T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ

PROJE BAŞLIĞI

Proje No: 2009/055

Uluslararası Araştırma İşbirliği Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:
Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ
Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü,
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Elif GELENLİ, MsC
KOÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans;
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

15 Agustos 2010

KOCAELİ

TÜRKÇE ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı; anne adaylarından alınan endometriyal hücrelerin, ko–kültür ortamında zigot aşamasından, blastosist aşamasına kadar embriyo varlığında hücre adezyon moleküllerinden Trofinin ve CD26 (dipeptidil peptidaz IV) ekspresyonlarının immünfloresan teknikle araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza yaşları 26 ile 36 arasında değişen 11 kadın katıldı. Kadınların menstrüyel döngülerinin 21.günü (luteal fazda) endometriyal biyopsileri alındı. Endometriyal hücrelere ko-kültür yöntemi uygulandı. Kadınlara kontrollü ovaryen hiperstimulasyon (KOH) uygulandı. Yumurta çatlatma iğneleri (hCG) yapıldıktan 2 gün sonra ultrasonografi eşliğinde yumurtaları toplandı. Embriyoloji laboratuvarında seçilen oositlere intrasitoplazmik sperm injection (ICSI) uygulandı. Elde edilen embriyoların bir kısmı (n=25) ko-kültür ortamına ve diğer bir kısmı (n=80) konvansiyonel kültür ortamına alındı. Embriyoların erken gelişme dönemleri (1.-2.-3.-4.-5.gün) incelendi ve iyi kalitedeki embriyolar 5.gün anne adayının uterusuna bir katater ile transfer edildi. Aktarılan embriyoların olduğu ko-kültür kabındaki endometriyal hücreler fikse edildi. Endometriyal hücrelere Trofinin ve CD26 ekspresyonlarını belirlemek üzere immünohistokimya protokolü uygulandı. Endometriyal ko-kültür hücrelerinde Trofinin ve CD26 ekspresyonları floresan mikroskopta incelendi.

Bulgular: Bu çalışmanın sonunda gebe kalan grupta, yaş ortalamasının gebe kalamayan gruba göre anlamlı olarak daha düşük olduğu ($p \leq 0.05$) olduğu saptandı. Gebe kalan grupta, embriyoların 1.gününde endometriyal ko-kültürde Trofinin (+) boyanmış hücre sayısının gebe kalamayan gruba göre anlamlı olarak daha düşük olduğu ($p \leq 0.05$) olduğu görüldü. Embriyo varlığında endometriyal ko-kültürde CD26 (+) boyanmış hücre sayısı ise gebe kalan ve gebe kalamayan gruplarda ise anlamlı bir farklılık göstermedi.

Sonuç: Endometriyal ko-kültür çalışmasına katılan kadınların yaklaşık yarısında gebelik gerçekleşmiş, diğer yarısında ise gerçekleşmemiştir. Ko-kültür ortamlarıyla yapılan immünohistokimyasal çalışmaların, konvansiyonel kültür ortamlarının geliştirilmesini sağlamada faydalı olacağı inancındayız. Ayrıca ko-kültür ortamlarının embriyonunun anne uterusuna ait hücrelerle erken dönemde iletişiminin sağlanmasında yararı olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Hücre adezyon molekülleri (CAM); trofinin; CD26 (dipeptidil peptidaz IV); embriyo; ko-kültürler.

ABSTRACT

Aim: The aim of this study was to investigate the expressions of Trophinin and CD26 (dipeptidyl peptidase IV) by immunoflourescence technique from cell adhesion molecules (CAM) in the existence of embryo from zygote to blastocyte stage in co-culture medium of received endometrial cells from mother applicants.

Materials and methods: Eleven women participated in the study whose ages varied from twentysix-to thirtysix years. Endometrial biopsies were received 21. day (luteal stage) of mentrual cyclus of women. Co-culture technique applied to endometrial cells. Controlled ovarian hyperstimulation (COH) applied to women. Oocytes were picked up with ultrasonography (US) after 2 days oocyte rupture (β hCG) injection was done. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) applied to selected oocytes in the embryology laboratory. Some of embryos obtained (n=25) were cultuvated in co-culture medium and some of them (n=80) were received in the convansional culture medium. Early developmental stages (1.-2.-3.-4.-5.days) of embryos were examined and good quality embryos were transferred in 5th day to the mother's uterus by a catater. Endometrial cells were fixed in co-culture medium of transferred embryos. An immunohistochemistry procedure were applied to determine Trophinin and CD26 expressions in the endometrial cells. Trophinin and CD26 expressions were examined in endometrial co-culture cells by florescence microscopy.

Findings: At the end of this study, average of age was determined to be less significantly in pregnant group, compared to non-pregnant group (p=0.05). Number of Trophinin (+) stained cells was low significantly in pregnant group, in first day of embryos compared to non-pregnant group in endometrial co-culture (p=0.05). There was no significant difference in the number of CD26 (+) stained cells in existence of embryo in endometrial co-culture between the pregnant and non-pregnant groups.

Conclusion: Approximately half of the participant women in endometrial co-culture study were pregnant, the rest were not pregnant. We believe that immunohistochemical studies with co-culture medium will be useful to improve the convansional culture mediums. We consider that co-culture mediums have advantage over the communications with endometrial cells of embryos in early developmental stages.

Key Words: Cell adehesion molecules (CAM); trophinin; CD26 (dipeptidyl peptidase IV); embryo; co-cultures.

ÖNSÖZ

Bu çalışmada amacımız, anne adaylarından alınan endometriyal hücrelerin, ko–kültür ortamında zigot aşamasından, blastosist aşamasına kadar embriyo varlığında hücre adezyon moleküllerinden Trofinin ve CD26 (dipeptidil peptidaz IV) ekspresyonlarının immünfloresan teknikle araştırılmasıdır. Bu çalışmaya katılan kadın hastaların yaklaşık yarısı gebelik kalabilmişler, diğer yarısında gebelik gerçekleşmemiştir. Ko-kültür tekniği ile bir anlamda annenin kendi rahim içinden elde edilen hücrlelerin besi ortamındaki hücrlerin immünohistokimyasal yöntemlerle incelenmesinin rutin olarak kullanılan "konvansiyonel kültür ortamları"nın geliştirilmesini sağlamada faydalı olacağını ve ko-kültür ortamlarının embriyonunun anne uterusuna ait hücrelerle erken dönemde iletişiminin sağlanmasında yararı olacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda 5.000 TL mali destek aldığımız Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (KOÜ BAP No. 2009/055) Birimine **"Teşekkür"** ederim.
Saygılarımla.

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ İmza	**Proje Yürütücüsü** Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ 15 /09 /2010 İmzası: