

IVF Uygulamalarında Embriyoların Kültür Ortamına

Salgıladıkları HLA-G'nin İmplantasyon Oranlarına Etkisi

Effect of HLA-G Secreted By Embryo In Culture Median on Implantation Rate in IVF

Mehmet Köksal¹, Recep Eröz², Nurhan Cücer¹

¹ Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, Kayseri

² Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD, Düzce

Sorumlu Yazar:

Dr. Mehmet KÖKSAL

İletişim Adresi:

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, Kayseri

Tel: 0(352)2076666-23337

e-mail: mekoksal@hotmail.com

Özet

Giriş: Bu çalışma ile sHLA-G'nin, kaliteli embriyonun seçiminde bir ölçüt olup olmayacağını araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda, değerlendirmeye alınan 38 hastadan elde edilen Folikül sıvısı, kan ve embriyo kültür medyasında sHLA-G konsantrasyonlarını ölçtük. Hasta grubunu, gebe kalanlar (n=15) ve kalmayanlar (n=23) olmak üzere 2 gruba, gebe kalanları da, görülen gebelik kesesi sayısı, 1 (n=5) ve 2 tane olanlar (n=10) olmak üzere iki gruba ayırdık.

Bulgular: Hastaların, Folikül sıvısı ve kanlarındaki sHLA-G miktarı ile β hCG değerleri arasında bir korelasyon saptadık (sırasıyla $r=0,357;p<0,05$ ve $r=0,730;p<0,05$). Ancak, hastaları, gebe olanlar (aynı sırasıyla $r=0,146;p>0,05$ ve $r=0,089;p>0,05$) ve olmayanlar (aynı sıra ile $r=0,284;p>0,05$ ve $r=0,366;p>0,05$) diye ayırdığımızda iki grupta da bir korelasyon olmadığını tespit ettik. Bir hastaya transfer edilen tüm embriyoların toplam sHLA-G değeri ile görülen gebelik kesesi sayısını karşılaştırdık ve aralarında bir korelasyon olduğunu tespit ettik ($r=0,544; p<0,05$). Gebe kalan hastaları, gebelik kesesi sayısına göre ayırarak oluşturduğumuz iki grubun karşılaştırılmasında da gruplar arasında anlamlıya oldukça yakın bir fark görüldü ($=0,05$). sHLA-G'nin etkisinin daha net görülebilmesi için, transfer edilen embriyolar sHLA-G(+) ve sHLA-G(-) olarak işaretlenip karşılaştırıldığında ise sHLA-G(+) embriyo sayısı arttıkça gebelik oranının arttığını gözlemledik.

Sonuç: Embriyonun salgıladığı sHLA-G miktarı arttıkça implantasyon ihtimalinin arttığını düşünüyoruz. Ancak, sHLA-G miktarı yüksek olduğu halde gebelik elde edilmeyen hastaların olması, sHLA-G'nin önemli bir etken olduğunu ama tek başına etkili olmadığını düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Embriyo, ICSI, sHLA-G

Abstract

Introduction: One of the most important risk of IVF is multiple pregnancy. The studies that aim to prevent to multiple pregnancy based on the selection of the most quality embryo. We intended to research the potential of sHLA-G levels to be a criteria for prediction of embryo quality for in vitro fertilization.

Material and Method: Concentration of sHLA-G in culture media, follicular fluid and blood samples obtained from 38 patients were analysed. The patient group were divided two group as not pregnant (n=23) and pregnant (n=15) that including separated into 2 groups the number of common gestational sac with one (n=5) and two (n=10).

Results: We found a corelation between β hCG and that sHLA-G levels in Follicular Fluid and blood of patient ($r=0.357; P<0.05$ and $r=0.730; P<0.05$, respectively). But when we divided the patients as pregnant ($r=0.146; P>0.05$ and $r=0.089; P>0.05$) and non-pregnant ($r=0.284; P>0.05$ and $r=0.366; P>0.05$, respectively), we detected that there was no corelation between the two groups. When we compared the sHLA-G values of all transferred embryo and the number of common gestational sac and detected a corelation ($r=0.544; P<0.05$). This relationship was seen as near to meaningful in the comparison of the two group created to GCS ($P=0.05$). To make the corelation more clear, we marked transferred embryos as sHLA-G (+) and sHLA-G (-). Thus we detected that when the transferred sHLA-G (+) embryo number increased, also the rate of pregnancy increased, too.

Conclusion: We thought that when the sHLA-G secreted by embryo increases, the

implantation ratio increase, too. But there are the non-pregnant patients who are transferred embryo which have high levels sHLA-G, it was thought that sHLA-G is important but is not sufficient alone for occuring of the pregnancy.

Key words : Embryo, ICSI, sHLA-G

Giriş

Embriyonun implantasyonu insan üremesinde en önemli etkidir. In vitro fertilizasyon (IVF) nedeniyle oluşan çoğul gebelikleri önlemeye yönelik çalışmalar hem anne, hem de bebeklerin hastalık ve ölüm oranlarını azaltacaktır. Tekiz doğumların başarılmasını sağlamak için, IVF ile oluşturulan embriyolardan sağlıklı bir bebek oluşturma potansiyeli olan tek bir tanesinin saptanıp, transfer edilmesi son derece önemlidir. İmplantasyon öncesi embriyo sağlığını değerlendirmek için başta morfolojik ve genetik ölçütler kullanılmaktadır (1). Ancak, morfolojik değerlendirme kaliteli embriyo seçilebilmesinde kesin bir ölçüt olamazken nispeten daha kesin bilgi verebilecek olan genetik yöntemler ise girişimsel olmaları nedeniyle sakıncalıdır. Bu amaç için en uygun yöntem embriyoyu saran hücre kültürü ortamından bir bölümün analizinin yapıldığı, tümüyle girişimsel olmayan bir embriyo değerlendirmesi olabilir. Bazı çalışmalar, Soluble Human Leukocyte Antigen G (sHLA-G)'nin, In Vitro Fertilizasyon (IVF) veya Intracitoplazmik Sperm enjeksiyonu (ICSI) ile oluşturulmuş embriyoların kültür ortamındaki gebelik başarı şansının göstergesi olarak kullanılabileceğini bunun çoğul gebelik riskini de azaltabileceğini bildirmektedir (2-8).

Tüp bebek uygulamalarında embriyolar arasından genellikle morfolojilerine göre en kaliteli görünen birkaç tanesi seçilerek transfer edilmektedir. En iyi görünüme sahip embriyolar transfer edilmesine rağmen, implantasyon ve klinik gebelik oranları halen istenilen düzeylere ulaşamamıştır (1). Yukarıda da belirtildiği gibi, IVF embriyoları, transfere kadar gelişimlerini sürdürdükleri kültür ortamına sHLA-G salgılamaktadırlar. Yapılan araştırmalar, sHLA-G miktarının pozitif implantasyon oranlarıyla doğru orantılı olduğu yönünde bilgiler vermektedir (2-8).

Çalışmamızla, kaliteli embriyonun seçilmesinde, embriyonun sadece morfolojik görünümüyle ilgili ölçütlere bağlı kalmadan; iç işleyişinin bir ürünü olan sHLA-G'nin iyi bir ölçüt olup olmayacağını göstermek amaçlanmaktadır. Bu sayede, transfer için uygun embriyoların seçiminde çözüm önerileri getirilebilecektir.

Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Gevher Nesibe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tüp Bebek Ünitesine, infertilite ön tanısıyla başvuran ve infertil oldukları saptanan 38 hasta değerlendirilmeye alındı. Çalışmamız için Üniversitenin Etik kurulundan onay alındı. Hastaların seçiminde, yaş sınırlaması yapılmadı. Çalışmaya alınan hastaların, Transfer edilen embriyo sayısı, transfer edilen embriyonun alındığı droplet numarası, β hCG değeri, ultrason incelemesinde gözlenen gebelik kesesi sayısı (GKS), kadın yaşı bilgileri kaydedildi.

Folikül sıvısı (FS) örnekleri, anne adayına İnsan koryonik gonadotropininin (hCG) verilmesinden 34-36 saat sonra yapılan Oosit pick up (OPU = Yumurta toplama) işlemi sırasında alındı ve daha sonra santrifüj edildi. Bu örnekler deney zamanına kadar -20°C 'de saklandı.

Çalışmamızda, en fazla 3 embriyonun transfer edildiği hastalar kullanıldı. Hastaların tümünde, embriyo transferleri, OPU işlemi takibeden 3. günde yapıldı. Embriyo transferinden arta kalan kültür medyası alınarak, ependorf tüplere kondu ve -20°C 'de saklandı.

Transferin 14. gününde hastalardan alınan kanda yapılan İnsan koryonik gonadotropinini β alt ünitesi (β hCG testi) tespiti yapılarak, sonuçları kaydedildi. Aynı gün alınan kanın, serumu ayrılıp sHLA-G analizinde kullanılmak üzere -20°C 'de saklandı.

Gebeliğin 7. haftasında yapılan ultrason takibi ile gebelik kesesi kontrol edilerek implante olmuş embriyo sayısı belirlenebilmektedir. GKS, implante olmuş embriyo sayısını gösterir.

Yapılan işlemler sırasında Bio-Tek Instrument MicroQuant Micropleyt reader ve Bio-Tek Instrument ELX-50 Micropleyt reader ELISA cihazları kullanıldı.

Hazırlanan standartların absorbans eğrisi ile oluşturulan standart grafiğinden hastaların FS ve kan serumu örneklerine ait absorbanslara karşılık gelen konsantrasyon değerleri hesaplandı. Standartlardan elde edilen absorbans değerlerine göre 0,351'in üzerindeki absorbans değerleri sHLA-G(+) olarak belirlenmiştir. Bu da 14,969 U/ml ye denk gelmektedir bundan dolayı bu değerlerin üstündeki değerlere sahip embriyolar, sHLA-G(+) olarak, altındakiler ise sHLA-G(-) kabul edildi.

Çalışma Grupları

Çalışmamızda hastaları, gebe kalanlar (n=15) ve kalmayanlar (n=23) olmak üzere 2 gruba ayırarak ve gebe kalanları da, görülen gebelik kesesi sayısı 1 tane olanlar (n=5) ve 2 tane olanlar (n=10) olmak üzere göre iki gruba ayırarak yaptık.

Verilerin değerlendirmesinde SPSS (15.0) istatistik paket programı kullanıldı. Veriler

Bulgular

Gebeliğin göstergesi olan β hCG değeri ile, farklı ortamlardaki sHLA-G miktarları arasında yaptığımız korelasyon

Tablo 1: Hastaların tamamında, β hCG değeri ile farklı ortamlardaki sHLA-G miktarları arasında yapılan korelasyon analizi

Hasta Grubu (n:38)			
β hCG Değeri			
	HS	R	p
Kandaki sHLA-G Değeri	38	0,730	0,000
FS'deki sHLA-G Değeri	38	0,357	0,028
Droplet 1'deki sHLA-G Değeri	38	-0,028	0,866
Droplet 2'deki sHLA-G Değeri	33	-0,059	0,744
Droplet 3'deki sHLA-G Değeri	28	0,163	0,406

HS: Hasta Sayısı

FS:Folikül Sıvısı

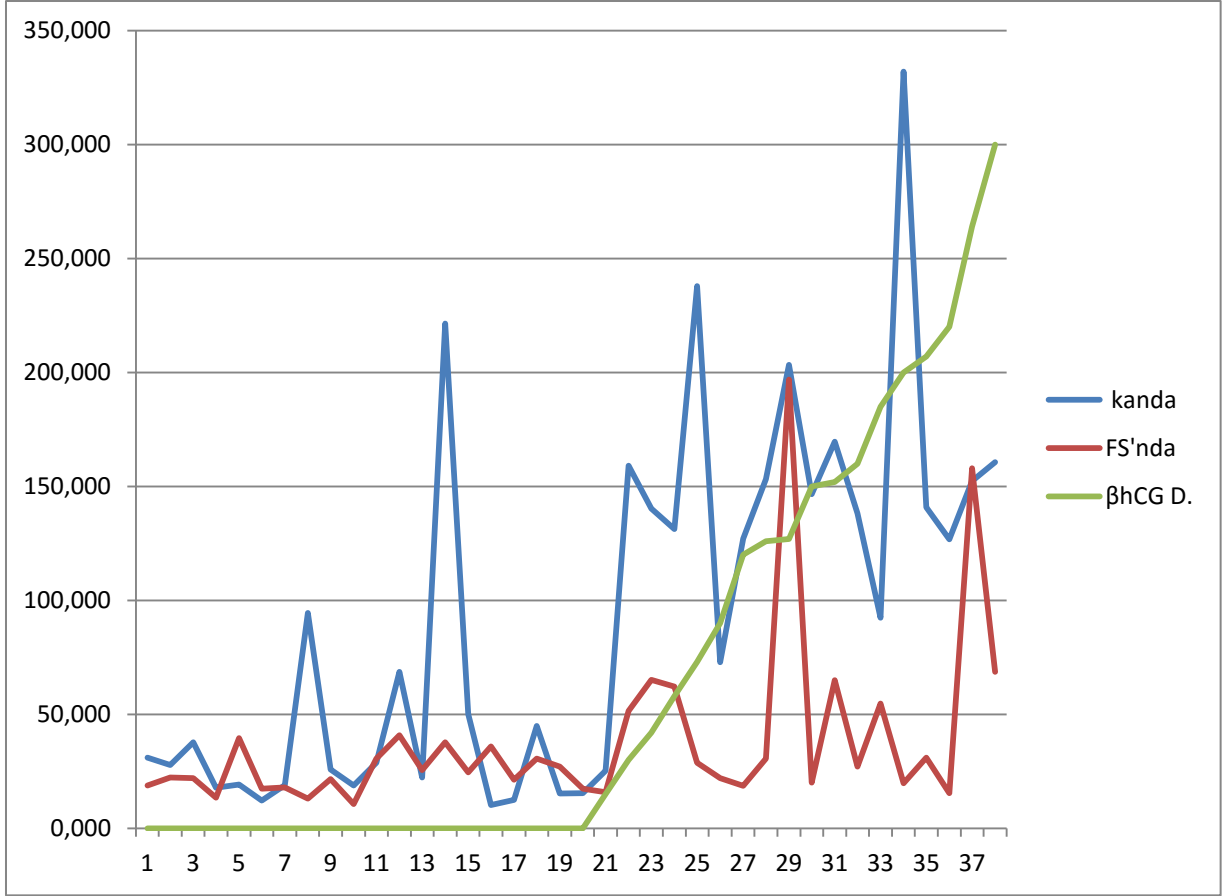
r:Spearman korelasyon katsayısı

Hastaların β hCG değeri ile folikül sıvısındaki ve kandaki sHLA-G miktarı

arasındaki ilişki aşağıdaki grafikte de (Sekil 1) görülebilmektedir.

Ortalama±Standart Sapma şeklinde verildi. $P<0,05$ düzeyi anlamlı olarak kabul edildi. Yapılan normallik testine göre, veriler normal dağılmadığı için parametrelerin korelasyon analizinde non-parametrik testlerden spearman korelasyon analizi ve grupların karşılaştırılmasında da Mann Whitney U testi kullanıldı.

analizi tablosu aşağıda yer almaktadır (Tablo 1). Görüldüğü gibi, β hCG değeri ile kandaki ($r=0,730$ - $P<0,001$) ve folikül sıvısındaki ($r=0,357$ - $P<0,05$) sHLA-G miktarı arasında pozitif bir ilişki bulunmasına rağmen; dropletlerdeki sHLA-G miktarı arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır.



Şekil 1: Kandaki ve Folikül sıvısındaki sHLA-G miktarı ile β hCG değeri arasındaki ilişki.

Grafik (Şekil 1), β hCG değerleri küçükten büyüğe doğru sıralanarak oluşturulmuştur. Bu değer, gebe kalmayan ilk yirmi hastada 0 U/L olarak ölçülmüştür. Sonraki üç hastada ise 0 U/L'nin üzerinde ölçümler yapılmış olsa da gebelik kesesi

görülmediği için, bu hastaların da gebe olmadığına karar verilmiştir.

Sonraki on beş hasta ise gebe kalan hastalar olup, her iki gruba ait, β hCG değerleri ile FS ve kandaki sHLA-G miktarları Tablo 2 de görülebilir.

Tablo 2:Gebe olan ve olmayan hastalardaki β hCG değeri ile FS ve kandaki sHLA-G miktarları

		HS	Minimum	Maksimum	Ortalama \pm SS
Gebe Olanlar	βhCG	15	58	300	162,13 \pm 68,277
	FS'deki sHLA-G Değeri	15	15,38	196,88	54,585 \pm 53,544
	Kandaki sHLA-G Değeri	15	72,85	332,00	158,989 \pm 62,047
Gebe Olmayanlar	βhCG	23	0	42	3,78 \pm 10,787
	FS'deki sHLA-G Değeri	23	10,62	65,20	27,006 \pm 13,240
	Kandaki sHLA-G Değeri	23	10,20	221,52	48,634 \pm 54,753

HS:Hasta Sayısı SS: Standart Sapma

Hastaların, gebe kalıp kalmamalarına göre oluşturulan gruplar arasında analiz yapıldığında, ne folikül sıvısındaki, ne de

kandaki sHLA-G miktarı ile β hCG değeri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilebildi (Tablo 3).

Tablo 3: Gebe olanlar ve olmayanlardaki, β hCG ile farklı ortamlardaki sHLA-G değerlerinin korelasyon analizi

		βhCG Değeri		
		HS	r	p
Gebe Olmayanlar	Kandaki sHLA-G Değeri	23	0,366	0,086
	FS'deki sHLA-G Değeri	23	0,284	0,188
	Droplet 1'deki sHLA-G Değeri	23	0,035	0,875
	Droplet 2'deki sHLA-G Değeri	18	-0,103	0,683
	Droplet 3'deki sHLA-G Değeri	14	0,094	0,750
Gebe Olanlar	Kandaki sHLA-G Değeri	15	0,089	0,752
	FS'deki sHLA-G Değeri	15	0,146	0,603
	Droplet 1'deki sHLA-G Değeri	15	0,013	0,965
	Droplet 2'deki sHLA-G Değeri	15	-0,489	0,064
	Droplet 3'deki sHLA-G Değeri	14	0,424	0,131

HS: Hasta Sayısı

FS:Folikül Sıvısı

r:Spearman korelasyon katsayısı

İmplantasyonun hangi dropletteki embriyodan kaynaklandığını bilmemiz mümkün olmadığı için bu kıyaslamayı, bir hastaya transfer edilen embriyoların bulunduğu dropletlerdeki toplam sHLA-G

miktarı ile GKS arasında yaptık ve aralarında bir korelasyon olduğunu tespit ettik ($r=0,544-p<0,05$) (Tablo 4). Bu ilişki Şekil 2'de de görülebilmektedir.

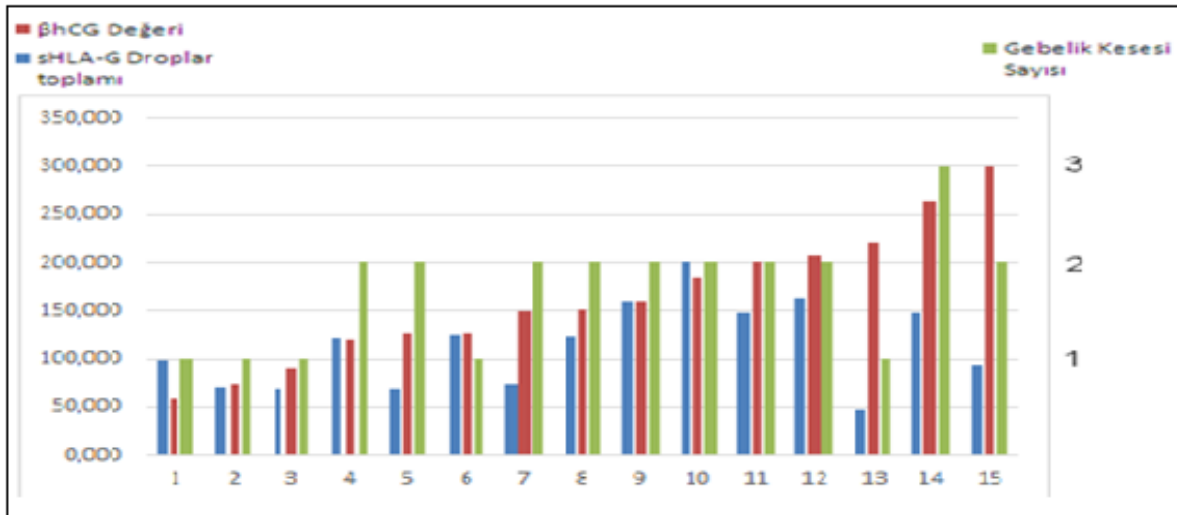
Tablo 4: Gebe olanlarda, dropletlerdeki toplam sHLA-G miktarı ile kanda ve FS'ndaki sHLA-G miktarları ile Transfer edilen embriyo sayısı ve Görülen gebelik kesesi sayısı arasında yapılan korelasyon analizi

Gebe Olanlar			
Dropletlerdeki Toplam sHLA-G Değeri			
	HS	r	P
Kandaki sHLA-G Değeri	15	0,075	0,791
FS'deki sHLA-G Değeri	15	0,382	0,160
Transfer edilen embriyo sayısı	15	-0,124	0,660
Görülen gebelik kesesi sayısı	15	0,544	0,036
βhCG değeri	15	0,364	0,182

HS: Hasta Sayısı

FS:Folikül Sıvısı

r:Spearman korelasyon katsayısı



Şekil 2: Gebe kalan hastalardan elde edilen βhCG değeri, Dropletlerin toplam sHLA-G miktarı ve Görülen gebelik kesesi sayısı arasındaki ilişki.

Hastaları gebe kalıp kalmamalarına göre, gebe kalanları da GKS 1 olanlar ve 2 olanlar olmak üzere gruplara ayırarak değerlendirdiğimizde, aşağıdaki sonuçları

elde ettik (Tablo 5). Bu karşılaştırmayı yaparken, sadece bir hastada gebelik kesesinin 3 tane olduğu belirlenmiş ve bu hasta 2. gruba dahil edilmiştir.

Tablo 5: Gebe kalanlar ve gebe kalmayanlar grupları ile Görülen gebelik kesesi sayısı (GKS) 1 olanlar ve 2 olanlar gruplarının, elde edilen βhCG değeri ve Dropletlerin toplam sHLA-G miktarı yönünden karşılaştırılması.

Gebelik	GKS	HS	βhCG±SS	P	Z	DT±SS	P	Z
Var	-	15	162,13±68,27			113,95±44,05		
		7		0,00	-5,573		0,066	-
Yok	-	23	3,78±10,787	0		110,89±83,75		1,837
-	1	5	113,6±64,8			81,84±30,35		
-	2	10	186,4±58,5	0,36	-0,911	129,99±41,84	0,05	-
		2						1,960

GKS: Görülen gebelik kesesi sayısı, HS: Hasta Sayısı P: Anlamlılık değeri, DT: Dropletler toplamı, SS: Standart Sapma, Z: Mann Whitney U testi değeri.

Tablo 5'te görülebileceği gibi, gebe olanlarla, gebe olmayanların β hCG değerleri beklendiği gibi anlamlı derecede farklıdır ($P<0,001$). Buna karşılık β hCG değerleri gebelik kesesi sayısı 2 olanlarda, 1 olanlara göre yüksek olsa da, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. ($P>0,05$). Dropletlerdeki toplam sHLA-G miktarı ise, hem gebelik durumuna göre, hem de görülen gebelik kesesi sayısına göre yapılan değerlendirmede aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmasa da P değerleri sırasıyla 0,066 ve 0,05 olarak bulunmuştur.

Çalışmaya dahil ettiğimiz hastalara eşit sayıda embriyo transfer edilmediği için, elde edilen gebeliklerin sebebi embriyo sayısının fazla olması da olabilirdi. Bu durumu bertaraf etmek için sadece 3 embriyonun transfer edildiği 28 hastayı kendilerine transfer edilmiş olan embriyoları, sHLA-G(+) ve sHLA-G(-) olarak ayırarak karşılaştırdık. Bu hastalardan, 2 sHLA-G(+), 1 sHLA-G(-) embriyo verilen 10 hastanın 4'ünde (% 40) gebelik varken, 3 sHLA-G(+) embriyo verilen 18 hastadan 10 tanesi (% 56) gebe kaldı.

Tartışma ve Sonuç

Morfolojik değerlendirmeler transfer için en iyi embriyoların seçiminde ipucu vermekte ancak, embriyonun implantasyon potansiyelini göstermekten uzak ya da yetersiz görünmektedir. Morfolojik olarak son derece kaliteli embriyoların transfer edildiği hastalarda gebelik elde edilemediği gibi, nispeten çok daha düşük kalitede embriyonun transfer edildiği hastalarda gebelik oluşabilmektedir. Bu durum, embriyo

transferi sırasında ya da sürecin herhangi bir aşamasında bir aksaklık olduğunu veya sadece morfolojinin iyi bir ölçüt olamayacağını düşündürmektedir.

Yapılan çalışmalarda sHLA-G'nin hedef hücre yüzeyindeki ekspresyonunun NK (Naturel Killer) hücrelerinin oluşumunu etkileyip etkilemediği incelenmiş ve HLA-G'nin NK sitotoksitesinin inhibisyonunda önemli rol aldığı görülmüştür (3-8). HLA-G'nin NK hücreleri üzerine immun sistemin baskılanması yönündeki bu etkisi HLA-G varlığının, embriyoların uterusu implantasyonunda etkili olabileceği fikrini beraberinde getirmiş ve bu konuda birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların çoğunda HLA-G'yi salgılayan embriyoların transfer edildiği olgulardan elde edilen gebelik oranları daha fazla bulunmuştur (2-8).

Roberta Rizzo ve ark. IVF uygulamalarında HLA-G'nin implantasyon kontrolünde önemli bir anahtar rol oynadığını belirtmişlerdir. 1987 ile 2005 yılları arasında yapılan uygulamaların geriye dönük değerlendirmesini yapmışlar ve sHLA-G varlığının pozitif gebelik sonuçlarıyla ilişkili olduğunu göstermişlerdir (9). Bu sonuçlar, bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sHLA-G (+) embriyo sayısı arttıkça gebelik oranlarımızın artması sonucuyla uyumludur.

Fuzzi ve ark yaptıkları bir çalışmada uygulama yaptıkları 66 hastadan 26'sının embriyolarından hiçbirinde sHLA-G sentezi saptayamadıklarını ve bu hastaların hiçbirinin gebe kalmadığını bildirmişlerdir (10). Biz ise gebe kalmayan hastalara transfer edilen embriyoların da sHLA-G sentezi yaptığını saptadık. Hatta bizim hastalarımızın her birine, en az 1 tane sHLA-G(+) embriyo transfer edildi. Bunun

nedeni, sHLA-G ölçümünde kullanılan yöntem ya da kit'in farklılığı da olabilir.

Ober ve ark. HLA-G promotor bölgelerindeki varyasyonlarla ilgili bir çalışmalarıyla sHLA-G geninde görülen 725 C/G polimorfizminin varlığında, düşük oranlarının arttığını göstermişler (11). Bu konuda yapılacak yeni çalışmalarla sHLA-G'nin implantasyondaki etkinliğinin genetik düzeyde araştırılması ve olumlu sonuç alınması halinde, IVF hastalarında uygulama öncesi HLA-G gen analizi yapılması yararlı olabilir.

Shaikly ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada anne plazması ve foliküler sıvıda tespit ettikleri sHLA-G düzeyinin, embriyo ya da embriyo süpernatandaki sHLA-G konsantrasyonu ile korelasyon göstermediğini bulmuşlar (12). Bizim bulgularımız da β hCG değeri ile kandaki ve FS'ndaki sHLA-G miktarı, gebe kalanlar ve kalmayanlar ayrı ayrı değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon göstermedi. Ancak, hastaların tamamını birlikte değerlendirdiğimizde bir korelasyon gözlenmesinin, gebe olmayanlara ait β hCG değerlerinin, çoğunlukla 0 ve 0'a yakın, gebe olanların ise 0'dan çok daha yüksek değerlere sahip olmasından kaynaklandığı, bu durumun, bir korelasyon olmamasına rağmen anlamlı bir ilişki varmış gibi sonuç elde etmemize sebep olduğu anlaşıldı.

Hastalara 2 veya daha çok sayıda embriyo transfer edilmiş olması kültür medyasındaki sHLA-G konsantrasyonu ile β hCG değeri arasında benzer bir korelasyon kurmamıza engel oldu. O nedenle kültür medyasındaki karşılaştırmayı, bir hastaya transfer edilen embriyoların sentezlediği sHLA-G miktarını toplayarak yaptık. Zira

embriyolar birlikte transfer edildiği için bir embriyonun salgıladığı sHLA-G diğer embriyolar için de etkili olmuş olabilir. Dolayısıyla embriyoların uterusda düştükleri noktaların birbirlerine uzaklığı da implantasyonu etkiliyor olabilir. Aynı hastaya ait dropletlerdeki toplam sHLA-G miktarı ile görülen gebelik kesesi sayısı arasında bir korelasyon olması ve GKS'na göre ayırdığımız gruplar arasında da anlamlıya çok yakın bir fark bulunması bu fikrimizi desteklemektedir.

Bulguların ışığında ortaya çıkan sonuç, embriyonun salgıladığı sHLA-G'nin kaliteli embriyoyu tespit etmede bir ölçüt olabileceği yönündedir. sHLA-G (+) ve sHLA-G (-) embriyolar arasında yapılan karşılaştırma sonucunda, transfer edilen sHLA-G (+) embriyo sayısı arttıkça hastaların gebe kalma ihtimalinin arttığı sonucuna vardık. Ancak, sHLA-G miktarı ile GKS arasında bir ilişki olmasına karşın, yüksek sHLA-G miktarına rağmen gebelik elde edilemeyen hastaların varlığı; embriyo morfolojisi gibi, sHLA-G miktarının da önemli bir etken olduğunu ama tek başına etkili olmadığını düşündürmektedir.

sHLA-G analizinin IVF uygulamalarında rutin olarak kullanılabilirliğinin, birçok ülkede olduğu gibi ülkemizde de transfer edilen embriyo sayısında kesin bir sınırlama olmamasından, ayrıca testin uzun zaman almasından dolayı yaygınlaşmadığını düşünüyoruz. Tüp bebek merkezleri ek maliyet ve iş gücü gerektirmesi gibi nedenlerden dolayı hala çok sayıda embriyo transferini tercih etmektedir. Oysa uygun embriyoların seçilerek gebelik şansının artırılması ve çoğul gebelik riskinin azaltılmasının uzun vadede aile ve ülke ekonomisi bakımından olduğu kadar sosyopsikolojik yönden de son derece faydalı olacağı kanısı yaygındır.

Not: Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSY-B-394 no'lu proje ile desteklenmiştir

Teşekkür

Çalışmamız için materyal sağlamış olduğumuz, Erciyes Üniversitesi Tüp Bebek Ünitesinin Personeli, Prof Dr Ercan M.AYGEN, Prof Dr Yılmaz SAHİN, Prof Dr Birkan YAKAN ve Tüm ünite personeline teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Rødgaard T, Heegaard PMH, Callesen H. Non-invasive assessment of in-vitro embryo quality to improve transfer success. *Reproductive BioMedicine Online*. 2015;31:585–92.
2. Dirk K, Thinus FKD, Carl L, Trishanta P, Levent K, Geoffrey S. The effect of the biochemical marker soluble human leukocyte antigen G on pregnancy outcome in assisted reproductive technology-a multicenter study. *Fertility and Sterility*. 2013;100(5):1303-9.
3. Wang CY, Fang MH, Zeng L, Xie R, Li L, Wang XW, Wu SC. The biological function of NK92 is inhibited by soluble HLA-G1 S-S. *Tissue Antigens*. 2006;68:350..
4. Feger U, Tolosa E, Huang YH, Melms A, Wiendl H. HLA-G expression defines a novel regulatory T cell subset present in human peripheral blood and sites of inflammation. *Tissue Antigens*. 2006;68:350.
5. Forte P, Matter-Reissmann UB, Strasser M, Schneider MK, Seebach JD. Porcine aortic endothelial cells transfected with HLA-G are partially protected from xenogeneic human NK cytotoxicity. *Hum Immunol*. 2000;61:1066-73.
6. Vercammen MJ, Verloes A, Van de Velde H and Haentjens P. Accuracy of soluble human leukocyte antigen-G for predicting pregnancy among women undergoing infertility treatment: meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2008;14(3):209-18.
7. Fang CY, Wu Xiong-Wen, Liang ZH, Chen H, Han JY, Huang YF, Gong FL. Immune tolerance inducing effects of soluble human leucocyte antigen G1 on natural killer cells and T cells. *Natl Med J China*. 2003;83:7.
8. Zeng M, Fang C, Wang S, Wu X, Chen S. A study of soluble HLA-G1 protecting porcine endothelial cells against human natural killer cell-mediated cytotoxicity. *Tissue Antigens*. 2006;68:357.
9. Rizzo R, Melchiorri L, Stignani M, and Baricordi OR. HLA-G Expression is a Fundamental Prerequisite to Pregnancy. *Human Immunology*. 2007;68:244–250.
10. Fuzzi B, Rizzo R, Criscuoli L, Noci I, Melchiorri L, Scarselli B, Bencini E, Menicucci A, Baricordi O. HLA-G expression in early embryos is a fundamental prerequisite for the obtainment of pregnancy. *Eur J Immunol* 2002;32:311-5
11. Ober C, Aldrich CL, Chervoneva I, Billstrand C, Rahimov F, Gray H L, and Hyslop T. Variation in the HLA-G Promoter Region Influences Miscarriage Rates. *Am. J. Hum. Genet*. 72:1425–1435, 2003
12. Shaikly VR, Morrison IE, Taranissi M, Noble CV, Withey AD, Cherry RJ,

Blois SM, Fernández N. Analysis of HLA-G in maternal plasma, follicular fluid, and preimplantation embryos reveal an asymmetric pattern of expression. *J Immunol.* 2008;180:4330-7.

