

Ιωάννα Λούκα

«Διερεύνηση της συσχέτισης των επιπέδων της Prokineticin 1 στο ωοθυλακικό υγρό με την έκβαση του κύκλου εξωσωματικής γονιμοποίησης σε φυσιολογικές απαντήτριες»

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η PROK-1 είναι μια πρωτεΐνη με αγγειογόνο δράση που εκφράζεται στους ενδοκρινικούς ιστούς, συμπεριλαμβανομένων των ωοθηκών, των όρχεων, των επινεφριδίων και του πλακούντα. Μελέτες έχουν δείξει πως διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στην αγγειογένεση του πλακούντα, στην δεκτικότητα του ενδομητρίου και στην ωοθυλακιόγένεση. Διαταραχές στην ισορροπία των επιπέδων της πρωτεΐνης στην αναπαραγωγική οδό έχει συσχετιστεί με παθολογικά φαινόμενα του πλακούντα και της ποιότητας των ωοθυλακίων. Κατά την ωρίμανση του ωοθυλακίου, η PROK-1 μαζί με άλλους αγγειογενετικούς παράγοντες, όπως ο VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF), και ο PEDF (Pigment Epithelium Derived Factor, PEDF), συμβάλουν στην ομαλή ανάπτυξη και αγγείωση του. Δεδομένης της σημαντικής ρυθμιστικής ικανότητας της PROK-1 στην αναπαραγωγή τα τελευταία χρόνια οι μελέτες έχουν στραφεί στην διερεύνηση του ρόλου της αναφορικά με την έκβαση ενός κύκλου εξωσωματικής και των θεραπευτικών πρωτοκόλλων που χρησιμοποιούνται λαμβάνοντας υπόψη τα μοριακά μονοπάτια.

Η παρούσα μελέτη διερευνά την πιθανή συσχέτιση των επιπέδων της PROK-1 σε μια ομάδα γυναικών με φυσιολογική ωοθηκική απάντηση με το αποτέλεσμα της διέγερσης, όπως επίσης και με τις συγκεντρώσεις άλλων παραγόντων του ωοθυλακικού υγρού (Follicular Fluid, FF) που σχετίζονται με την ωοθηκική λειτουργία όπως ο VEGF, ο BMP-15 (Bone Morphogenetic Protein 15, BMP-15) και ο PEDF. Συνολικά στη μελέτη συμμετείχαν 32 γυναίκες που ορίστηκαν ως φυσιολογικές απαντήτριες σύμφωνα με τα κριτήρια ένταξης. Τα δείγματα του ωοθυλακικού υγρού συλλέχθηκαν κατά την διάρκεια της ωοληψίας, ακολούθησε φυγοκέντρηση και φυλάχθηκαν στους -80 oC έως την ανάλυση. Τα επίπεδα των PROK1, VEGF, BMP-15 και PEDF αξιολογήθηκαν με την μέθοδο ELISA με την χρήση εμπορικά διαθέσιμου kit. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με την χρήση της γλώσσας προγραμματισμού R.

Η παρούσα μελέτη για πρώτη φορά μας δίνει δεδομένα για τα επίπεδα της PROK-1 στο FF των φυσιολογικών απαντητριών. Οι συγκεντρώσεις της PROK-1 και του VEGF στο FF ήταν 1945.95 ± 1408.01 pg/ml και 2013.22 ± 330.16 αντίστοιχα. Ακόμη, η συγκέντρωση του PEDF στο FF ήταν 8.23 ± 2.54 ng/ml. Προκειμένου να αντλήσουμε επιπλέον πληροφορίες αναφορικά με τα αγγειογενετικά φαινόμενα, υπολογίστηκε η μέση τιμή του λόγου PEDF/VEGF που ήταν 4.18 ± 1.41 . Τέλος, υπολογίστηκε ο μέσος όρος των επιπέδων της BMP-15 και ήταν 532.5 ± 108.26 pg/ml. Τα επίπεδα της PROK-1 συσχετίστηκαν αρνητικά με τον αριθμό των ληφθέντων ωαρίων (P-value=0.007) και τον αριθμό των MII ωαρίων (P-value=0.01). Παρουσιάστηκε ακόμη αρνητική συσχέτιση της PROK-1 με τα επίπεδα της AMH (Anti-Mullerian Hormone, AMH), η οποία όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Ο BMP-15 συσχετίστηκε θετικά με τον αριθμό των MII ωαρίων (P-value=0.03), τον αριθμό των φυσιολογικά γονιμοποιημένων ωαρίων (P-value=0.04), τον αριθμό των εμβρύων στο στάδιο της αυλάκωσης (P-value=0.03) και τον αριθμό των βλαστοκύστεων (P-value=0.05). Μεταξύ του BMP-15 και του αριθμού των ληφθέντων ωαρίων βρέθηκε θετική συσχέτιση που δεν είναι στατιστικά σημαντική. Ο

VEGF συσχετίστηκε αρνητικά με τον αριθμό των ληφθέντων ωαρίων (P-value=0.05) και με τα επίπεδα της AMH.

Ο μικρός πληθυσμός της μελέτης καθώς και η έλλειψη δεδομένων που αφορούν την επίτευξη της κλινικής εγκυμοσύνης αποτελούν σημαντικούς περιοριστικούς παράγοντες για ασφαλή συμπεράσματα. Επιπλέον, είναι απαραίτητο να διεξαχθούν περαιτέρω τυχαιοποιημένες μελέτες προκειμένου να ενισχύσουν τα ευρήματα της παρούσας μελέτης και οδηγήσουν σε ασφαλή συμπεράσματα για το ρόλο της PROK-1 στην έκβαση των κύκλων εξωσωματικής γονιμοποίησης.

Abstract

“Investigating the correlation between Prokineticin 1 follicular fluid levels with the IVF outcome in Normal Responders”

Prokineticin 1 (PROK-1) is an angiogenic protein, expressed in endocrine tissues, including ovary, testis, adrenal glands, and placenta. Studies have shown that it plays an important role in placental angiogenesis, endometrial receptivity and folliculogenesis. Perturbation in the balance of protein levels in the reproductive tract, have been associated with pathological phenomena of the placenta and the quality of the follicles. During the maturation of the follicle, PROK-1 along with other angiogenic factors such as VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) and PEDF (Pigment Epithelium Derived Factor) which is an anti-angiogenic factor, contribute to its smooth growth and vascularization. Given the important regulatory capacity of PROK-1 in reproduction, recent studies have turned to the investigation of its role regarding the outcome of an In-Vitro Fertilization cycle (IVF) and the therapeutic protocols used taking into account the molecular pathways.

The present study investigates the possible correlation of PROK-1 levels in a group of women with a normal ovarian response to the outcome of stimulation as well as to the concentrations of other follicular fluid factors related to ovarian function such as VEGF, BMP-15 (Bone Morphogenetic Protein 15) and PEDF. A total of 32 women who were defined as normal responders according to the inclusion criteria participated in the study. Follicular fluid samples were collected during ovulation, centrifuged and stored at -80°C until analysis. The levels of PROK-1, VEGF, BMP-15 and PEDF were evaluated by the ELISA method using a commercially available kit. The statistical analysis was performed using the R programming language.

The present study for the first time provides us with data on the levels of PROK-1 in the follicular fluid of normal responders. The concentrations of PROK-1 and VEGF in FF were 1945.95 ± 1408.01 pg/ml and 2013.22 ± 330.16 pg/ml respectively. Furthermore, the concentration of PEDF in the follicular fluid was 8.23 ± 2.54 ng/ml. In order to obtain additional information regarding the angiogenic phenomena, the mean value of the PEDF/VEGF ratio was calculated at 4.18 ± 1.41 . Finally, the mean BMP-15 levels were calculated and were 532.5 ± 108.26 pg/ml.

PROK-1 levels were negatively correlated with the number of retrieved oocytes (P-value=0.007) and the number of MII oocytes (P-value=0.01). There was also a negative correlation of PROK-1 with AMH levels, but there was no statistical significance. BMP-15 was positively associated with the number of MII oocytes (P-value=0.03), the number of normally fertilized oocytes (P-value=0.04), the number of embryos at the cleavage stage (P-value=0.03) and the number of blastocyst stage embryos (P-value=0.05). A positive correlation was found between BMP-15 and the number of oocytes retrieved that was not statistically significant. VEGF was

negatively correlated with the number of retrieved oocytes (P-value=0.05) and with AMH levels. Said AMH levels were statistically insignificant.

The small study population, as well as the lack of data regarding the achievement of clinical pregnancy, are important limiting factors of verifying our results. In addition, it is necessary to conduct several studies in order to strengthen the findings of the present study and lead to safe conclusions about the role of PROK-1 in the outcome of IVF cycles.