregnancy and abortus. percentage results were compared. **Results:** It was observed that there was a statistically significant increase in the number of fertilized oocytes, fertilization percentage, good quality cleavage embryo numbers, and good quality blastocysts in the experimental group, which was calcium ionophore treated severe OAT cases. Although there was an increase in the clinical pregnancy and live birth rates as a percentage in the experimental group, which were compared clinically, it was observed that there was no statistically significant increase. **Conclusion:** More comprehensive studies are needed to have a better clinical opinion.

Keywords: Oocyte activation; calcium ionophore; severe oligoasthenozoospermia; fertilization

Correspondence: Ayşenur ÖZDEMİR KANAT

Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, Ankara, Türkiye

E-mail: aysenurozdemirkanat@gmail.com



Peer review under responsibility of Turkish Journal of Reproductive Medicine and Surgery.

Received: 11 Jan 2022

Accepted: 16 Feb 2022

Available online: 23 Feb 2022

2587-0084 / Copyright © 2021 by Reproductive Medicine, Surgical Education, Research and Practice Foundation.
This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

Total fertilizasyon başarısızlığı intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) sonrası, oosit veya sperm kaynaklı birçok faktörden kaynaklanabilmektedir. Fertilizasyonun mikroenjeksiyon sonrası gerçekleşmemesi çoğunlukla sperm hücrelerinin oosit aktivasyonunu gerçekleştirilmesine bağlanmaktadır.¹ Oosit aktivasyonunun olması için, spermin kapasitesini tamamlamış olması gerekmektedir. Daha sonra oluşması beklenen sperm hiperaktivasyonunun ve akrozom reaksiyonunu gerçekleşmesi için Ca^{+2} iyonlarının salınımının yapılması gerekmektedir. Oosit aktivasyonunun gerçekleşmesinin kalsiyum (Ca^{+2}) salınımına bağlı olduğu düşünülmektedir.² Yapay oosit aktivasyon yöntemleri kalsiyum salınımının gerçekleşmediği durumlarda oosit aktivasyonunun sağlanması için kullanılmaktadır. Kalsiyum (Ca^{+2}) takviyesi yapılarak oosit aktivasyonunu sağlamak amacıyla kullanılan kalsiyum iyonofor, yapay oosit aktivasyonu (AOA) yöntemlerinden biridir.³

Bu araştırmaya konu olan kalsiyum iyonofor işleminin, oosit aktivasyonunun gerçekleşmesinde etkili bir yöntem olabileceği düşünülmüştür. Kalsiyum iyonoforun oosit aktivasyon bozukluğu görülen olgularda kullanılarak, oositin aktivasyonunun sağlanmasıyla şiddetli oligoastenoteratozoospermi (OAT) hastalarının infertilite sorununun çözümüne katkı sağlaması amaçlanmıştır.

Yapılan bu araştırmada, oosit aktivasyonunun kalsiyum ile sağlandığı bilgisiyle yola çıkarak şiddetli oligoastenoteratozoospermi (OAT) hastalığı olan 100 hastanın dosyalarından ICSI sonrası kalsiyum iyonofor işlemi uygulanan 50 hasta tespit edilmiştir. Belirlenen hastaların oosit fertilizasyon oranları, fertilizasyon yüzdesi, embriyo kalitesi, blasta gidiş yüzdesi, klinik gebelik yüzdesi, canlı doğum oranı, biyokimyasal gebelik ve abortus oranları kalsiyum iyonofor işlemi uygulanmayan 50 hasta ile karşılaştırılması sonucunda kalsiyum iyonofor kullanılan hastalarda sonucun daha iyi olup olmadığı araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız Ocak 2014 ile Aralık 2019 yılları arasında, Centrum Kliniği Kadın Sağlığı ve Tüp Bebek Merkezi'nde retrospektif olarak yapılmış veri tarama

çalışmasıdır. Veriler, merkezdeki dosya ve/veya elektronik veri tabanından elde edilmiştir. Çalışmada şiddetli oligoastenoteratozoospermi (OAT) olgusuna sahip 100 ICSI döngüsü dahil edilmiş ve ICSI sonrası OAT tanılı çiftlerde, yapay oosit aktivasyonu için kullanılan kalsiyum iyonofor uygulaması sonuçları incelenerek değerlendirilmiştir. Çalışma için Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesinden etik kurul onayı alınmıştır (Etik Kurul No: 20200124/5). Çalışma Helsinki Deklerasyonu Prensipleri'ne uygun olarak yapılmıştır.

Analize dahil edilme kriterleri arasında erkeklerde yaşı 18-70 arasında, daha önce çocuk sahibi olmamış, kromozomal bozukluğu bulunmayan veya Y mikrodelsiyonu olmayan, medikal tedavi almayan olgular, kadınlarda yaşı 18-40 yaş arası zayıf yumurta rezervi olmayan (Serum AMH >1 ng/ml olan), normal karyogram, histerosalpingografi (HSG) ve hormonal profili olan, çocuk sahibi olmamış olgular yer almaktadır. Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri olarak erkeklerde; normozoospermik, azoospermik, kriptoospermik olgular, testis ile ilgili organik patolojileri olanlar, mevcut hormonal veya başka medikal tedavi altında olanlar, çözümlenmiş spermatozoa kullanılan, testiküler ekstrasizyon veya aspirasyon uygulanan olgular, kadınlarda; >40 yaş, tubal-uterin-ovaryen patoloji varlığı, genetik anomali, endometriozis, zayıf ovaryen rezervi (serum AMH değeri <1 ng/ml altında olan), preimplantasyon genetik test uygulananlar, dondurulmuş embriyo transferi uygulanan olguların çalışmada olmamasına özen gösterilmiştir.

ÇALIŞMA PROTOKOLÜ

Gradient yöntemiyle hazırlanan semen örneklerinin hepsi hastalardan masturbasyon yöntemi ile oosit toplama gününde (OPU) elde edilmiştir. Konik bir tüpün alt kısmına %90'lık onun üzerine ise %45'lik sperm gradient medyumundan konulmuş olup üzerlerine 1 ml semen örneğinden eklenmiştir. Semen tüpleri 12 dakika 1500 rpm'de santrifüj edilmiştir ve pipet yardımıyla gradient ve semen tabakalarından sonra en dipte bulunan pelet alınmıştır. Pelet üzerine yıkama medyumundan (All Grad Wash Life Global) 2 ml eklenerek karıştırılmış 5 dakika 1500 rpm de santrifüj edildikten sonra 0.5-1 ml kültür medyumuna eklenip inkübatörde %5 CO₂ ortama kaldırılmıştır.

Çalışmadaki hastaların ovaryan stimülasyon tedavilerinde kısa-antagonist protokol uygulanmıştır. Over rezervlerine göre menstural siklusun 2. ya da 3. günlerinde 150-225 IU/gün olacak biçimde rekombinant FSH veya hMG başlanmıştır. GnRH antagonisti siklusun 6. gününde tedaviye eklenmiş olup folikül çapının 17mm olduğu zaman oositlerin toplanması hedeflenerek ovulasyon tetiklenmesinin sağlanması için 10.000 IU hCG (sc) uygulanmıştır. Her hastaya OPU işleminin gerçekleşeceği gün 600 mg/gün vajinal mikronize progesteron luteal destek olması amacıyla verilmiştir. Genel anestezi altında transvajinal ultrason kullanılarak ovülasyon indüksiyonundan 35-36 saat sonra, çift lümenli steril iğne kullanılıp foliküllerin aspirasyonu gerçekleştirilmiştir. İnkübasyona alınan oositler 3-4 saat sonra 80 IU/ml konsantrasyonlu hyaluronidaz enzimiyle yaklaşık olarak 15-20 dk muamele edildikten sonra fresh mediuma alınan oositler korona kümülüs hücrelerinden ayrılmıştır. Toplanan oositler kültür ortamına konularak inkübe edilip 4-5 saat sonra ICSI işlemi yapılmıştır.

Kullanıma hazır olarak satılan ürün firma talimatlarına göre; oosit aktivasyonundan önce 2-4 saat 37 °C, %5-6 CO₂, %5 O₂ inkübatörde inkübe edilmiştir. ICSI işlemi sonrasında ise 15 dakika boyunca oositler içinde bekletilmiştir. Klivaj kültür ortamına alınıp inkübatöre alınmadan önce yıkama işlemi yapılmıştır.⁴ ICSI işlemi sonrasında inkübatöre alınan oositler 30 dakika sonra kalsiyum iyonofor ile muamele edilmek üzere 8-10 µmol/L kalsiyum iyonofor bulunan gazlanmış kültüre alınarak 7-10 dakika boyunca inkübatörde bekletilmektedir. Sonrasında oositler iyomisin bulunmayan taze kültüre alınarak bolca yıkama yapıp inkübatöre kaldırılmıştır.^{5,6}

ICSI den 14-18 saat sonra 2PN görülmesiyle fertilizasyon doğrulanmıştır. Toplam ICSI sayısının M2 oosit sayısına oranı fertilizasyon oranı olarak tanımlanmaktadır. Fertilize olmuş tüm oositler fresh klivaj mediumuna alınarak embriyo transferi olana kadar kültür ortamında bekletilmiştir. Fertilizasyonun 46-48 saat sonunda klivaj embriyoları hücre sayısı ve fragmentasyon oranları olarak 1-5 arası değerlendirilmesi yapılmıştır. Gardner ve Schoolcraft'ın önerilerine göre blastosistler için embriyo kalitesinin sınıflandırma sistemi embriyoların kalite derecelendirme aşamasında tüm blastosistler derecelendirilmiştir.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analiz programı olarak SPSS 22.0 Windows değerlendirmelerde kullanılmıştır. Deney ve kontrol gruplarının verileri normal dağılımdan anlamlı düzeyde farklılık olup olmadığına Kolmogrov Smirnov ve Shapiro Wilks testi ile incelenmiş ve sonuç olarak elde edilen parametrelerin normal dağılım göstermediği anlaşılmıştır. Normal dağılım göstermeyen grupların bulunması halinde non-parametrik testlerin kullanımı gerçekleştirilmiştir. Deney ve kontrol grubu karşılaştırmaları yapılırken veriler normal dağılım göstermediği için parametrik olmayan Mann Whitney U testi ile kategorik değişkenlerde ise Pearson ki-kare ve Fisher Exact testleri kullanılarak karşılaştırmalar yapılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlılık seviyesi p<0,05 olarak alınmıştır.⁷

BULGULAR

Bu çalışmada kalsiyum iyonofor uygulaması yapılan 50 hastadan toplanan 403 oosit ve kalsiyum iyonofor uygulaması yapılmayan 50 hastadan toplanan 314 oosit olmak üzere toplamda 717 oosit çalışmaya dahil edilmiştir.

Çalışmaya katılan erkek ve kadın bireylerin parametrelerinin değerlendirilmiştir. Karşılaştırılan deney ve kontrol grubu arasında erkek bireylerin sperm parametrelerinden sperm konsantrasyonu (sayı 10⁶/ml) ve motilitelelerinin (A+B%) sonuçları ile kadın bireylerin ise yaşı, serum AMH değeri ve maksimum endometriyum kalınlıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 1).

Toplam oosit sayısının, fertilize oosit sayısının, fertilizasyon yüzdesinin değerlendirilmesi karşılaştırılmıştır. Toplam oosit sayısı açısından gruplar deney ve kontrol grubu arasında istatistik açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır. Fertilize oosit sayısı(2PN) ve fertilizasyon % olarak kontrol ve deney grubu arasında farklılık gözlemlenmiştir. Gruplara bakıldığında fertilize oosit sayılarının anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (z=-2,699, p<0,05). Olguların fertilizasyon yüzdesinin değerlendirilmesi yapıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür (z=-2,002, p<0,05) (Tablo 2).

TABLO 1: Çalışmaya katılan erkek ve kadın bireylerin parametrelerinin değerlendirilmesi.

	Grup	N	Ortalama-Standart Sapma	Z	p
Konsantrasyon (sayı 10 ⁹ /ml)	Deney	50	12,82±13,00	-0,290	0,772
	Kontrol	50	12,46±11,61		
Motilite (A+B)%	Deney	50	17,86±15,28	-0,727	0,467
	Kontrol	50	20,2±15,61		
Kadın yaşı (yıl)	Deney	50	32,54±5,52	-0,449	0,653
	Kontrol	50	31,98±5,57		
Serum AMH (ng/ml)	Deney	50	2,96±1,79	-0,079	0,937
	Kontrol	50	2,45±0,77		
Ovulasyon tetikleme günü endometriyum kalınlığı (mm)	Deney	50	10,15±1,47	-1,127	0,260
	Kontrol	50	9,79±1,45		

TABLO 2: Toplam oosit sayısının, fertilize oosit sayısının, fertilizasyon yüzdesinin değerlendirilmesi.

Toplam Oosit Sayısı	Grup	N	Oosit Sayısı	Ortalama-Standart Sapma	Z	p
	Deney	50	403	8,06±5,03	-1,402	0,161
	Kontrol	50	314	6,28±2,38		
Fertilize Oosit Sayısı (2PN)	Grup	N	Fertilize Oosit Sayısı	Ortalama-Standart Sapma	Z	p
	Deney	50	301	6,02±4,17	-2,699*	0,007*
	Kontrol	50	205	4,01±1,83		
Fertilizasyon %	Grup	N	Ortalama-Standart Sapma	Z	p	
	Deney	50	74,58±22,00	-2,002	0,045*	
	Kontrol	50	66,96±19,89			

3. gün toplam embriyo sayısının, iyi kalite klivaj embriyo sayısının, 5. gün toplam embriyo sayısının ve iyi kalite blastosist sayılarının karşılaştırılması gösterilmiştir. Kontrol grubu ve deney gruplarında 3.gün toplam embriyo sayısı ve 5. gün toplam embriyo sayılarında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Gruplara göre iyi kalite klivaj embriyo sayılarının anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($z=-2,291$, $p<0,05$). Gruplara göre iyi kalite blastosist sayılarında

anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir ($z=-2,307$, $p<0,05$) (Tablo 3).

Çalışma gruplarının klinik sonuçlarının değerlendirilmesi yapılmıştır. Kalsiyum iyonofor uygulaması gerçekleştirilmiş olguların 21 (%42)'inde, uygulanmayan olguların 18 (%36)'inde klinik gebelik gerçekleştiği görülmüştür. İstatiksel olarak kontrol ve deney grubu arasında klinik gebelik açısından anlamlı fark bulunamamıştır ($p=0,539$). Deney grubu

TABLO 3: 3. gün toplam embriyo sayısının, iyi kalite klivaj embriyo sayısının, 5. gün toplam embriyo sayısının ve iyi kalite blastosist sayılarının değerlendirilmesi.

	Grup	N	Embriyo Sayısı	Ortalama-Standart Sapma	Z	p
3.Gün toplam embriyo sayısı	Deney	50	260	4,2±3,3	-1,499	0,134
	Kontrol	50	208	4,16±1,86		
Grade 1 Klivaj Embriyo Sayısı	Deney	50	194	3,88±3,22	-2,291	0,022*
	Kontrol	50	130	2,66±1,5		
5. Gün Toplam Embriyo Sayısı	Deney	50	201	4,02±2,55	-1,484	0,138
	Kontrol	50	163	3,26±1,50		
İyi Kalite Blastosist Sayısı	Deney	50	150	3,00±1,92	-2,307	0,021*
	Kontrol	50	102	2,04±1,17		

TABLO 4: Çalışma gruplarının klinik sonuçlarının değerlendirilmesi

Klinik sonuçlar	Kontrol (N=50)	Deney (N=50)	P değeri
Klinik Gebelik/olgu	18 (%36)	21 (%42)	0,539
Canlı Doğum/olgu	14 (%28)	17 (%34)	0,517
Biyokimyasal Gebelik/olgu	2 (%4)	2 (%4)	1,000
Abortus/olgu	2 (%4)	2 (%4)	1,000

olgularının 17 (%34)'sinde canlı doğum gerçekleşmiş, kontrol grubu olgularının 14 (%28)'ünde canlı doğum olduğu görülmüş fakat istatistiksel olarak anlam ifade etmemektedir ($p=0,517$). Kontrol ve deney grupları arasında biyokimyasal gebelik oranlarının ve abortus oranlarının aynı olmasından dolayı istatistiksel olarak anlamlı derecede bir fark bulunmamıştır ($p=1,000$) (Tablo 4).

TARTIŞMA

Çalışmamızda şiddetli OAT tanısı almış erkeklerin spermleri ile uygulanacak ICSI işlemi sonrasında, oosit aktivasyonunu optimize etmek amacıyla kalsiyum iyonofor kullanımı fertilizasyon oranlarında iyileşme ve iyi kalitede embriyo sayısının artışına olumlu katkıda bulunmuştur. Ancak bu sonuçlar, canlı doğum oranlarına olumlu bir etkide bulunmamıştır.

Fertilizasyon başarısızlığı genellikle ICSI sonrası %30 civarında oositte görülmekte olan bir olaydır. ICSI gerçekleştikten sonra oluşan total fertilizasyon başarısızlığı %1,29-3 aralığında görülen bir olaydır.⁸

Spermin oositi aktive edememesi fertilizasyon problemlerine neden olan başlıca sebeplerden biri olarak görülmektedir. Oosit aktivasyonunun gerçekleşmesi sperm-oosit füzyonunun gerçekleşmesinden sonra oluşan çok önemli bir olaydır. Oosit aktivasyonunun in vivo olarak gerçekleşmesi ve embriyogenezin başlamasını sağlayan, döllenmiş oositlerdeki nükleer ve sitolojik gelişimlerin tam olabilmesi için oosit içerisindeki hücre içi kalsiyum salınımının düzenli bir şekilde gerçekleşmesi gerekmektedir.⁹

Literatüre bakıldığında ilk olarak 1990'larda kalsiyum iyonofor oosit aktivasyonu gerçekleştirmesi amacıyla kullanılmaya başlanmıştır.¹⁰ Montag ve

ark., ICSI işleminin döllenme oranı %30'dan düşük olan olgularda yapay oosit aktivasyonunun sağlamak amacıyla yapılan kalsiyum iyonofor uygulamasının fertilizasyon oranlarında yükselme gerçekleştiğini bulmuştur.¹¹ Benzer şekilde Hoshi ve ark., 1995 yılında yapılan çalışmalarında, ICSI sonrasında fertilizasyon oranının artırılması amacıyla oosit aktive edici kalsiyum iyonofor uygulaması gerçekleştirmiş ve başarılı bir sonuç olarak ilk gebeliği rapor etmişlerdir.¹² Heindryckx ve ark., 2005 yılında yapılan çalışmalarında kalsiyum iyonoforun ICSI sonrasında başarısızlığı olan hastaların fertilizasyonun başlamasında etkili olduğunu rapor etmişlerdir.¹³

Bizim çalışmamızda da, şiddetli OAT olgularında oositin aktivasyonu işlemi ile fertilizasyon oranları iyileşmiştir. Aslında, aktivasyon işleminin amaçlarından biri de, daha önce TFF geçmişi olan OAT olgularında klinik sonuçları iyileştirmektir. Ancak bizim serimizde hiçbir grupta TFF izlenmediği için bu konu hakkında net yorum yapılamamaktadır.

Kalsiyum iyonofor ile aktivasyonunun yapıldığı oositlerin %70-80'inde kromozom bozukluğunun olmadığı ayrıca normal bir morfolojiye sahip olduğu yapılan insan ve fare oositlerinin sitogenetik analizlerinde rapor olarak sunulmuştur.¹⁴ Bizim çalışmamızda, Ca iyonofor kullanılan grupta hem gebelik hem doğum hem de abort oranlarında kullanılmayanlara göre belirgin farklılık saptanmadı. Bu da Ca kullanımının erken embriyogenez ve geç perinatal dönemde bariz bir toksik etki yaratmadığı şeklinde yorumlanabilir. Ancak, toksisite sadece kısa-orta dönemde değil, uzun dönemde de ortaya çıkabilir ve bu yöntem ile doğan bebeklerin uzun yıllar hastalıklar-maligniteler anlamında izlenmesi yararlı olacaktır. Bu konuda yardımcı oosit aktivasyonu uygulanmış olguların derlendiği bir meta analiz sonucuna göre, bu işlemin çocuklarda majör bir defekte neden olmadığı bildirilmiştir.¹⁵

Çalışmamızın çarpıcı sonuçlarından bir tanesi de, Ca kullanımı ile fertilizasyon ve iyi kalite embriyo oranlarında iyileşme olmasına rağmen gebelik ve canlı doğum oranlarında deney grubu lehine olsa da istatistiksel belirgin farklılık olmamasıdır. Bu durumun en olası açıklaması çalışmanın genel denek sayısının az olması ve yeterli istatistiksel güce

ulaşamamasıdır. Yeterli güç analizi yapılmış ve denek sayısı netleştirilmiş olsa idi, bu farklılık belki anlamlı olabilirdi. Bu sonucun bir diğer açıklaması da, oositlerin belirli bir standartta seçildiği vakalarda, şiddetli OAT nedeni ile her ne kadar fertilizasyonlar izlense ve Ca uygulaması ile optimize edilseler de, embriyoların genetik yapısında sorun olabilir. Bu durum implantasyon ve canlı doğum oranlarına olumsuz etki edebilir. Özellikle 23 kromozom analizi yapılan ve öploid olduğu bilinen blastosistler ile genetik yapılmayan blastosistlerin implantasyon potansiyelleri, öploid blastosistler lehinedir.¹⁶ OAT olgularında embriyoların genetik olarak sorunlu olmaları olasıdır, özellikle da yapılan preimplantasyon genetik tarama çalışmalarında erkek faktör infertilitesi olanlarda mozaik embriyo oranlarında artış saptanmıştır.¹⁷ Ayrıca, morfolojik olarak iyi olan bir embriyo da hâlihazırda anöploid olabilir ve bu oran bir seride %40'ın üzerinde saptanmıştır.¹⁸ Sonuç olarak, geniş serilerde şiddetli OAT olguları için Ca uygulamasının genetik tarama sonuçlarına ihtiyaç vardır.

Araştırma ile elde edilen verilerin değerlendirilmesi sonucunda, kalsiyum iyonofor kullanılan deney grubu ve kalsiyum iyonofor kullanılmayan kontrol grubunun fertilize oosit sayıları, fertilizasyon yüzdesi, 3. gün embriyo embriyo sayıları, grade 1 klivaj embriyo sayıları, 5. gün embriyo sayıları, iyi kalite blastosist sayılarının karşılaştırması yapılmıştır. Ayrıca klinik açıdan gebelik oranı, canlı doğum oranı, biyokimyasal gebelik oranları ve abortus oranlarının da karşılaştırması yapılmıştır.

SONUÇ

Bu çalışmada sonuç olarak, kalsiyum iyonofor kullanılan grup olan deney grubunun fertilize oosit sayıları, fertilizasyon yüzdesi, grade 1 klivaj embriyo

sayıları, iyi kalite blastosist sayılarında istatistiksel açıdan anlamlı bir artışın olduğu gözlemlenmiştir. Klinik olarak karşılaştırması yapılan klinik gebelik ve canlı doğum oranlarında, deney grubunun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artışın meydana gelmediği gözlemlenmiştir. Böylelikle, yapılan bu çalışmanın literatüre katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. Şiddetli OAT hastalarında kalsiyum iyonofor uygulaması yapılan olguların embriyo gelişimi ve klinik etkileri hakkında daha detaylı araştırmalara ihtiyaç duyulduğu anlaşılmıştır. Dolayısıyla, bütün bu çalışmalar ışığında kalsiyum iyonoforun güvenilir olduğunun kanıtlanabilmesi amacıyla gelecekte konu ile ilgili daha fazla araştırma yapılması önerilmektedir.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Ayşenur Özdemir Kanat, Recai Pabuçcu, Emre Göksan Pabuçcu; **Tasarım:** Ayşenur Özdemir Kanat, Emre Göksan Pabuçcu; **Denetleme/Danışmanlık:** Emre Göksan Pabuçcu; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Ayşenur Özdemir Kanat; **Analiz ve/veya Yorum:** Ayşenur Özdemir Kanat; **Kaynak Taraması:** Ayşenur Özdemir Kanat; **Makalenin Yazımı:** Ayşenur Özdemir Kanat; **Eleştirel İnceleme:** Emre Göksan Pabuçcu; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Emre Göksan Pabuçcu.

KAYNAKLAR

1. Mahutte NG, Arici A. Failed fertilization: is it predictable? *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2003;15(3):211-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
2. Bakı Acar D, Bastan A. Activation of bovine oocytes following ICSI and effect of activation on embryo according to developmental stages. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2011;17(4):631-6. [[Crossref](#)]
3. Montag M, Köster M, van der Ven K, Bohlen U, van der Ven H. The benefit of artificial oocyte activation is dependent on the fertilization rate in a previous treatment cycle. *Reprod Biomed Online.* 2012;24(5):521-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
4. Ebner T, Montag M; Oocyte Activation Study Group, Montag M, Van der Ven K, Van der Ven H, Ebner T, Shebl O, Oppelt P, et al. Live birth after artificial oocyte activation using a ready-to-use ionophore: a prospective multicentre study. *Reprod Biomed Online.* 2015;30(4):359-65. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
5. Ahmady A, Michael E. Successful pregnancy and delivery following intracytoplasmic injection of frozen-thawed nonviable testicular sperm and oocyte activation with calcium ionophore. *J Androl.* 2007;28(1):13-4. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
6. Rybouchkin AV, Van der Straeten F, Quatacker J, De Sutter P, Dhont M. Fertilization and pregnancy after assisted oocyte activation and intracytoplasmic sperm injection in a case of round-headed sperm associated with deficient oocyte activation capacity. *Fertil Steril.* 1997;68(6):1144-7. [[Crossref](#)]
7. Field, Andy ve Graham Hole. *Deneyler nasıl tasarlanır ve raporlanır* . Sage, London Thousand Oaks New Delhi. 2002.
8. Tejera A, Mollá M, Muriel L, Remohí J, Pellicer A, De Pablo JL. Successful pregnancy and childbirth after intracytoplasmic sperm injection with calcium ionophore oocyte activation in a globozoospermic patient. *Fertil Steril.* 2008;90(4):1202.e1-5. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
9. Ramadan WM, Kashir J, Jones C, Coward K. Oocyte activation and phospholipase C zeta (PLC ζ): diagnostic and therapeutic implications for assisted reproductive technology. *Cell Commun Signal.* 2012;10(1):12. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
10. Yanagida K. Complete fertilization failure in ICSI. *Hum Cell.* 2004;17(4):187-93. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
11. Montag M, Köster M, van der Ven K, Bohlen U, van der Ven H. The benefit of artificial oocyte activation is dependent on the fertilization rate in a previous treatment cycle. *Reprod Biomed Online.* 2012;24(5):521-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
12. Hoshi K, Yanagida K, Yazawa H, Katayose H, Sato A. Intracytoplasmic sperm injection using immobilized or motile human spermatozoon. *Fertil Steril.* 1995;63(6):1241-5. [[Crossref](#)]
13. Heindryckx B, Van der Elst J, De Sutter P, Dhont M. Treatment option for sperm- or oocyte-related fertilization failure: assisted oocyte activation following diagnostic heterologous ICSI. *Hum Reprod.* 2005;20(8):2237-41. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
14. Yamano S, Nakagawa K, Nakasaka H, Aono T. Fertilization failure and oocyte activation. *J Med Invest.* 2000;47(1-2):1-8.
15. Long R, Wang M, Yang QY, Hu SQ, Zhu LX, Jin L. Risk of birth defects in children conceived by artificial oocyte activation and intracytoplasmic sperm injection: a meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol.* 2020;18(1):123. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
16. Chan C, Ryu M, Zwingerman R. Preimplantation genetic testing for aneuploidy: A Canadian Fertility and Andrology Society Guideline. *Reprod Biomed Online.* 2021;42(1):105-16. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
17. Mazzilli R, Cimadomo D, Vaiarelli A, Capalbo A, Dovere L, Alviggi E, et al. Effect of the male factor on the clinical outcome of intracytoplasmic sperm injection combined with preimplantation aneuploidy testing: observational longitudinal cohort study of 1,219 consecutive cycles. *Fertil Steril.* 2017;108(6):961-72.e3. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
18. Capalbo A, Rienzi L, Cimadomo D, Maggiulli R, Elliott T, Wright G, et al. Correlation between standard blastocyst morphology, euploidy and implantation: an observational study in two centers involving 956 screened blastocysts. *Hum Reprod.* 2014;29(6):1173-81. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]