

# Açıklanamayan İnfertilite Olgularında IVF Başarısı Predikte Edilebilir mi?

## Can We Predict IVF Success in the Cases of Unexplained Infertility?

Tuğba IŞIKCI,<sup>a</sup>  
Hikmet HASSA,<sup>a</sup>  
Yunus AYDIN,<sup>a</sup>  
Setenay ÖNER<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,  
<sup>b</sup>Biyoistatistik AD,  
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi  
Tıp Fakültesi, Eskişehir

Geliş Tarihi/Received: 06.11.2013  
Kabul Tarihi/Accepted: 17.02.2014

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Tuğba IŞIKCI  
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi  
Tıp Fakültesi,  
Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,  
Eskişehir,  
TÜRKİYE/TURKEY  
tugba\_isikci@hotmail.com

**ÖZET Amaç:** Açıklanamayan infertilite olgularında in vitro fertilizasyon (IVF)-embriyo transferi (ET) sikluslarında serum ve follikül sıvısında oosit kalitesi, embriyo gelişimi ve implantasyonunda önemli bazı belirteçlerin düzeylerinin gebeliği öngörmedeki faydasını araştırmayı amaçladık. **Gereç ve Yöntemler:** Bu prospektif kohort çalışma, yapılan incelemelere rağmen herhangi bir infertilite faktörü saptanmamış ve en az iki siklus ovarian stimülasyon+intrauterin inseminasyon siklusu sonucu gebelik elde edilememiş 40 açıklanamayan infertil çiftte yapılmıştır. Bütün kadınlarda assisted reproductive technology (ART) siklusu başlangıcı (gün 2-3) ve “oocyte pick-up (OPU)” günü alınan serum örneklerinde ve alınan follikül sıvılarında glikodelin, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve interlökin-1 beta (IL-1 $\beta$ ) düzeyleri “Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)” yöntemi ile incelenmiştir. Bakılan bu belirteçler ile klinik gebelik oranları arasında olabilecek ilişki saptanmaya çalışılmıştır. **Bulgular:** Gün 2-3, OPU günü serum ölçümleri ile follikül sıvısı ölçümlerinde gebe kalanlar ile kalamayanlar arasında VEGF, IL-1 $\beta$  ve glikodelin açısından anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ). **Sonuç:** Bu belirteçlerin açıklanamayan infertilite olgularının değerlendirilmesinde yerini alıp alamayacağını ortaya koyulabilmesi için daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** İnfertilite, kadın; in vitro fertilizasyon;  
vasküler endotelial büyüme faktörleri; PAEP protein, insan; interlökin-1beta

**ABSTRACT Objective:** We aim to investigate the benefit of some important markers in predicting pregnancy of unexplained infertility cases. These markers are important in implantation, oocyte quality, embryonic development of in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) cycles. **Material and Methods:** This prospective cohort study was conducted on 40 infertile couples with unexplained infertility. All couples had at least two unsuccessful superovulation+intrauterine insemination treatment cycle history. Assisted reproductive technology (ART) cycle start (days 2-3) and oocyte pick-up (OPU) day serum samples and received follicle fluids taken from all women. glikodelin, vascular endothelial growth factor (VEGF) and interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) levels examined by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) method. We studied to determine the relationship between these markers and clinical pregnancy rate. **Results:** According to the results there is no significant association in group according to pregnancy results between days 2-3, OPU day serum samples and follicular fluid VEGF, IL-1 $\beta$  and glycodein levels ( $p>0.05$ ). **Conclusion:** We concluded that further studies with large series are needed to reveal the parameters that we studied could be used in evaluation of patients with unexplained infertility.

**Key Words:** Infertility, female; fertilization in vitro;  
vascular endothelial growth factors; PAEP protein, human; interleukin-1beta

Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst 2014;24(2):104-9

Günümüz yardımcı üreme teknikleri (YÜT) uygulamalarında kaliteli embriyolar elde edilebilmesine rağmen YÜT’ün uygulandığı sikluslarda implantasyon oranı yaklaşık %25 düzeyindedir.<sup>1</sup> İm-

plantasyon başarısızlığının üçte ikisinden endometriyal reseptivitenin ve üçte birinden embriyo kalitesinin sorumlu olduğu düşünülmektedir. İmplantasyon sürecinin aydınlatılması için endometriyum ile embriyo arasındaki karmaşık diyalogu oluşturduğu düşünülen pek çok moleküler belirteç araştırılmıştır (LIF, integrin  $\alpha\beta3$ , MUC1, HB-EGF, IGFBP-1, IGF-2, TGF- $\beta$ , HOXA-10-11, DKK1, Ephrin peptidleri, IL-1-6, kalsitonin, osteopontin, PAF, VEGF, EGF, MMP-2-9, TIMP-1, COX-1-2, PGE2, progesteron reseptörleri, pinopodlar, MCSF, glikodelin).<sup>2-4</sup> Ancak implantasyonun moleküler mekanizması ve endometriyal reseptivite tam olarak açıklığa kavuşturulamadığı gibi; öne sürülen çeşitli nedenler üzerinden de implantasyon olasılığını arttıracak bir tedavi yöntemi henüz belirlenebilmiş değildir.

YÜT'ün uygulandığı sikluslarda embriyo gelişim ve kalitesi ile implantasyon oranlarını arttırmak için endometriyal reseptiviteyi gösteren ve invaziv olmayan yöntemleri incelemek gerektiğini düşünmekteyiz. Ancak implantasyon penceresi döneminde salgılanan birçok sitokin ve büyüme faktörünün başka görevleri olması nedeniyle kanda implantasyona özgü belirteçleri bulmak zordur.<sup>1,5</sup>

Açıklanamayan infertilite tanısı, infertilite araştırmasındaki tüm standart elemanların (semen analizi, ovulasyonun objektif kanıtları, uterin kavite ve bilateral tubal açıklık) normal çıkması sonrası konulmaktadır. İnsidansı, infertil popülasyonda tanı kriterlerine bağlı olarak %15-30 oranında değişmektedir. İn vitro fertilizasyon (IVF), günümüzde açıklanamayan infertilite tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak siklus başına beklenen canlı doğum oranları %13 ile %28 arasında değişmektedir.<sup>6</sup>

Günümüzde infertilite nedenleri ile ilgili çalışmalar kanda ve follikül sıvısında çeşitli sitokinlerin araştırılmasına yönelmiştir. Bunlardan araştırma konusu olan başlıca belirteçler vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), interlökin-1 beta (IL-1 $\beta$ ) ve glikodelindir. VEGF; oosit kalitesi ve dolayısıyla embriyo kalitesini gösteren belirteçlerden birisi olup, folliküllerin granüloza ve teka hücrelerinden salgılanmaktadır. Overdeki

neo-anjiyogenez ve follikül gelişiminde rol aldığı düşünülmektedir.<sup>7</sup> IL-1 $\beta$  ise sağlıklı bir gebelik elde edilmesinde rol oynadığı düşünülen diğer bir belirteçtir. İnsan endometriumunda menstrüel siklus boyunca hem glandüler hem de stromal hücrelerde tespit edilmiştir. Endometriyal dokudaki IL-1 $\beta$  ekspresyonunda değişimlerin olması infertil olgularla bağlantılı bulunmuştur.<sup>8</sup> Glikodelin ise; majör endometriyal protein olup, embriyonun implantasyonu için uygun immüntoleransı sağlar ve bir implantasyon belirteci olarak çok umut vericidir. Siklus periyoduna göre midsiklus fertil pencerede düşük olan düzeylerinin fertilizasyonda ve midluteal implantasyon penceresi dönemindeki yüksek düzeylerinin implantasyonda etkili olduğu düşünülmektedir.<sup>9</sup>

Henüz net olarak açıklığa kavuşturulamamış olan bu implantasyon belirteçlerinin, YÜT sikluslarında artık artmamakta olan gebelik oranlarında oldukça etkili olduğunu düşünmekteyiz.<sup>10</sup> Özellikle açıklanamayan infertilite olgularında IVF başarısını predikte eden yeni ve güçlü belirteçlere ihtiyaç vardır. Bu sayede başarı şansı artarken teşhis ve tedavi maliyeti azalacaktır. Bu çalışma ile de serum ve follikül sıvısında VEGF, IL-1 $\beta$  ve glikodelin düzeylerinin klinik gebelik ile ilişkisini incelemeyi amaçladık. Siklus başlangıcı, "oocyte pick up (OPU)" günü ve follikül sıvısı ölçümleri ile hangi dönemde ve hangi noktada bu belirteçlerin daha etkili olabileceğini bulmayı hedefledik.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda, 01.06.2011 ve 01.05.2012 tarihleri arasında, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Ana Bilim Dalı Üreme Sağlığı/Tüp Bebek Ünitesine başvuran, açıklanamayan infertilite tanısı alan ve IVF uygulaması planlanarak OPU ve embriyo transferi (ET) işlemi yapılan 40 hasta değerlendirilmeye alındı.

Çalışma başlatılmadan önce Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan 24.10.2010 tarih ve 319 sıra numarası ile izin alınmıştır. Çalışma kapsamında değerlendirilen hastalar ayrıntılı olarak bilgilendirilmiş ve onamları alındıktan sonra çalışmaya alınmışlardır.

## HASTA SEÇİMİ

### Çalışmaya Katılma Kriterleri

Çalışmaya, 35 yaşın altında, sigara içmeyen, endometrioma, over kisti, geçirilmiş over cerrahi öyküsü olmayan, polikistik over sendromu (PKOS), tiroid fonksiyon bozukluğu veya ek endokrinolojik hastalığı bulunmayan hastalar alındı.

### PROTOKOL

Bu çalışma prospektif olarak düzenlenmiştir. Hastaların ilk başvurusunda alınan ve -20°C'de saklanan kanlar ve toplanan follikül sıvıları hasta sayısı tamamlandıktan sonra ilgili bölümce çalışılmıştır.

**Serum ve Follikül Sıvısı Parametrelerinin Ölçümü:** Çalışmaya dâhil edilen 40 hastanın siklusun ikinci-üçüncü günleri arasında ve OPU günü alınan kanları 1000xg'de 15'er dakika, OPU günü alınan follikül sıvıları ise 400xg'de 10'ar dakika santrifüj edilerek çalışma gününe kadar -20°C'de saklandı. Ölçümler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında "Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)" yöntemi kullanılarak HUMAN VEGF-RayBio ELISA kiti (RayBio, Norcross, Almanya) ile, IL-1 $\beta$ -DIA Source ELISA kiti (Dia Source Immunoassays, Neuve, Belçika) ile, HUMAN Glycodelin-Cusabio ELISA kiti (Cusabio Biotech, Hubei, Çin) ile yapıldı. ELISA okuyucusu tarafından otomatik olarak hesaplanan sonuçlar IL-1 $\beta$  ve VEGF için pg/mL, gli-kodelin için ng/mL birimleriyle rapor edilmiştir.

Hastalara standart uzun dönem gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH) agonist veya GnRH antagonist protokolleri ve gonadotropinler ile kontrollü ovaryen hiperstimülasyon yapıldı. GnRH-agonist protokol için, löprolid asetat 10 IU (Lucrin®, Abbott, İstanbul, Türkiye) bir önceki siklusun midluteal fazında başlanmıştır. Pituitier down regülasyon sonrası löprolid asetat dozu 5 IU'ye düşürüldü, rekombinant follikül stimüle edici hormon (rFSH) (Gonal-F®; Serono, İstanbul, Türkiye) başlandı ve insan koryonik gonadotropini (hCG) uygulama gününe kadar devam edildi. GnRH-antagonist multipl-doza-protokol için, rFSH (Gonal-F®; Serono, İstanbul, Türkiye) önce oral kontraseptif tedavisi olmadan menstrüal siklusun ikinci veya üçüncü günü

başlandı. Stimülasyonun altıncı günü, 0,25 mg Cetrotide® (Cetrotide®, Merck Serono, İstanbul, Türkiye) başlandı ve hCG uygulama gününe kadar devam edildi. Uygulanacak protokol ve gonadotropin dozları, optimal sayıda ve kalitede oosit elde edebilmek için, her hastanın yaşına, beden-kitle indeksine, bazal FSH ve estradiol (E<sub>2</sub>) düzeylerine ve tedaviye verdiği yanıtı göre seçildi. Minimum-maksimum dozlar 75-450 IU olacak şekilde tedaviye başlanmıştır. Tedavi, seri transvajinal ultrasonografi (TVUSG) ve serum E<sub>2</sub> ölçümleriyle takip edildi.

Her iki protokol için, rekombinant hCG (Ovitrelle®, Merck Serono, İstanbul, Türkiye)  $\geq 3$  follikül  $\geq 17$  mm'ye ulaştığında uygulandı. OPU, hCG uygulamasından 36 saat sonra sedasyon altında yapıldı. Tüm olgularda oosit toplanması, oosit ve embriyo manipulasyonları, embriyo kültürü ve ET işlemlerinde 'Falcon IVF/Intracytoplasmic sperm injection (ICSI)-ET medyum serisi' kullanıldı.

Ovulasyon indüksiyonu, ultrasonografik değerlendirmeler, OPU ve ET gibi işlemler üreme sağlığı merkezinde yürütüldü. Embriyolojik tüm değerlendirmeler (aspire edilen follikül sayısı, toplanan toplam oosit sayısı, toplam matür oosit sayısı, embriyo transfer edilen olgu sayısı) üreme sağlığı merkezinde embriyoloji laboratuvar sorumlusu embriyolog tarafından yapıldı.

Veriler biyoistatistik bölümünce SPSS 15,0 programı kullanılarak değerlendirildi. Değerlendirmelerde Mann Whitney U test ve Student T test kullanıldı. p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Açıklanamayan infertilite tanısıyla çalışmaya alınan 40 hastada adetini ikinci veya üçüncü günü alınan serum VEGF düzeylerinin ortalaması 305,55 $\pm$ 28,36 (pg/mL), IL-1 $\beta$  düzeylerinin ortalaması 31,85 $\pm$ 6,21 (pg/mL) ve gli-kodelin düzeylerinin ortalaması 2,27 $\pm$ 2,60 (ng/mL) olarak bulundu.

Bu grupta gebelik saptanan kişilerde ise VEGF düzeylerinin ortalaması 267,20 $\pm$ 57,40 (pg/mL), IL-1 $\beta$  düzeylerinin ortalaması 26,67 $\pm$ 5,13 (pg/mL), gli-kodelin düzeylerinin ortalaması 2,15 $\pm$ 0,21 (ng/mL) şeklinde ölçüldü.

Aynı grupta gebelik saptanmayanlarda VEGF düzeylerinin ortalaması  $318,34 \pm 32,85$  (pg/mL), IL-1 $\beta$  düzeylerinin ortalaması  $33,57 \pm 8,13$  (pg/mL), gli-kodelin düzeylerinin ortalaması  $2,32 \pm 0,54$  (ng/mL) şeklinde ölçüldü.

Değerlere göre açıklanamayan infertilite tanı-sıyla çalışmaya alınan hasta grubundaki 10 gebede gün 2-3 serum VEGF, IL-1 $\beta$  ve gli-kodelin düzeyle-rinin ortalamaları 40 kişilik tüm grubun ortalama-larının altında izlendi ve istatistiksel olarak belirgin anlamlı farklılık saptanmadı ( $p > 0,05$ ) (Tablo 1).

Açıklanamayan infertilitesi olan 40 kişilik grupta OPU günü alınan kandaki VEGF düzeyleri-nin ortalaması  $688,59 \pm 155,42$  (pg/mL), IL-1 $\beta$  dü-zeylerinin ortalaması  $23,17 \pm 2,77$  (pg/mL) ve gliko-delin düzeylerinin ortalaması  $10,96 \pm 2,68$  (ng/mL) olarak bulundu.

Değerlere göre açıklanamayan infertilite ta-nısıyla çalışmaya alınan hasta grubundaki 10 ge-

bede OPU günü serum VEGF ve gli-kodelin dü-zeylerinin ortalamaları 40 kişilik tüm grubun or-talamalarının altında izlenirken, IL-1 $\beta$  düzeyleri ortalamasının üstünde izlendi ve istatistiksel olarak belirgin anlamlı farklılık saptanmadı ( $p > 0,05$ ) (Tablo 2).

Açıklanamayan infertilite tanısıyla çalışmaya alınan 40 hastada follikül sıvılarından çalışılan VEGF düzeylerinin ortalaması  $2516,52 \pm 264,13$  (pg/mL), IL-1 $\beta$  düzeylerinin ortalaması  $16,12 \pm 1,14$  (pg/mL) ve gli-kodelin düzeylerinin ortalaması  $6,22 \pm 0,61$  (ng/mL) olarak bulundu.

Değerlere göre açıklanamayan infertilite ta-nısıyla çalışmaya alınan hasta grubundaki 10 ge-bede follikül sıvısı VEGF, IL-1 $\beta$  ve gli-kodelin düzeylerinin ortalamaları 40 kişilik tüm grubun ortalamalarının altında izlendi ve istatistiksel ola-rak belirgin anlamlı farklılık saptanmadı ( $p > 0,05$ ) (Tablo 3).

**TABLO 1:** Açıklanamayan infertil olgularda gün 2-3 serum VEGF, IL-1 $\beta$  ve gli-kodelin düzeyleri.

Gün 2-3 Serum	Açıklanamayan infertil grupta gebe kalanlar (n=10) $\bar{x} \pm Se$	Açıklanamayan infertil grupta gebe kalamayanlar (n=30) $\bar{x} \pm Se$	Açıklanamayan infertil grup (n=40) $\bar{x} \pm Se$	p değeri
VEGF (pg/mL)	267,20 $\pm$ 57,40	318,34 $\pm$ 32,85	305,55 $\pm$ 28,36	p>0,05
IL-1 $\beta$ (pg/mL)	26,67 $\pm$ 5,13	33,57 $\pm$ 8,13	31,85 $\pm$ 6,21	p>0,05
Gli-kodelin (ng/mL)	2,15 $\pm$ 0,21	2,32 $\pm$ 0,54	2,27 $\pm$ 2,60	p>0,05

$\pm Se$ : Mean aritmetik ortalamının standart hatası.

**TABLO 2:** Açıklanamayan infertil olgularda OPU günü serum VEGF, IL-1 $\beta$  ve gli-kodelin düzeyleri.

OPU Günü Serum	Açıklanamayan infertil grupta gebe kalanlar (n=10) $\bar{x} \pm Se$	Açıklanamayan infertil grupta gebe kalamayanlar (n=30) $\bar{x} \pm Se$	Açıklanamayan infertil grup (n=40) $\bar{x} \pm Se$	p değeri
VEGF (pg/mL)	427,74 $\pm$ 61,97	775,54 $\pm$ 204,63	688,59 $\pm$ 155,42	p>0,05
IL-1 $\beta$ (pg/mL)	25,23 $\pm$ 5,21	22,49 $\pm$ 3,30	23,17 $\pm$ 2,77	p>0,05
Gli-kodelin (ng/mL)	8,67 $\pm$ 2,23	11,72 $\pm$ 3,51	10,96 $\pm$ 2,68	p>0,05

$\pm Se$ : Mean aritmetik ortalamının standart hatası.

**TABLO 3:** Açıklanamayan infertil olgularda follikül sıvısı VEGF, IL-1 $\beta$  ve gli-kodelin düzeyleri.

Follikül sıvısı	Açıklanamayan infertil grupta gebe kalanlar (n=10) $\bar{x} \pm Se$	Açıklanamayan infertil grupta gebe kalamayanlar (n=30) $\bar{x} \pm Se$	Açıklanamayan infertil grup (n=40) $\bar{x} \pm Se$	p değeri
VEGF (pg/mL)	2049,26 $\pm$ 415,60	2672,27 $\pm$ 322,30	2516,52 $\pm$ 264,13	p>0,05
IL-1 $\beta$ (pg/mL)	15,98 $\pm$ 2,56	16,17 $\pm$ 1,29	16,12 $\pm$ 1,14	p>0,05
Gli-kodelin (ng/mL)	6,65 $\pm$ 1,69	6,08 $\pm$ 0,61	6,22 $\pm$ 0,61	p>0,05

$\pm Se$ : Mean aritmetik ortalamının standart hatası.

## TARTIŞMA

Açıklanamayan infertil olgularda IVF başarısını predikte edebileceğini düşündüğümüz VEGF, IL-1 $\beta$  ve glikodelin belirteçlerinin serum bazal ve OPU günü ölçümleri ile folliküler sıvı ölçümleri klinik gebelik prediksyonu açısından anlamlı saptanmamıştır.

YÜT'lerdeki tüm gelişmelere rağmen siklus başına canlı doğum oranı iki embriyo transferi ile %44 ve tek embriyo transferi ile %28'dir [Centers for Disease Control (CDC) 2012].<sup>11</sup> Hasta hakkında doğru bilgilenecek, uygun hastada uygun tedaviyi yapmak hastaların maddi ve manevi kaygılarını azaltmak ve başarılı sonuç elde edebilmek için gereklidir.<sup>12</sup> Bu nedenle tanı ve tedavide etkili olabileceği düşünülen VEGF, IL-1 $\beta$  ve glikodelin gibi yeni belirteçlerin araştırılması hız kazanmıştır.

İmplantasyonun biyokimyasal belirteçlerinin bulunmasıyla infertilite tedavisinde, çoğul gebeliklerin ve erken gebelik kayıplarının önlenmesinde önemli bir aşama sağlanabilir. Embriyo implantasyonunu öngörebilecek bir biyokimyasal belirteç, kolay saptanabilmeli ve IVF siklusuna zarar vermemesi için non-invaziv olmalıdır.

İmplantasyon belirteçlerinden biri olan glikodelin son zamanlarda araştırmalara konu olmuştur.

Liu ve ark. mikroenjeksiyon yapılan hastaların OPU ve ET günü serum glikodelin konsantrasyonlarını IVF sonuçlarıyla değerlendirdiklerinde gebe kalan ve kalamayan gruplar arasında anlamlı fark saptamamışlardır, ancak yine de OPU ve ET günü arasındaki serum glikodelin artışı ve glikodelin oranları gebe kalan gruplarda daha fazla bulunmuştur.<sup>13</sup> Westergaard ve ark. tarafından yapılan bir diğer çalışmada, daha düşük serum glikodelin seviyeleri saptanan hastalarda takip eden IVF sikluslarında daha yüksek klinik gebelik oranları saptanmıştır.<sup>14</sup> Bizim çalışmamızda ise gün 2-3 ve OPU günü serum glikodelin düzeyleri klinik gebelik saptananlarda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha düşük saptanmıştır.

Son 10 yılda; sitokinlerin, doğal sikluslarda ve ovarian stimülasyon sikluslarında kilit rol oynadığı düşünülmektedir.<sup>15</sup> Özellikle VEGF, TNF  $\alpha$  ve lep-

tinin oosit matürasyonu, fertilizasyon ve embriyo implantasyonunu etkileyen yönleri incelenmiş, ancak sonuçlar çelişkili olarak rapor edilmiştir.<sup>16</sup> VEGF, oosit ve dolayısıyla embriyo kalitesini etkileyen diğer önemli faktörlerden biridir.<sup>15</sup> Asimakopoulos ve ark.nın oosit aspirasyon günü yaptıkları serum VEGF incelemesinde, VEGF ölçümünün gebelik prediksyonunda anlamlı olmadığı saptanmıştır.<sup>15</sup> Yapmış olduğumuz çalışmada da gün 2-3 ve oosit aspirasyon günü serum ile follikül sıvısı VEGF konsantrasyonları gebe kalan hastalarda daha düşük saptansa da anlamlı farklılık saptanmamıştır. Coppola ve ark.nın yaptığı diğer önemli bir çalışmada ise embriyo transferi yapılan 71 kadının değerlendirildiği çalışmada folliküler parakrin çevrede eksprese edilen follikül sıvısı VEGF seviyeleri, ET sonrası gebe olmayanlarda gebe kalanlara göre yüksek saptanmıştır.<sup>17</sup> Biz de benzer şekilde gebe kalamayan grupta follikül sıvısı VEGF seviyelerini yüksek saptadık, ancak belirgin anlamlı farklılık yoktu.

İmplantasyon hızı serum IL-1 $\beta$  varlığından pozitif etkilenmektedir. Serum IL-1 $\beta$  varlığı gebelik oluşum şansını arttırmaktadır.<sup>8</sup> Sitokinlerin daha çok parakrin ve otokrin işlev modu olduğundan intrafolliküler konsantrasyonları ovaryen işlevlerdeki rollerini kan konsantrasyonlarından daha iyi yapmaktadır.<sup>18-24</sup> Bazı yeni çalışmalarda IVF'de embriyo gelişim safhasında intrafolliküler IL-1 seviyeleri ve oosit kalitesi arasında korelasyon gösterilmiştir.<sup>18,19</sup> Karagouni ve ark., IVF yapılan hastaların yaklaşık %20'sinde ölçülebilir düzeyde IL-1 $\beta$  saptamışlardır. Bu çalışmada, küçük oranda hastada saptanabilen IL-1 $\beta$  seviyelerine rağmen, IL-1 $\beta$  ile IVF hastalarında klinik sonuçlar arasında önemli ilişki gözlemlenmiştir.<sup>18</sup> Ancak, açıklanamayan infertil hastalarda yapmış olduğumuz çalışma sonucu gün 2-3 ve oosit aspirasyon günü serum ile follikül sıvısı IL-1 $\beta$  seviyelerinin gebelik oluşumu açısından etkili olmadığı saptanmıştır.

VEGF, glikodelin ve IL-1 $\beta$  moleküllerinin serum ve folliküler konsantrasyonları ile ilgili ortalama değerleri literatürde henüz tanımlanamamıştır; değişik çalışmalarda örnekleme periyotları ve çalışmalara göre hasta popülasyonları farklıdır.

Ayrıca ölçümlerde kullanılan ELISA sistemlerinin sensitivitesi farklıdır ve kullanılan testlerin değerleri folliküler sıvılar için spesifik değildir. Bunlar literatürdeki diğer çalışmalarda olduğu gibi, bizim çalışmamızın da majör limitasyonlarını oluşturmaktadır. Çalışmamızdaki bir diğer majör limitasyon ise oosit/embriyo morfoloji farklılığının VEGF, glikodelin ve IL-1β ile ilişkisinin değerlendirilmesidir. Bizim çalışma popülasyonumuz bu tip analizin uygulanması için çok küçüktü. Ayrıca, endometriyal biyopsi örnekleme, implantasyon

belirteçleri için en özgün yöntem olmasına rağmen IVF sikluslarında embriyo transferi öncesi uygulanması etik sorunları beraberinde getirir. Bu nedenle her ne kadar çalışmada kısıtlılık yaratsa da hastalardan IVF öncesi endometriyal biyopsi alınması uygun görülmemiştir.

Sonuç olarak bu moleküllerin, büyüme faktörleri ve sitokin aileleriyle ilgili diğer moleküllerin geniş sayıda ve diğer tiplerde infertiliteye sahip hasta grubu ile yapılacak daha ileri çalışmalarda araştırılması gerekir.

## KAYNAKLAR

- Çiçek MN, Mollamahutoğlu L. [Implantation of Human Embryo]. A'dan Z'ye Yardımcı Üreme Teknikleri. 1. Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 2009.p.121-5.
- Aghajanova L, Hamilton AE, Giudice LC. Uterine receptivity to human embryonic implantation: histology, biomarkers, and transcriptomics. *Semin Cell Dev Biol* 2008;19(2):204-11.
- Strowitzki T, Germeyer A, Popovici R, von Wolff M. The human endometrium as a fertility-determining factor. *Hum Reprod Update* 2006;12(5): 617-30.
- Lee J, Oh J, Choi E, Park I, Han C, Kim do H, et al. Differentially expressed genes implicated in unexplained recurrent spontaneous abortion. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39(12):2265-77.
- Hassa H. [Cytokines and Endometrial Receptivity]. İnfertil Olgulara Klinik Yaklaşım ve IVF Laboratuvar Uygulamaları. 1. Baskı. Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi Basımevi; 2003.p.63-81.
- Quaas A, Dokras A. Diagnosis and treatment of unexplained infertility. *Rev Obstet Gynecol* 2008;1(2):69-76.
- Monteleone P, Giovanni Artini P, Simi G, Casarosa E, Cela V, Genazzani AR. Follicular fluid VEGF levels directly correlate with perifollicular blood flow in normoresponder patients undergoing IVF. *J Assist Reprod Genet* 2008;25(5): 183-6.
- Bonetti TC, Salomao R, Brunialti M, Braga DP, Borges E Jr, Silva ID. Cytokine and hormonal profile in serum samples of patients undergoing controlled ovarian stimulation: interleukin-1beta predicts ongoing pregnancy. *Hum Reprod* 2010; 25(8):2101-6.
- Halttunen M, Kämäräinen M, Koistinen H. Glycodelin: a reproduction-related lipocalin. *Biochim Biophys Acta* 2000;1482(1-2):149-56.
- Özcan C. [Development of Embryo]. Delibaşı L, editör. *In Vitro Fertilizasyon (IVF) Laboratuvar Yöntemleri (Yeni Uygulamalar ve Güncel Yaklaşım)*. 1. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevleri; 2008. p.117-25.
- Centers for Disease Control and Prevention, American Society for Reproductive Medicine, Society for Assisted Reproductive Technology. 2010 Assisted Reproductive Technology National Summary Report. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services; 2012. p.1-71
- Speroff L, Fritz MA, [Infertility]. Erk A, Günalp S, editörler. *Klinik Jinekolojik Endokrinoloji Ve İnfertilite*. 7. Baskı. Ankara-İstanbul: Güneş Tıp Kitabevleri; 2007. p.1013-274.
- Liu HM, Xing FQ, Wu FL. [Glycodelin in IVF-ET cycles: its association with endometrial receptivity and impact on the outcome of pregnancy]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2006;26(8):1227-9.
- Westergaard LG, Wiberg N, Andersen CY, Laursen SB, Kliem A, Westergaard JG, et al. Circulating concentrations of placenta protein 14 during the natural menstrual cycle in women significantly reflect endometrial receptivity to implantation and pregnancy during successive assisted reproduction cycles. *Hum Reprod* 1998; 13(9):2612-9.
- Asimakopoulos B, Nikolettos N, Papachristou DN, Simopoulou M, Al-Hasani S, Diedrich K. Follicular fluid levels of vascular endothelial growth factor and leptin are associated with pregnancy outcome of normal women participating in intracytoplasmic sperm injection cycles. *Physiol Res* 2005;54(3): 263-70.
- Adashi EY, Resnick CE, Packman JN, Hurwitz A, Payne DW. Cytokine-mediated regulation of ovarian function: tumor necrosis factor alpha inhibits gonadotropin-supported progesterone accumulation by differentiating and luteinized murine granulosa cells. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162(4): 889-96; discussion 896-9.
- Coppola F, Ferrari B, Barusi L, Caccavari V, Salvarani MC, Piantelli G. Follicular fluid levels of vascular endothelial growth factor and early corpus luteum function during assisted reproductive technology cycles. *J Exp Clin Assist Reprod* 2005;2: 13. doi: 10.1186/1743-1050-2-13
- Karagouni EE, Chryssikopoulos A, Mantzavinos T, Kanakas N, Dotsika EN. Interleukin-1beta and interleukin-1alpha may affect the implantation rate of patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 1998;70(3):553-9.
- Hammadeh ME, Fischer-Hammadeh C, Amer AS, Rosenbaum P, Schmidt W. Relationship between cytokine concentration in serum and preovulatory follicular fluid and in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection outcome. *Chem Immunol Allergy* 2005;88:80-97.
- Büscher U, Chen FC, Kentenich H, Schmiady H. Cytokines in the follicular fluid of stimulated and non-stimulated human ovaries; is ovulation a suppressed inflammatory reaction? *Hum Reprod* 1999;14(1):162-6.
- Mendoza C, Ruiz-Requena E, Ortega E, Cremades N, Martinez F, Bernabeu R, et al. Follicular fluid markers of oocyte developmental potential. *Hum Reprod* 2002;17(4):1017-22.
- Asimakopoulos B, Abu-Hassan D, Metzner E, Al-Hasani S, Diedrich K, Nikolettos N. The levels of steroid hormones and cytokines in individual follicles are not associated with the fertilization outcome after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2008;90(1):60-4.
- Asimakopoulos B, Köster F, Felberbaum R, Al-Hasani S, Diedrich K, Nikolettos N. Cytokine and hormonal profile in blood serum and follicular fluids during ovarian stimulation with the multidose antagonist or the long agonist protocol. *Hum Reprod* 2006;21(12):3091-5.
- Nikolettos N, Asimakopoulos B, Köster F, Schöpfer B, Schulz Ch, Caglar GS, et al. Cytokine profile in cases with premature elevation of progesterone serum concentrations during ovarian stimulation. *Physiol Res* 2008;57(2):215-24.