

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
ZEYNEP KAMİL KADIN VE ÇOCUK HASTALIKLARI
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM KLİNİĞİ
KLİNİK ŞEFİ: Op. Dr. Y. Sadiye EREN

**BAŞARISIZ IN VITRO FERTİLİZASYON SIKLUSU
SONRASINDA GEBELİK SONUÇLARINI ETKİLEYEN
FAKTÖRLERİN RETROSPEKTİF İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Tuğba SARAÇ SİVRİKOZ

İSTANBUL – 2011

ÖNSÖZ

Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ndeki Kadın Hastalıkları ve Doğum ihtisasım boyunca samimi desteğini her zaman hissettiğim, her fırsatta bilgi, beceri ve tecrübelerinden faydalanmamı sağlayan, kalbimde ve zihnimde düşünceleri ile bana hep yol göstermiş olan kıymetli klinik şefimiz ve tez hocam Sayın Op. Dr. Y. Sadiye EREN'e,

Ayrıca bizlere tecrübeleri ile ışık olan klinik şeflerimiz Sayın Doç. Dr. Aktuğ ERTEKİN, Prof. Dr. Ateş KARATEKE, Op. Dr. Vedat DAYICIOĞLU, Op. Dr. Mehmet ULUDOĞAN, Prof. Dr. Erdal KAYA' ya,

Tezimin hazırlanması boyunca sabrından ve ilgisinden ötürü tez danışmanım Sayın Op. Dr. H. Tayfun KUTLU' ya,

İhtisas hayatım boyunca beraber çalışmış olduğum tüm Asistan arkadaşlarım ve Uzmanlarıma,

Birlikte geçirdiğimiz süre boyunca en zor zamanlarımda yanımda olan çok değerli meslektaşım Sayın Op. Dr. Sevda BAŞ BAYDIN'a,

Ve dünüm, bugünüm, yarınım; varlığını hep hissettiğim, çok özlediğim kıymetlim, Annem'e bana yaşadığı süre boyunca kattıklarından ötürü,

Son olarak hayattaki en önemli dayanağım, canım eşim Emre SİVRİKOZ'a bu süredeki desteği için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Tuğba SARAÇ SİVRİKOZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No.

TABLO VE ŞEKİLLER	3
KISALTMALAR	4
ÖZET	5
GİRİŞ.....	7
GENEL BİLGİLER.....	9
MATERYAL METOD	45
BULGULAR	50
TARTIŞMA.....	60
KAYNAKLAR.....	67

İÇERİKTE GEÇEN TABLOLAR VE ŞEKİLLER

Sayfa No.

Şekil 1. İnfertilite tanısı.....	52
Tablo 1. Semen analizi terminolojisi	18
Tablo 2. Ovulasyonun fizyolojisi	23
Tablo 3. KOH’nda kullanılan tedavi protokolleri	37
Tablo 4. Çalışma grubunun tedavi öncesi temel özellikleri.....	50
Tablo 5. Çalışma grubuna ait tedavi öncesi görüntüleme ve önceki tedavi sonuçları.....	51
Tablo 6. Grup 1 ve 2’de protokol değişikliği yapılmadan tedavi Sürecinin karşılaştırılması	53
Tablo 7. Grup 1 ve 2 arasında endometrial kalınlık, E2 değerleri ve OPU günü karşılaştırması.....	54
Tablo 8. TVUSG’de izlenen folikül özellikleri ve OPU sonrası elde edilen matur oosit sayısı	55
Tablo 9. OPU günü spermioqram özellikleri	55
Tablo 10. Tedavi protokolleri ve gebelik ilişkisi	56
Tablo 11. Gonadotropin tipi ve gebelik ilişkisi.....	56
Tablo 12. Gebelik ve siklus içi ‘coasting’ ilişkisi	57
Tablo 13. Step up/down protokolü ve gebelik sonuçları üzerine etkisi.....	57
Tablo 14. Embriyo transfer sayısı ve günü ile gebelik ilişkisi.....	58
Tablo 15. Transfer edilen embriyolara uygulanan laser ve gebelik ilişkisi	58
Tablo 16. Blastokist transferi ve gebelik ilişkisi.....	59

KISALTMALAR

IVF	: İn Vitro Fertilizasyon
ART	: Artifiyel Reprodüktif Teknikler
ICSI	: İntrasitoplazmik Sperm İnjesiyonu
ZIFT	: Zigot İntrafallopian Transfer
GIFT	: Gamet İntrafallopian Transfer
MESA	: Mikrocerrahi Epididimal Sperm Aspirasyonu
PESA	: Perkütan Epididimal Sperm Aspirasyonu
IUI	: İntrauterin İnseminasyon
OPU	: Oosit Pick-up
PKO-S	: Polikistik Over Sendromu
KOH	: Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon
OHSS	: Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu
AF	: Antral Folikül
BBT	: Basal Vücut Sıcaklığı
OKS	: Oral Kontraseptif İlaçlar
HSG	: Histerosalpingografi
H/S	: Histeroskopi
L/S	: Laparoskopi
TVUSG	: Transvajinal Ultrasonografi
FSH	: Folikül Stimulan Hormon
E2	: Östradiol
LH	: Luteinizan Hormon
PRL	: Prolaktin
TSH	: Tiroid Stimulan Hormon
HCG	: Human Koryonik Gonadotropin
MIH	: Müllerian İnhibe edici Hormon
HMG	: Human Menopozal Gonadotropin
GnRH	: Gonadotropin Releasing Hormon
BMI	: Body Mass İndeks
IU	: İnternasyonal Unit
pg	: Pikogram
mm	: Milimetre
ng	: Nanogram
kg	: Kilogram
m ²	: Metrekare
ml	: Mililitre

ÖZET

Giriş: Başarısız IVF siklusu sonrası, takip eden sikluslarda başarıyı etkileyen faktörler tedavinin tipinden, tedavinin dozuna, süresine ve transfer edilen embriyonun sayısından kalitesine kadar uzanan geniş bir skalayı içermektedir.

Amaç: Bu çalışmanın amacı İn vitro fertilizasyon protokollerinde kullanılan tedavi modalitelerinin başarısının, tedavinin uygulandığı çiftlerin başarısız oldukları siklusları ile başarılı oldukları siklusları retrospektif olarak karşılaştırarak, başarıyı etkileyen faktörleri incelemektir.

Materyal Metod: Çalışmamızda 01.03.2007-01.03.2011 tarihleri arasında Zeynep Kamil Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tüp Bebek Merkezi'ne başvuran, çalışmaya dahil edilme kriterlerini sağlayan 96 hastanın verileri retrospektif olarak değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmamızda IVF tedavisi uygulanan, grup 1 ve grup 2 için sikluslar arasında tedavi protokollerinde değişiklik yapılmamış hastalar karşılaştırılarak gonadotropin kullanım süresinin, gonadotropin başlangıç dozunun ve toplam dozunun her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ifade etmediği saptanmıştır ($p>0.05$). Antagonist protokolün uygulandığı 20 siklusta, antagonist başlangıç günleri ve siklus başına kullanılan toplam gün sayıları istatistiksel olarak anlamlı bir fark ifade etmemektedir ($p>0.05$). OPU öncesi TVUSG'de izlenen $>14\text{mm}$ ve $>17\text{mm}$ 'ndeki folikül sayısı ve OPU sonrasında bu foliküllerden elde edilmiş olan matur oosit sayısının grup 1 ve 2 arasındaki karşılaştırılmalarına yer verilmiştir. Buna göre iki grup arasında elde edilen $>14\text{mm}$ folikül sayıları arasında istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Ancak $>17\text{mm}$ üzerindeki folikül sayıları karşılaştırıldığında gebeliğin elde edilmediği ilk siklusta ortalama $4,72\pm 0,36$ ile grup 2'ye göre daha yüksek bulunmuş olup, istatistiksel anlamlılık ifade etmektedir ($p<0.05$). Oysaki her iki grup arasında elde edilen matur oosit sayıları birbirine yakın olup, istatistiksel düzeyde anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Grup 1 ve grup 2 arasında her protokol kendi içinde değerlendirildiğinde, gebe kalınan sikluslarda long protokol sayısının azaldığı, ilk siklusta %74(71/96) iken 2.siklusta bu oranın %56,2 (54/96) olduğu gözlenmiştir. Buna karşılık antagonist protokolde ise %22,9'dan (22/96), %36'ya (36/96) ve mikrodoz protokolde ise %3,1'den (3/96) %6,2'ye (6/96) artış olduğu saptanmıştır. Antagonist ve mikrodoz protokollerinin kullanımındaki bu artışın, seçilmiş vakalarda başarılı gebelik sonuçları vermesi istatistiksel açıdan anlamlı bir fark ifade etmektedir ($p<0.05$). Embriyo transferi sayısı

ve transfer günü ayrıca değerlendirilmiştir. Gebe kalınan siklularda embriyo transfer gününün daha ileri olduğu (3,02±1,1 gün) ve transfer edilen embriyo sayısının ise daha az olduğu (n=2,32±0,7) saptanmıştır. Her iki durumda gebe kalınan siklulur açısından değerlendirildiğinde istatikscl anlamlılık ifade etmekte olup p değlerleri sırasıyla 0,04 ve 0,03'dür. Blastokist transferlerinde ise iki grup arasındaki oranlar, istatikscl açıdan anlamlı bir fark oluşturmamıştır(p>0.05).

Sonuç: Protokol değışikliği hastanın tedaviye cevabını, dolayısıyla gelişen folikül sayısını ve elde edilen matur oosit sayısını olumlu yönde etkileyebilir. Çalışmamızda; başarılı siklulda daha ileri gündeki embriyonun (iyi kalitede, dolayısıyla viabilitesi yüksek olan) ve az sayıdaki embriyonun transferinin olumlu şekilde tedavi sonuçlarını etkilemesi, başarısız IVF siklulur için en önemli faktörün embriyo kalitesi olduğunu bir kez daha vurgulamıştır.

GİRİŞ

İnfertilite, 1 yıllık korunmasız cinsel ilişkiye rağmen konsepsiyonun gerçekleşmemesi olarak yorumlanmaktadır. Normal çiftler için fekundabilite oranı yaklaşık olarak %20-25 dir (1). Dolayısıyla çiftlerin yaklaşık %90'ında ilk bir yıl içerisinde gebelik gerçekleşmektedir. İnfertilite çiftlerin %10-15'ini ilgilendiren bir sorundur.

Asiste reproduktif teknolojiler(ART), overden oositlerin elde edilmesini sağlayan tüm teknikleri içermektedir. ART'nin gelişimiyle birlikte infertilite tedavilerinde başarı oranı artmış ve daha çok infertil çiftin sağlıklı bir bebeğe sahip olması sağlanmıştır.

İn vitro fertilizasyon(IVF) işlemi, eksojen gonadotropin ile yapılan kontrollü ovarian hiperstimülasyonu, transvajinal ultrasonografi (TV USG) altında oosit toplama işlemini, laboratuvar ortamında fertilizasyonu ve embriyoların uterusu transservikal olarak transferini içerir.

ART teknikleri içerisinde, IVF, ICSI (intrasitoplazmik sperm injeksiyonu), GIFT(gamet intrafallopian transferi), ZIFT(zigot intrafallopian transferi), donmuş embriyo transferi ve donör oosit kullanımı yer alır. IVF-embriyo transfer tekniklerinin uygulanışındaki artmış başarıdan ötürü, GIFT ve ZIFT kullanımı azalmıştır.

IVF ile ilişkili başarı oranları çoğu bilinmeyen pek çok faktöre bağlıdır. Bir IVF siklusuna başlamadan önce birincil başarı göstergeleri, maternal yaş, over kapasitesi ve önceki üreme performansıdır. Genç ve normal over kapasitesine sahip kadınlarda gebelik ihtimali, yaşlı ve kapasitesi daha düşük olanlara göre daha yüksektir. Daha önce bir canlı doğumu olanlar nulliplarlara göre daha şanslıdır. Önceki başarısız IVF siklusu olanların başarıları daha düşüktür. Geçirilmiş başarısız erken gebelik olmasının IVF başarıları üzerine herhangi bir etkisi yoktur. Endometriozisi olan kadınlardaki IVF başarıları, tubal faktörü olanlara göre daha azdır(2). Bu ve benzeri etyolojik faktörler dışında siklus başarılarını üzerinde direkt etkisi olan basal folikül

stimüle edici hormon (FSH) düzeyi, toplanan oosit sayısı, fertilize olan embriyo sayısı ve transfer olan embriyo sayısının da siklus başarısı üzerinde etkinliği gösterilmiştir.

Bu çalışmayı yapmamızdaki amaç; in vitro fertilizasyon protokollerinde kullanılan tedavi modalitelerinin başarısının, tedavinin uygulandığı çiftlerin başarısız oldukları siklusları ile başarılı oldukları siklusları retrospektif olarak karşılaştırarak, başarıyı etkileyen faktörleri ortaya çıkarmaktır.



GENEL BİLGİLER

İnfertilite, 1 yıllık korunmasız cinsel ilişkiye rağmen konsepsiyonun gerçekleşmemesi olarak yorumlanmaktadır. *Primer infertilite*, daha önce spontan olarak gebeliğin hiç oluşmadığı durumlar için kullanılırken, *sekonder infertilite* ise canlı doğumla sonuçlansın ya da sonuçlanmasın, en az bir gebeliğin var olduğu durumlar için kullanılır. *Fekundabilite*, bir menstruel siklustaki gebelik oluşabilme ihtimali; *fekundite* ise bir siklusun canlı doğum ile sonuçlanabilme ihtimalidir. Normal çiftler için fekundabilite oranı yaklaşık olarak %20-25 dir (1). Dolayısıyla çiftlerin yaklaşık %90'ında ilk bir yıl içerisinde gebelik gerçekleşmektedir. İnfertilite çiftlerin %10-15 ini ilgilendirmektedir.

Evlilik yaşının ilerlemesi, geç çocuk sahibi olma isteği, kontrasepsiyon kullanımının artışı, toplumda kadınların rolünün değişmesi, çevresel ve sosyoekonomik faktörler fertilitenin azalmasını etkileyen nedenlerdir.(3)

Günümüzde yardımcı üreme tekniklerinin gelişmesiyle infertil çiftlerin tedavi şansları artmış, bu yönde olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Doğru tedavi için infertiliteye sebep olan durumlar iyi belirlenmeli ve sebebe yönelik tedavi yapılmalıdır.

Amerika Birleşik Devletlerinde 1965 den bu yana infertilite prevalansı değişmemekle birlikte primer infertil çiftlerin sayısı gün geçtikçe artmaktadır. 1965'de infertil kadınların sadece 1/6' i nullipar iken, 1988 de bu oran neredeyse infertil kadınların yarısından daha fazlasını kapsamaktadır(4). İnfertilite prevelansı çok değişmesede, son birkaç yıldır infertiliteye yaklaşımda oldukça yol alınmıştır. Bu durum, toplumdaki sosyolojik değişiklik kadar, çiftlerin fertiliteleri hakkında bilinçlenmeleri ile de ilişkilidir. Yine de toplumdaki infertil çiftlerin %43 ü tedavi alırken, sadece %23 ü uzmanlaşmış ekiplerce tedavi desteği alırlar. %2 den çok daha azı ise IVF veya diğer ART formalarından faydalanır(5). İnfertilite prevelansı düşük sosyoekonomik düzeyi olan çiftlerde yüksek olsa da, tedaviden daha çok yüksek

sosyoekonomik düzeyi olanlar faydalanmaktadır(4). Çoğu infertil kadın beyaz, evli, 30 yaşından büyük ve daha iyi bir sosyoekonomik düzeye sahiptir(5).

İNFERİL ÇİFTİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ANAMNEZ

Çiftin tedavinin başındaki değerlendirilmesi en önemli aşamadır çünkü takip eden değerlendirme ve tedavi sonuçlarını tamamen etkiler. Erkek partner öncelikle ilk vizitte değerlendirilmelidir, tanının konması ve tedavi planının oluşturulma sürecinde anahtar noktadır. İnfertilite, çiftin her ikisini de ilgilendirir, bu sebeple tedavinin başlangıcında sebep olsun olmasın, erkeği de sürece dahil eder.

DEĞERLENDİRME SÜRECİNE YÖN VEREN PARAMETRELER, TANI VE TEDAVİ YÖNTEMLERİ

Yaş

Fetal yaşam boyunca germ hücreleri hızla mitozla çoğalmaktadır. 16-20.gebelik haftasında yaklaşık 6-7 milyon oogonia olmaktadır. Bu noktadan sonra germ hücre popülasyonunda gen ilişkili apoptozis ile hızlı bir azalma olur(6). İlk mayotik bölünme sonrası oosit oluştuktan sonra germ hücre sayısı doğumda 1-2 milyona ve puberte başlangıcında 300.000-500.000 e düşmektedir. Yaşamın geri kalan 35-40 yılında sadece 400-500 oosit yumurtlayacaktır; geri kalanı ise atreziye uğramaktadır. Üreme çağı boyunca foliküler kayıp oranı 37-38 yaşına kadar sabit kalacak (yaklaşık 250.000 oosit kaldığında) ve daha sonra menopoza öncesi 10-15 yıl bu oran hızlanacaktır. Menopozda ise 1000'den az sayıda folikül kalacaktır (7,8).

Yaşlanmanın kadın fertilitesine olan etkisi, herhangi bir kontrasepsiyon kısıtlaması olmayan çiftlerden oluşan normal popülasyonda yapılan fertilitate çalışmaları sonucu gösterilmiştir(9). Elde edilen veriler 20-24 yaş arasında fertilitenin en yüksek seviyede olduğunu, 30-32 yaştan

sonra ise hafif şekilde azaldığını, 40 yaş ve üzerinde ise progressif şekilde hızla düştüğünü göstermektedir(10).

ART ile elde edilen başarı oranları da yaş arttıkça azalmaktadır. Yaşlı kadınlarda genç yaştakilere göre elde edilen oosit ve embriyo sayısı düşük, embriyo bölünme oranları yüksek ve implantasyon şansı düşüktür (11,12).

İnsan oositlerinin kromozomal yapılarını inceleyen teknikler bulunmaktadır. IVF sikluslarında fertilize olmayan oositlerin sitogenetik analizlerinden elde edilen kanıtlar, artan yaşla birlikte oosit anöploidi oranlarının arttığını göstermektedir(13). Ayrıca normal oosit (23,X) oranında yaşa bağlı azalma ve anöploidi sayısında artış, yaşa bağlı fertilite azalması ve spontan gebelik kaybı sıklığında artışla benzer oranlarda birlikte bulunduğu gösterilmiştir(14). 35 yaşına kadar anöploid oosit sıklığı düşük ve değişken iken (%10), 40 yaşta %30, 43 yaşta %50 ve 45 yaştan sonra yaklaşık %100'e yükselmektedir(13). Anormal kromozomlu abortus olasılığı 20 yaşında %35'in altında iken, 42 yaşın üzerinde %80'e yükselmektedir(14).

Sonuçta yaşa bağlı fekundabilitedeki azalma ve yaşlanan oositlerde artmış anoploidiyle birlikte spontan gebelik kaybı artışının, mayotik iğne formasyon ve fonksiyonundaki düzenleyici mekanizmalarda bozukluk sonucu olduğunu göstermektedir(15).

İnfertilite Süresi

Tedavi edilmemiş hastalarda spontan gebelik oluşumunda infertilite süresi majör bir faktördür. Bu hastalarda üreme sisteminde organik bir problem ya da germ hücrelerinde fonksiyonel bir sorun olabilir.

Önceki Fertilité Durumu

Daha önce term gebeliği olanlarda genital organların intrauterin gelişim için yeterli olabileceğini gösterebilir. Abort, postpartum ve postoperatif komplikasyonlar kadın fertilitésini etkileyebilir.

Menstruasyon Düzeni

Hipotalamo-hipofizo-gonadotropik aks hakkında bilgi verir.

Sistemik Hastalık

Galaktore, hirsutizm, hipotiroidi vb durumlar menstruasyon düzensizliđi yaparak ovulasyonu etkileyebilir

Sigara ve Alkol Kullanımı

Kadın ve erkek sigara kullanımı fekundabiliteyi olumsuz etkilemektedir. Artmış foliküler kayıp, gamet ve embriyo mutagenezisi, menstruel siklus anormalliklerine sebep olduğu gösterilmiştir(16,17).

Geçirilmiş Operasyon Varlığı ve Önceki İnfertilite Tedavisi

Operasyon sonrası oluşabilecek adezyonlar, sonrasında geçirilmiş pelvik enfeksiyonlar tubal okluzyon yaratabilir. Önceki tedaviler ve sonuçları, bir sonraki tedavi sürecinin şekillenmesinde yardımcı olacaktır.

Fizik Muayene

Tiroid muayenesi, galaktore ve hirsutizmusun tespit edilmesi endokrin problemlerin tespitinde fayda sağlayabilir. Rutin jinekolojik muayene organik ve anatomik sebepleri ortaya koyabilir. Servikal durum, servikal os açıklılığının değerlendirilmesi ve serviks fundus mesafesi hakkında

bilgi sahibi olmamızı sağlar. Pap smear tedavi sürecinden başka, tedavinin başlaması ve anormallik var ise gebelik durumuna göre takip olanağı sunar. Ayrıca serviks kültürünün alınması, mikoplazma kültürü ve klamidyaya antijeni bakılarak olası tubal okluzyon hakkında fikir verebilir. Subklinik pelvik enfeksiyonlar ve fertilité arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Klamidyaya ve PID arasındaki ilişki iyi tanımlanmıştır. Kadın genital traktında asemptomatik enfeksiyon yaratarak, subklinik tubal enfeksiyona sebep olabilir. Kontrol gruplarına nazaran, infertil kadınlarda pozitif klamidyaya kültürü prevalansı enfeksiyon ve infertilite arasındaki ilişkiyi desteklemektedir(18).

Ultrasonografi

Uterus boyutu, konturları, pozisyonu, myometriyum ekojenitesi, myomatöz yapı varlığı ve uterustaki yerleşimleri, endometriyum kalınlığı, siklus fazı ile uyumluluğu, intrakaviter patoloji varlığı; overlerin ekojenitesi ve stromal yapısı, volümü, siklus dönemine göre dominant folikül veya korpus luteum varlığı, intraovarian ya da paraovarian solid-kistik kitle varlığı hakkında bilgi verir.

Ayrıca ovulasyonun varlığı ve takibi konusunda da ultrasonografi yol göstericidir. TV-USG de dominant folikülün gözlenmesi, sonraki takibinde cul-de-sac da sıvı varlığı ovulasyonun gerçekleştiğinin göstergesidir. Dominant folikül sıklıkla 21-23mm civarındadır. Ancak 17mm den 29mm'e kadar varan çaplarda da olabilir (19,20). Ovulasyonun dokumante edilmesinde rutin uygulanmamakla birlikte ovulasyon indüksiyonu ve superovulasyon takibinde sıklıkla kullanılır.

Over rezervini değerlendirilmesinde antral folikül sayısı ile kadının yaşı, indüksiyon için kullanılan toplam ilaç miktarı, hcg günü E2 değeri, elde edilen toplam ve metafaz II oosit sayısı ve gebelik oranları arasında istatistiksel anlamlılık saptanmıştır. Antral folikül sayısına göre yapılan derecelendirme tedavi şeması ve ilaç dozlarını belirleme de yardımcıdır(21).

Buna göre;

- Grade 1 over: ≤ 4 antral folikül (AF) ,yanıtlar genelde başarısız
- Grade 2 over:4-6 AF, kontrollü ovarian hiperstimülasyona (KOH) yanıt yetersizdir
- Grade 3 over:7-10 AF olup, hastaların cevabı iyidir
- Grade 4 over: polikistik over (PKO)görüntüsü veya benzeri, foliküler atrezi ya da ovarian hiperstimülasyon sendromu (OHSS) riski yüksektir

Laboratuvar Değerlendirmeleri

Hormonal testler: folikül stimüle edici hormon (FSH),lütinize edici hormon(LH), östradiol(E2), prolaktin (PRL), inhibin B, 17-OH-progesteron, dihidroepiandrostenodion sülfat(DHEA-S), androstenodion, tiroid uyarıcı hormon (TSH), f T3, f T4

Seroloji: HBsAg, Anti-HBs, Anti-HCV, Anti-HIV, Rubella IgG (ve/veya IgM), Toksoplazma IgG (ve/veya IgM)

Hematolojik testler: kan grubu, tam kan sayımı, rutin biokimyasal testler

Endometrial biyopsi

Luteal faz yetmezliği olduğu düşünülen olgularda kullanılır. Çoğu kez siklusun 21.günü progesteron bakılarak da tespit edilebilir. Ovulasyon testlerinden biri olup, progesteronun endometrium üzerinde yarattığı histolojik değişikliğin bir göstergesi ve korpus luteum fonksiyonunun varlığının kanıtlanmasını sağlar. Foliküler faz boyunca endometrium proliferatif patern gösterirken, luteal fazda ise korpus luteumdan salgılanan progesteron etkisiyle sekretuar transformasyon gösterir. Normal siklus günü ile histoloji 2 günlük dönem içinde benzer çıkar ise, sonuçlar genel olarak normal değerlendirilebilir; 2 günün üzerindeki farklarda luteal faz yetersizliği tanısı için altın standart olmaktadır (22,23). Ancak tanı kriterlerindeki farklılıklar, luteal faz yetersizliği prevalansını %3-60 arasında olmasına sebep

olmaktadır. Çeşitli çalışmalar histolojik değerlendirmenin gözlemciler arasında fark olduğunu göstermiştir. Bu farklılık tanı ve tedaviyi %20-40 arasında etkilediğinden endometrial örnekleme, üreme yetersizliği olan kadınlarda klinik yönetimde kullanılmamalı, değerlendirmede bir basamakmış gibi sunulmamalıdır(23-25).

Histerosalpingografi (HSG)

Konjenital anomaliler, intrakaviter yer kaplayıcı lezyonlar, sineşiler ve tubal pasaj değerlendirmesinde kullanılır.

Laparoskopi(L/S), Histeroskopi(H/S)

İnfertil kadınlardaki olası pelvik adezyonların, adneksiyel kitlelerin ve diğer tubal-pelviperitoneal faktörlerin tanı ve tedavisinde laparoskopi altın standart yöntemdir. Histeroskopi ise daha sonra da ayrıntılı tartışılacağı gibi, intrakaviter yer kaplayıcı lezyon ve anatomik sorunların tanısında ve tedavisinde kolaylık sağlamaktadır.

Spermiogram

Temel semen analizi semen volumunun ölçümünü, sperm konsantrasyonunu, sperm motilite ve morfolojisini içerir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün tanımladığı referans aralıklar Tablo 1'de gösterilmiştir(2010)(26). Ortalama absitans süresi spermlerin erkek üreme sistemindeki gelişimleri de göz önüne alındığında 2-3 gün olmalıdır.

İNFERTİLİTE SEBEPLERİ

İnfertilitenin çiftler arasında en sık sebepleri;

- Erkek faktörü %25-40
- Erkek ve Kadın faktör birlikteliği %10
- Kadın faktör %40-55

- Açıklanamayan infertilite %10

Kadın faktörleri arasında en sık sebepler ise;

- Ovulatuvar faktör %30-40
- Tuboperitoneal faktör %30-40
- Sebebi bilinmeyen infertilite %10-15
- Nadir sebepler %10-15 olarak bilinmektedir

Her birisinin sıklığı yaşla birlikte değişmektedir. Genç kadınlarda ovulasyon bozuklukları daha sık iken, tubal-peritoneal faktörler genç ve yaşlılarda eşit sıklıkta görülür. Erkek faktörü ve nedeni açıklanamayan infertilite ise yaşlı çiftlerde daha sıklıkla gözlenebilen bir sorundur. Yine infertilite popülasyonun yapısı, infertilite süresi ve hizmet düzeyi de değişkenlik göstermektedir. Primer merkezlere başvuran çiftlerin ortalama infertilite süresi 21 ay iken, tersiyer merkezlerde bu süre ortalama 42 aydır(27).

Ağır tubal-peritoneal sebeplerde IVF ilk tedavi seçeneği olur iken, ciddi spermiogram bozuklukları ile prezente olan erkek faktöründe ise ICSI temel tedavi modalitelerinden biri olmuştur. Bu sebepler infertilite sebeplerini ele alırken tedavinin de buna göre şekilleneceği muhakkak göz önünde bulundurulmalıdır.

ERKEK FAKTÖRÜ

İnfertilite sebepleri arasında erkek faktörü %20 oranla yer almaktadır. Bununla birlikte diğer faktörlerin yanında %30-40 oranında eşlik edebilmektedir. Erkek reproduktif sisteminin infertilite üzerindeki etkisinin daha net anlaşılabilmesiyle birlikte erkek faktörü modern ART yöntemleri ile etkin tedavi edilebilir bir hal almıştır.

Erkek reproduktif sistemi hipotalamohipofizer aktın testisler üzerindeki FSH-LH etkisi ile yönetilmekte olup adolesan evrede başlayarak hayat boyu süren dinamik bir süreçtir.

İnsanlarda spermatogoninin matur sperme dönüşmesi ortalama 75 gün sürer. Bu süreçte LH etkisiyle Leydig hücreleri testesteron salgılayarak FSH ile birlikte etkili olur. *Maturasyon* sürecinde spermatidler spermatozoaya dönüşerek, epididimise gelir ve burada spermatozoaların *progressif motilite* kazanması ile maturasyon süreci hızlanır. Epididimisteki bu dönemde ortalama 12-21 gün sürer. Ejakulasyon ile spermatozoalar seminal sıvı adı verilen kaynağının bulbouretral bez, prostat bezi ve seminal veziküllerin olduğu bir serum ile birlikte salınırlar. Ejakulasyondan 20-30 dk sonra prostatik proteolitik enzimlerin sebep olduğu *likefaksiyon* gerçekleşir. Ejakulasyon sonrasında spermatozolar hala matur değildirler. Servikal mukus içeriğinde barındırdığı kimyasallar ile sperme *kapasitasyon* (ovumun fertilize edilmesini sağlayan spermin dış yüzey bariyerinde kazandığı özellik) kazandırır. Kapasitasyondan sonra sperm *akrozom reaksiyonuna* girer, bu reaksiyon ile sperm hücresi dış membranı yıkılarak, ovuma penetre olabilmeye özelliği kazanmış olur. Fertilizasyonun bir parçası olarak son aşamada ise sperm-ovum bileşkesinde *kortikal reaksiyon* (zona pellucidanın daha kalın bir membran haline gelmesi) gerçekleşir. Kortikal reaksiyon ovumun daha sonra başka bir sperm tarafından fertilize edilmesinin önüne geçer. Tüm bu sıralanan özellikler ART yöntemleri ile *in vitro mediumlarda* sperme kazandırılabilir(28,29). Erkek faktöründe majör sebeplerin idiyomatik anormal spermioqram ve varikozel olduğu araştırmalar ile gösterilmiştir. Endokrin ve anatomik patolojiler daha nadir olarak gözükmektedir(30).

Spermioqram erkek faktörünü değerlendirmede noninvaziv ve ucuz bir yöntem olup, tedaviyi yönlendirmede anahtar rol oynamaktadır. Temel semen analizi semen volumunun ölçümünü, sperm konsantrasyonunu, sperm motilite ve morfolojisini içerir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO-2010)'nün tanımladığı referans aralıklar Tablo 1'de gösterilmiştir(26). Ortalama absitans süresi spermilerin erkek ürere sistemindeki gelişimleri de göz önüne alındığında 2-3 gün olmalıdır.

Tablo 1.Semen analiz terminolojisi

Normozoospermi tüm semen parametreleri normal
Oligozoospermi sperm sayısının azalması
hafif-orta: 5-15 milyon/mL
ağır: <5 milyon/mL of semen
Asthenozoospermia azalmış spermatozoa motilitesi
Teratozoospermi anormal morfolojide spermatozoa sayısının artmış olması
Oligoasthenoteratozoospermi tüm sperm parametreleri anormal
Azoospermi semende hiç spermatozoa görülmemesi
Aspermi (anejakulasyon) ejakulatın hiç olmaması
lökositospermi semende artmış beyaz hücre sayısı
Nekrozospermi semende ölü spermatozoa görülmesi
Normal spermioqram analizi (World Health Organization, 2010)
Volum $\geq 1,5$ mL ph $> 7,2$
Sperm konsantasyonu ≥ 15 milyon/ml
Sperm motilitesi $> 40\%$ progresif+nonprogresif (a+b+c)progresif motilite $\geq 32\%$
Morfoloji (strikt kriteri) $>4\%$ normal forms
Beyaz hücre sayısı (peroksidaz pozitif) >1 million/mL
Sperm sayısı ≥ 39 milyon spermatozoa/ejakulat

Semen volumu 1,5-5cc olmalıdır. Gerekenden az volüm retrograd ejakulasyonu veya aksesuar glandlardaki inflamasyonu yansıtır olabilir. Sperm konsantrasyonu veya dansitesi, total ejakulattaki mililitredeki sperm sayısını ifade eder. WHO'nun önerdiği tedavi aralığı <20

milyon/ml dir. Motil sperm sayısı, total ejakulattaki progresif hareketli sperm yüzdesi olarak tanımlanır ve spermioqramdaki en önemli parametrelerden biridir. Anormal motilite ile birlikte sperm konsantrasyonunun, fertilité üzerinde zayıf prognoz etkisi vardır. Sperm morfolojik özelliklerini tanımlamak amacıyla 1986'da Kruger tarafından Tygerberg strikt kriterleri tanımlanmıştır(31). Buna göre sperm baş, boyun ve kuyruk kısımları ayrı olarak değerlendirilir. Bu sisteme göre fertil erkeklerde bile zayıfta olsa anormal morfolojide spermeler mevcuttur. Ancak IVF tedavisin başarısı Tygerberg strikt kriterlerine uygun korelasyon göstermektedir. %14 ve üzerindeki değerler normal olarak kabul edilir ve IVF tedavisi ile başarı oranları yüksektir. %4-14 orta derecede zayıf prognozlu, <%4 değerlerde ise ciddi zayıf prognozludur. Beyaz hücre sayısı ise spermioqramdaki germ hücreleri ve lökositlere karşılık gelir. WHO >1 veya >5 milyon/ml (lökositler ile germ hücreleri ayrı tanımlanmalıdır) değerlerini anormal kabul etmektedir. Spermioqramdaki germ hücreleri, spermatogenezis defektini ifade ederken, lökositler ise inflamasyon ile ilişkilidir ve kötü prognozu işaret eder. Her erkekte sperm kalitesi bir örnekten diğerine göre farklılık gösterebileceğinden en az 1 ay ara ile en az 2 spermioqram örneği incelenmelidir.

Spermioqram sonuçlarındaki normalin altındaki motilite, morfoloji ve konsantrasyon değerleri erkek faktör infertilitesi ile ilişkilidir. Sebebi açıklanamayan infertilitede daha çok artifisyonel inseminasyon tercih edilirken, varikoselde cerrahinin yeri hala tartışmalıdır. Varikoseli olan infertil erkekler fertil olanlarla karşılaştırıldığında, varikoseli olanların FSH düzeyinin yüksek, sperm kalitesinin bozuk ve tedavi neticesinde gebelik oranlarının daha kötü olduğu izlenmiş ve varikosektomi ile bu parametrelerde düzelme olduğu saptanmıştır(32).

Sonuç olarak erkek infertilitesi olasılığı subfertil semen parametreleri sayısına göre artar. Konsantrasyon, motilite ve morfoloji; bir tanesi anormal ise 2-3 kat, eğer 3 tanesi anormal ise 16 kat artar (33).

YAŞ VE AZALMIŞ OVER REZERVİ

Yaş ve infertilite arasındaki ilişki iyi tanımlanmıştır. Kadınlarda erken 30lu yaşlarda daha yavaş artarken, geç 30'lu ve 40'lı yaşlarda infertilite oranı hızla artar. Kronolojik yaş, ovarian rezervin önemli bir göstergesi olduğundan spontan veya ART ile oluşan reproduktif başarıyı etkileyen en önemli faktördür.

Oosit donasyon programlarında ortaya çıkan sonuçlara göre genç kadınlardan alınan oositler, yaşlı kadınlara transfer edildiğinde elde edilen gebelik oranları genç kadınlarınkine yakın olmaktadır(34). Ayrıca inseminasyon yapılan kadınlarda da 30 yaşından önceki gebelik hızı %75, 30-35 yaş arası %62 ve 35 yaşından sonra ise %54 olarak bulunmuştur(35). Bu gözlemler fertilitenin endometriumun değil, oositin yaşı ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

Ovarian rezerv, overdeki primordiyal folikül sayısı ile ilişkilidir. Primordiyal folikül ise gelişim gösterebiliyor ise kaliteli bir oosit taşıyor anlamına gelir. Çünkü yaş ovarian rezervin önemli bir göstergesi olsa da kontrollü ovarian stimülasyon tedavileri göstermiştir ki ileri yaşlardaki bazı kadınların tedavi cevabı da iyi olmaktadır. Bunun anlamı, over yaşı ile kronolojik yaş arasında tam bir korelasyon olmadığıdır.

Bu sebeplerle over rezervini değerlendirebilmek amacıyla ovarian rezerv testleri tedavi öncesinde kullanılmaktadır. Bunlar:

- 3.gün FSH düzeyi
- Serum İNHİBİN B ve MÜLLERİAN İNHİBE EDİCİ HORMON(MIH) düzeyi
- Klomifen sitrat testi
- TV USG ile antral folikül sayımı ve over volumu değerlendirilmesi

Basal 3.gün FSH değeri, over rezervi ile iyi korelasyon gösterir ve Klomifen sitrat testiyle birlikte duyarlılığı artar(sırasıyla %8 ve %26). FSH'ın 10 un üzerinde olduğu olgularda

ART uygulamalarında over cevabı azalmaktadır. Klomifen sitrat ise hipotalamohipofizer akt üzerinde antiöstrojenik etkilidir, hipofizin FSH üzerindeki suprese edici etkisini azaltır. Siklusun 5.-9. günleri arasında 100 mg Klomifen sitrat verilir. Siklusun 3. ve 10.günlerinde FSH ölçülür. Bu ölçümlerde ortalama 10-12 mIU/ml ise anormal kabul edilir. Her iki testin sonuçlarının IVF tedavisi üzerindeki spesifitesi yüksektir(%96).

İnhibin B ise, gonadotropin etkisindeki granuloza hücrelerinin fonksiyonel kapasitesini gösterir ve hipofiz üzerinde FSH suprese edici etkisi vardır. Azalmış (< 400 pg/ml) İnhibin B düzeyleri, azalmış over cevabı ve dolayısıyla azalmış ART başarısıyla ilişkilidir(36).

Müllerian inhibe edici hormon (MIH/MIS/AMH), over rezervi ve over stimülasyonu değerlendirmede kullanılan güncel bir hormondur. Preantral foliküller ve küçük antral foliküllerin granuloza hücrelerinden salgılanarak, yeni primordiyal foliküllerin gelişimini baskılar. Artan yaş ile birlikte, MIH düzeyi giderek azalır, menopozda tespit edilemeyecek düzeye gelir. Erken foliküler fazda azalmış MIH (<8 pmol/L) düzeyleri, ART sikluslarında azalmış over yanıtıyla korelasyon gösterir(37).

OVULATUAR FAKTÖR

Kadın infertilitesinin %30-40 ı ovulatuvar sebeplerden kaynaklanır. Ovulasyon bozukluğu diğer faktörler içerisinde nispeten daha kolay tanı alan ve tedavi edilebilen bir durumdur. Normal olarak menstruel siklusun ortalama uzunluğu 25-35 gün olup, çoğu kadında 27-31 gündür. İnfertil bir çift değerlendirilirken mutlaka menstruel siklusun ovulatuvar durumu sorgulanmalıdır. Çünkü ovulasyon, konsepsiyon için şarttır. Ovulasyon durumunda bozukluk anovulasyon (hiç olmaması) ya da oligoovulasyon (nadir sıklıkla) şeklinde olabilir. Mevcut tanıya göre uygun KOH ve ART yöntemi tercih edilecektir. Ovulasyon bozukluğunun tanısı için kullanılan yöntemler şunlardır:

Luteinizan Hormon Düzeyleri

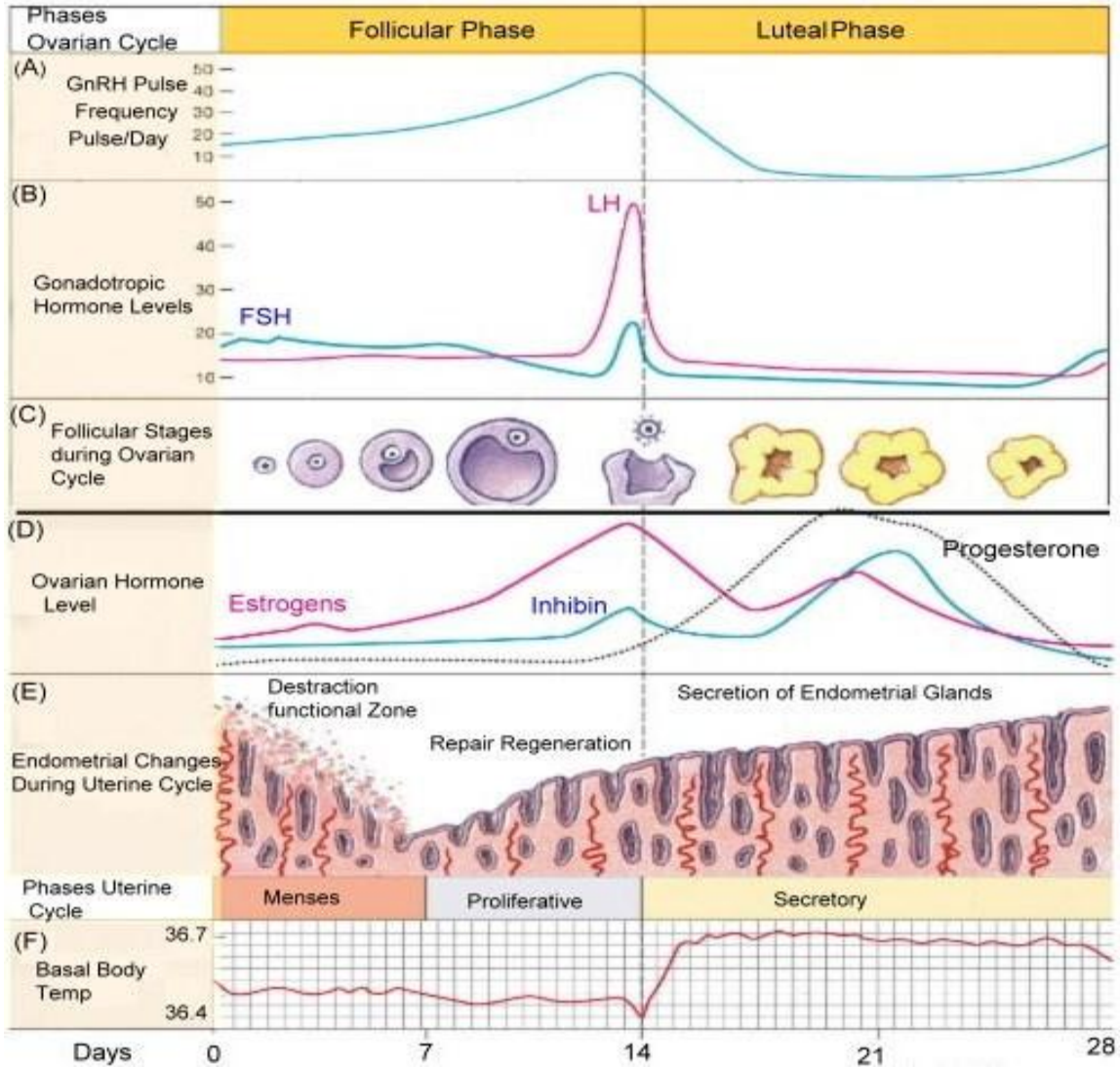
Luteinizan hormonun dokümanite edilmesi, ovulasyonun gerçekleştiğinin tahmin edilmesinde uygun yöntemlerden biridir. Ovulasyon LH dalgalanmasından 34-36 saat, LH pikinden 10-12 saat sonra gerçekleşir(38). LH'nın yarı ömrü kısa olup idrar ile atılmaktadır. İdrar LH seviyesi kritik düzeyi (40 mIU/ml) geçtiği zaman ovulasyonu belirleyici kitler pozitif olmaktadır. Genel olarak LH kitleri olarak bilinen bu ürünler, siklus ortası LH artışını tespit edebilmektedirler. Bu kitler, ilerlemiş hormon ölçüm teknolojileri sayesinde basit, ucuz ve çabuk olarak uygulanabilmektedirler. Testlerin pozitif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla %96 ve %90'dır (39). %5-10 hastada bu kitler ovulasyonu tespit edememektedir, sebebi testin tespit edemeyeceği LH düzeylerinde pik olması veya kişisel antikorlar olabilir. Bu hastalarda takip amaçlı serum LH düzeyi tercih edilebilir.

Bazal Vücut Isısı(BBT)

BBT, dinlenme halindeki vücut ısısıdır. Foliküler fazda düşük, ovulasyondan sonra luteal fazda 0.4-0.8°C artar ve mensturasyondan hemen önce tekrar bazal seviyelerine düşer. Ovulatuvar kadında bazal vücut sıcaklığında izlenen bu bifazik patern, sabah yapılan ölçümlerle kolaylıkla tespit edilebilir. Bazal vücut sıcaklığının en düşük seviyesi, ovulasyondan bir gün önce ya da ovulasyon günü izlenir.

Termojenik kayma yani bazal vücut ısısının yükselmeye başlaması, progesteron konsantrasyonu >5 ng/ml olduğunda gerçekleşir. Bu dönem LH yükselişinden 1-5 gün sonra başlar ve ovulasyondan sonraki dördüncü güne kadar sürer. BBT en yüksek dereceye ulaştığında fertil periyod bitmiştir.

Tablo 2. Ovulasyonun fizyolojisi



Dolayısıyla en fertil dönem bazal vücut sıcaklığının midsiklus pikinden 7 gün önceki dönemdir(40).

Midluteal Serum Progesteron Konsantrasyonu

Serum progesteronunun yüksekliği ovulasyonun gerçekleştiğinin indirekt bir kanıtıdır. Takip edilmek istendiğinde midluteal serum progesteron değeri kullanılmalıdır. İdeal bir 28 günlük menstrual siklusda 21.-23. günler arasına denk gelmektedir. Laboratuvarlar arasında fark olsada 3ng/ml üzerindeki değerler ovulasyonun oluştuğunun objektif bir kanıtıdır. Ancak serum progesteron düzeyleri pulsasyonlar şeklinde olup gün içinde farklılık

gösterebileceğinden düşük değerleri ovulasyonun olmadığı anlamına gelmez. Ayrıca ölçümün yapılma zamanı o kişinin kendi siklus uzunluğuna göre ayarlanmalıdır, bu zamanda beklenen mensturasyondan yaklaşık 1 hafta öncedir(41).

Ultrason ile Monitorizasyon

Dominant folikülün gelişimin ultrasonografi ile takibi esasına dayanır. Ovulasyon gerçekleştiğinde takip edilen folikül küçülür ve cul-de-sac da sıvı miktarı artar. Preovulatuvar foliküllerin büyüme hızı yaklaşık 2mm/gündür. Ovulasyon öncesi folikül ortalama 21-23mm'ye ulaşır, ancak 17mm'de veya 29mm'de de ovulasyon gerçekleşebilir. Bazen folikül daha hızlı büyüebilir ya da erkenden kollabe olabilir, bu durumda rüptüre olamaz ve LH artışından sonra kist olarak persiste eder. Bu durum 'persiste rüptüre olmamış folikül' olarak adlandırılır(42). Bu gibi ovulasyon bozuklukları seyrek olarak rastlanır. Ancak nonsteroidal antiinflamatuvar ajanlar ovulatuvar süreci bozabileceğinden, gebelik planlayan veya tedavi gören hastaların menstrüel siklusunda kullanılmamalıdır.

TUBAL, PARATUBAL VE PERİTONEAL FAKTÖR

En sık görülen infertilite nedenlerindedir, infertil çiftlerin yaklaşık %30-40'ında görülmektedir. Tubal faktör, tubalarda parsiyel ya da total obstrüksiyon yaratan geçirilmiş PID, pelvik veya tubal cerrahiden kaynaklanır. Peritoneal faktörler ise endometriozis, PID ve pelvik cerrahinin sebep olduğu paraovarian ve paratubal adhezyonlardır. Tekrarlayan ilk PID atağı sonrası tubal infertilite riski % 12, ikinciden ve üçüncüden sonra ise sırasıyla %23 ve %54'dür(43). Fakat tubal hasarı olan infertil hastaların yaklaşık yarısında ise tanımlanabilmiş herhangi bir faktör bulunamamıştır. Bu hastaların birçoğunda geçirilmiş subklinik klamidya infeksiyonu olduğu tahmin edilmektedir(44). Laparoskopik adezyolizis sonrası ilk bir yıl içerisinde, gebelik şansı %50, hafif dereceli distal oklüzyonlarda %80, orta dereceli oklüzyonlarda %30, ciddi oklüzyonlarda ise %15'dir. Distal tubal oklüzyonların prognozunu

belirleyen adezyon dışındaki faktörler, tubal kalınlık ve mukozal yapıdır. Birçok gebelik cerrahiden sonraki ilk 2 yıl içerisinde gerçekleşir. Tanı da tubal yeterliliği değerlendiren iki test histerosalpingografi (HSG) ve laparoskopi (L/S)'dir.

HSG

HSG, tubal patensi belirlemede kullanılan başlangıç tanı testidir. Tubal oklüzyonu tanımlamada duyarlılığı %85-%100 dür. Siklusun ortalama 6.-11.günleri arasında yapılması önerilmektedir. HSG ile tubal oklüzyon var ise gerçekte yaklaşık %60 ihtimalle tubalar açık olabilirken, açıklık var ise de %5 oklüzyon varlığı söz konusudur. Her iki tubada da patoloji saptanması halinde ileri tetkik yönetime geçilmelidir.

L/S

Tubal faktörün değerlendirilmesinde laparoskopi kesin tanımlayıcı test olarak bilinmektedir. Antibiyotik kullanımı ve enfeksiyöz komplikasyon riskleri HSG ile benzerdir. İncelemede uterus, ön-arka cul-de-sac, overler, tubalar ve bu dokuların serbestliği değerlendirilir. Kromotubasyon (metilen mavisi/indigokarmen) ile tubal geçirgenlik hakkında fikir sahibi olunabilir. Ayrıca tanı anında aynı zamanda operatif işlemlerde (fimbriyoplasti, salpingostomi, adezyolizis, endometrioma eksizyonu), gerçekleştirilebileceğinden HSG'den daha üstündür. L/S ile elde edilen sonuç HSG'ye göre daha kesin olacağından, unilateral/bilateral tubal tıkanıklığın tespit edilmesi halinde prognoz HSG ile aynı sonucu olanlara göre daha kötüdür(45).

SERVİKAL VE İMMUNOLOJİK FAKTÖRLER

Servikal faktör bağımlı infertilite yaklaşık %5 sıklıkta görülmektedir. Servikal faktörün varlığını değerlendirme de kullanılan klasik test, postcoital testtir(PCT). Bu test ile servikal mukus ile spermin ilişkisi, spermin servikal mukustaki varlığı ve motilite durumu ile servikal

mukus kalitesi değerlendirilmiş olur. Ancak bu test ile spermlerin gerçek motilite, morfoloji ve sayısı hakkında fikir yürütmek doğru değildir. Testin öncesinde 2 günlük absitans süresi ve beklenen ovulasyon zamanından 1-2 gün önce olması servikal mukusun östrojenizasyon kalitesi bakımından önemlidir. Testin değerlendirmesi ise ilişkiden 2-12 saat sonra yapılmalıdır. Test sırasında mukusun viskozitesi ‘spinnbarkeit’ özelliği, ferning testi ile östrojenizasyonu ve mukus içeriğindeki sperm özelliği büyük saha mikroskopisi ile değerlendirilir. Birçok alanda motil sperm gözlenmesi testin pozitif olduğu anlamına gelir. Kötü kalite mukus, servisit, daha önce herhangi bir sebeple laser/kriyoterapi almış serviks hasarı, antiöstrojen tedavisi almış olma sebebiyle olabilir. İyi kalite mukusta sperm olmaması, ejakulasyonun olmaması, ilişkinin yetersiz olması, spermid ajanların kullanımıyla ilişkili olabilir. Servisitın uygun tedavisi, gerekirse östrojen kremleriyle destek olunabilir.

Bozulmuş, hareketsiz veya pıhtılaşmamış spermlerin varlığı her iki partnerde olabilecek antisperm antikorların saptanması için ileri inceleme gerekliliğini gösterir(46).

Ancak PCT’in kanıtlanmış tanısal değeri yoktur. Çiftlerin çoğunda tedavi seçimini etkilememektedir. Testin uygulanması çiftlerde gereksiz bir stress yaratacağından önerilmemektedir. Antisperm antikor varlığında ya da sebebi bilinemeyen servikal faktörü olan infertil çiftler için IVF başarıyı arttıran tedavi yöntemidir(47).

UTERİN FAKTÖR

Tedavi gören infertil hastaların yaklaşık %15 inde uterin faktör mevcuttur. IVF tedavisi gören hastalardaki tedavi başarısızlığının uterin patolojilerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu sebeple infertil çiftlerin değerlendirilmesinde endometrial kavite çok önemlidir. Fonksiyonel veya anatomik bozukluklar tespit edilmesi halinde prognoz tedaviyle düzelebilmektedir(48).

İnfertilite ile ilişkili uterin faktörler endometrial polipler, submukoz myomlar, intrauterin

adezyonlar, müllerian anomaliler, in utero dietilstilbestrol maruziyeti (en sık T şekil uterus) ve muhtemel luteal faz defektidir.

HSG'nin tubal faktörde tanı duyarlılığı %85-100 iken, paratubal adezyonlarda ve uterin malformasyonlarda duyarlılığı sırasıyla %75 ve %44'dür(49). İntrauterin salin infüzyonu ile eşzamanlı olarak TVUSG uygulanarak elde edilen Sonohisterografi'nin (SİS), intrauterin anomalilerin tanısını koymada doğruluk değeri ise %90'a yakındır. Ayrıca ofis histeroskopi (H/S)'nin endometrial kaviteyi tanımlamadaki spesivitesi %95, sensitivitesi %100'dür(50).

İnfertilitenin değerlendirilmesinde tek fonksiyonel uterin anormallik kronik endometrittir. Servisit ve bakteriyel vajinozisi içeren semptomatik alt genital sistem enfeksiyonları tedavi gerektirmektedir.

Gelişimsel uterin anormallikler gebelik kayıpları ve obstetrik komplikasyonlar ile ilişkilidir ve fakat gebe kalabilme potansiyelini etkilememektedir. Septat uterus bu kuralın dışındadır. Sıklığı infertil kadınlarda %1'dir(51). Primer olarak septoplasti gerektirmese de reproduktif performans kötü olacaktır (%80 gebelik kaybı), çoğu kayıplar ise ilk trimesterde olacaktır(%65). Operatif H/S ile yüksek başarı oranı ve düşük morbiditeden ötürü, 35 yaşın üzerinde ve nedeni açıklanamayan infertilitesi olanlarda IVF tedavisi planlanıyorsa, septoplasti önerilmektedir.

Leiomyomlarda ise, eğer submukoz ise implantasyon oranları düşüktür. Histeroskopik myomektomi sonrasında en iyi prognoz küçük intrakaviter myomu olanlarda tespit edilmiştir. Asemptomatik ve kaviteye bası yapmayan myomların tedavisi gereksizdir.

Asherman sendromu (intrauterin sineşi), hipomenore, amenore veya dismenore ile kendini gösterir. Kavitede mukozal, fibromuskular veya konnektif dokuya ait bantlar mevcuttur. İntrauterin adezyonların histeroskopik rezeksiyon sonrası ağırlık derecelerine göre %70-

90'ında siklus normal olarak geri döner, başarılı gebelik ve doğum oranları ise %25-70 arasındadır(52).

Endometrial poliplerinin fertil kadınlarda görülme sıklığı %3-5 arasında değişmektedir. İnfertilite üzerindeki sonuçları çelişkili olup, asemptomatik ise tedavi önerilmemektedir(53).

Endometrial Fonsiyon Bozukluğu ve Luteal Faz Defekti

Foliküler faz boyunca endometrium dominant folikülden salgılanan östrojenle ilişkili olarak proliferatif patern gösterirken, luteal fazda salgılanan korpus luteumdan salgılanan progesteron etkisiyle sekretuar patern göstermektedir. Anovulasyon gösteren kadınlarda, endometrium hiperplastik olacağından biyopsi ile bu durum kanıtlanabilir olmaktadır ve luteal faz yetersizliğinin tanısında geçmişte önerilmiştir. Luteal faz yetersizliğinin infertil kadınlarda görülme prevalansı %5-10 olup, tekrarlayan gebelik kaybı olan kadınlarda sıklığı daha yüksektir. Luteal fazdaki korpus luteumun devamlılığı için, LH desteğine ihtiyacı vardır. LH salınımı için ise pulsatil GnRH salınımı gereklidir. Bu sistemdeki herhangi bir anormallik luteal faz yetersizliği sebebidir(östrojen klirensini bozan çeşitli endokrinopatiler). İşte endometriumun örneklenmesi ile ortaya çıkan örneklem tarihi ve histolojik tarih arasındaki fark 2 günden fazla ise luteal faz defekti tanısı için altın standart olmaktadır(22-25). Ancak günümüzde biyopsi yapılma zamanındaki varyasyonlar ve zaman kaybı dikkate alındığında bir tanı aracı olarak üreme yetersizliği olan kadınlara sunulmamalıdır.

AÇIKLANAMAYAN İNFERTİLİTE

Nedeni açıklanamayan infertilite tanısı, infertilite araştırmasındaki tüm standart elemanların normal çıkması sonrasında konulmaktadır. İnsidansı %10-30 arasında değişmektedir. Tanı, normal semen analizi, ovulasyonun objektif kanıtları, normal uterin kavite ve bilateral tubal açıklık olduğunda konulur. Bu hastalarda ortalama siklus fekunditesi %3,8, normal fertil çiftlerden %80-90 daha düşüktür. Laparoskopinin nedeni açıklanamayan infertil çiftler için

yeri tartışmalı olup, uygulandığı takdirde bu çiftlerde daha önce tespit edilememiş leiomyomlar ile peritubal adezyonlar ve endometriozis saptanmaktadır. Nedeni açıklanamayan infertil hastalarda L/S'nin HSG'ye olan üstünlüğü, HSG'de tespit edilemeyecek olan pelvik durumun gözönüne serilmesi, tedavi şansı verebilmesidir. Endometriozisin infertilitedeki rolü net anlaşılamamakla birlikte pelvik anatominin distorsiyonu, tuboovarian ilişkinin anatomik olarak bozulması, inflamasyon yaratarak salgılattığı sitokinlerle ovulasyonu ve fimbriyalar tarafından oosit yakalamasını bozduğu düşünülmektedir. Tedaviden bağımsız gebelik oranları artan kadın yaşı ve infertilite süresi ile ters orantılıdır.

Her ne kadar nedeni açıklanamayan infertil çiftlerin çoğu tedavi almadan gebe kalabileceklerse de, yıllarla azalan gebe kalma oranları nedeniyle, tedavi için başvurmaları gerekmektedir. Tedavini amacı fekundabiliteyi arttırmaya yöneliktir. Gonadotropin ve IUI (intrauterin inseminasyon) ile 3 siklus tedaviden sonra fekundabilite azalmaktadır, bu çiftlere ek siklus superovulasyon ve IUI yerine ART önermek daha uygun olacaktır(54,55). IVF ile ortalama siklus fekundabilitesi %20,7'ye kadar ulaşabilmektedir.

TEDAVİ SEÇENEKLERİ

Yardımcı üreme teknikleri(ART), overden oositlerin elde edilmesini sağlayan tüm teknikleri içermektedir. En yaygın kullanılan yöntem IVF'dir.

ART'nin diğer yöntemleri ise, ICSI (intrasitoplazmik sperm injeksiyonu), MESA (mikrocerrahi epididimal sperm aspirasyonu), TESE (testiküler sperm ekstraksiyonu), GIFT (gamet intrafallopian transfer), ZIFT (zigot intrafallopian transfer) ve ET (embriyo transferi)'dir. Bunlar içerisinde GIFT VE ZIFT invaziv yöntemler olup, sınırlı kullanım endikasyonuna sahiptir, günümüzde pek tercih edilmemektedir. ICSI, IVF'den sonra en çok tercih edilen yöntemdir.

IVF Endikasyonları

Tubal Faktör İnfertilitesi

Postoperatif gebelik oranlarının %50'yi geçmesinden ötürü hafif derecede tubal hastalığı olanlarda rekonstrüktif tubal cerrahi önerilmektedir. Ancak şiddetli tubal hastalığı olanlarda tedavi seçimi IVF'dir. Cerrahi ile elde edilen gebelik oranları %10-35 olup, IVF'den düşüktür. Aynı zamanda hafif distal tubal tıkanıklığı olup operasyon sonrası ilk 1 yıl gebe kalamayan kadınlarda, tekrarlayıcı distal tubal hastalığı olanlar ve ileri yaşta distal tubal tıkanıklığı olanlarda ilk seçenektir. Proksimal tubal tıkanıklığın tanısı güç olup, H/S tubal kanalizasyon ile tedavi şansı var gibi gözükse de, cerrahi teknik başarısız olduğunda veya postoperatif infertilite 6-12 ay daha devam etmesi halinde IVF tercih edilmelidir. Bilateral tubal tıkanıklık ve geçirilmiş tubal rekanalizasyonda IVF endikasyonudur(56).

Endometriozis

Endometriozisde gözlenen düşük implantasyon ve gebelik oranlarının azalmış endometrial reseptiviteden çok oosit kalitesi ve sonraki embriyogeneze bağlı olduğu düşünülmektedir. Oosit tutulumunu etkileyen bozuk adneksiyel anatomi de bir sebeptir. Minimal ve orta derecede endometriozis hastaları ekspektan yönetilebileceği gibi başarısız IUI girişimi sonrasında IVF tedavi seçeneği olmalıdır. İleri evre endometriozisde ise yaklaşım cerrahi sonuçlara, yaşa ve eşlik eden diğer infertilite faktörlerine bağlıdır. Endometriomalı hastalarda yaklaşık cerrahi tedavi sonrası gebelik oranları 1-3 yılda yaklaşık %50, cul-de-sac'ı tamamen oblitere olanlarda ise %30 olup, IVF ile karşılaştırılabilir düzeydedir. Şiddetli semptomları olanlarda cerrahi ilk seçenek olabilir.

Erkek Faktörü İnfertilitesi

Birçok infertil erkek eğer doğru tanı alır ve tedavi edilir ise tıbbi/cerrahi tedavi edilebilir bozukluğa sahiptir. Tedavi mümkün değil veya başarısız ise ejakulattan, epididimden veya testisten elde edilen spermiler ile IVF veya ICSI seçenek olabilir. Sperm sayısı 13.5 milyon/ml'den az, ileri motilitesi %33 ve morfolojisi strikt kriteri WHO III standartlarına göre %9'dan az ise erkek faktörü kaynaklı infertilite oranı artmıştır. Bu parametrelerin biri anormalse 2-3 kat, ikisi anormalse 5-7 kat ve üçü de anormalse 16 kat artmış infertilite riski vardır. IUI bu hastalar için ilk seçenektir. Ancak IUI sonuçları da artmış kadın yaşı ve eşlik eden diğer infertilite faktörlerinden etkilenir. İnfertil partner spermi kullanıldığında siklus başına fekdite %3-10 arası değişmektedir. IUI mümkün olmadığında veya IUI prognozu kötü ise IVF mantıklı bir seçenektir. <3 milyon total motil sperm sayısı veya <%4 morfoloji de konvansiyonel IVF ile gebelik oranları düşüktür. Şiddetli oligoastenospermi veya teratospermi ICSI ile yapılacak bir ART tekniği için endikasyondur(57,58).

Açıklanamayan İnfertilite

Fertilizasyon anormallikleri, erken embriyo gelişimi ve implantasyon bozukluklarının infertilite etkeni olduğu düşünülen bu grupta, ekspektan yönetim ile fekdite oranı %3,8 iken, IVF ile bu oran %28,5'a ulaşabilmektedir. Bu durum normal fertil çiftlerin durumuna çok yakın olup, ek faktörler ve uygulanan diğer tedavilerin başarı sonuçlarına göre IVF seçenek haline gelebilir.

Ovarian Yetmezlik ve Ovulasyon Bozukluğu

Ciddi ovarian yetmezliği olan gruplarda over stimülasyon yanıtlarına göre başarı şansı artabilir. Ancak bu grup hastalarda >42 yaşın üzerinde işlemin yasal olduğu ülkelerde oosit donasyonu ile IVF başarısı, kendi oositleri ile elde edilen başarıya göre çok daha yüksektir.

Ovulasyonu olup, tedaviye cevap vermeyen hastalar (polikistik over sendromu, hipogonadotropik hipogonadizm vb) da IVF adaydırlar.

Tedavi Başarısını Arttıran Prognostik Faktörler

IVF ile ilişkili başarı oranları bir çok faktöre bağlıdır. Birçok faktör tedaviye başlamadan bilinemez. Stimülasyona verilecek cevap, oluşacak embriyoların sayısı ve kalitesi buna örnektir. Ancak IVF siklusuna başlamadan önce birincil başarı göstergeleri maternal yaş, over kapasitesi ve önceki üreme performansıdır. Genç ve normal over kapasiteye sahip kadınlarda gebelik ihtimali yaşlı ve kapasitesi düşük olanlara göre daha yüksektir. Yaş artışı ile oositlerdeki anoploidi prevalansı da artarak fertilité ve spontan abort riskini de artırır. Bu durum bozulmuş mayotik iğcik formasyonundan kaynaklanmaktadır.

Yaşa bağımlı etkilenen diğér bir faktör ise over rezervidir. Daha öncede belirtildiği gibi herhangi bir kadının sahip olduğu oosit sayısı genetik olarak bellidir ve hayat boyu azalır. Doğumda 1-2 milyon iken, pubertede 300.000'e, 38 yaş civarında ise 25.000'e kadar düşer. Menopozda bu rakam 1000'den azdır. Olgun foliküller yaş ilerledikçe, azalan foliküler havuzda daha az inhibin B salgılar ve erken foliküler fazda FSH seviyeleri yükselmeye başlar. Sikluslar arası artan FSH konsantrasyonu daha erken folikülü kurtarmaya (recruitment) sebep olur ve serum östradiol seviyelerinde daha erken bir artış, daha erken foliküler faz ve tüm siklus süresinde kısalma ile beraberdir(59).

IVF tedavisinin sonuçlarını elbette ki elde edilen sperm kalitesi ve embriyo da etkilemektedir, bunlara daha sonra ayrıntılı şekilde değinilecektir.

IVF Tedavisinde Ovarian Stimülasyon Protokolleri

1. Doğal Siklus:

Doğal sıklusa bırakılan IVF'lerde siklus iptal oranları yüksektir. (%25-75). Siklus başına başarı şansında oldukça düşüktür. Doğal IVF siklusu over uyarımına zaten düşük cevap veren hastalar için (1-2 folikül) veya stimülasyonu tolere edemeyecek hastalar için bir seçenek olabilir. Tedaviye GnRH antagonisti eklenmesi ile erken LH piki engellenmiş olur, bu doğal IVF siklusu sonuçlarında düzelmeyi sağlayabilir(60).

2. Klomifen sitrat:

Siklusun 3. Günü 100 mg/gün dozunda başlanır. 5-8 boyunca tedaviye devam edilir. Doğal sıklusa oranla siklus iptal oranları daha düşüktür. Toplanan oosit, transfer edilen embriyo ve gebelik oranları daha yüksektir. Prematür LH yükselmesini engellemek için GnRH antagonisti ve ekzojen HCG tedaviye eklenebilir(61).

3. Klomifen sitrat ve Ekzojen Gonadotropin ile Ardışık Tedavi

Multifoliküler gelişim sağlanması avantajıdır. Beş gün 100 mg/gün dozunda klomifen sitrat tedavisine ek olarak, düşük doz ekzojen gonadotropin tedavisi başlanır. Transfer ve kriyoprezervasyon için long protokole oranla daha az oosit ve embriyo elde edilir, ancak gebelik oranları daha az değildir ve OHSS riski daha düşüktür. Çok tercih edilememesinin nedeni total reproduktif potansiyelinin daha az olmasıdır. Erken LH yükselmesini engellemek için GnRH antagonisti de tedaviye eklenebilir(62).

4. Long Protokol (Uzun Etkili GnRH Agonistleri ile Yapılan Down Regülasyon Sonrasında Ekzojen Gonadotropin Uyarımı):

Uzun etkili GnRH agonistleri, endojen hipofizer gonadotropin sekresyonunu suprese eder. Böylece ekzojen gonadotropin stimülasyonu sırasında oluşabilecek prematur LH yükselişi engellenmiş olur. Bu uygulama sayesinde hastanın uyumunu zorlaştıran sık LH ölçümüne gerek kalmadığı gibi, siklusların %20'sinin iptal olan prematur luteinizasyonda engellenmiş

olur(63-65). GnRH agonist down regülasyonundan sonra siklusların sadece 2%'sinden azından prematur LH yükselmesi izlendiğinden, foliküler yeterince büyüyene kadar stimülasyon devam edebilir. Long protokol ART için uzun yıllar tercih edilen stimülasyon protokolü olmuştur. Tek dezavantajı, uzun süreli agonist tedavisinin, takip eden ekzojen gonadotropin tedavisine yanıtı azaltmasıdır. Dolayısıyla uygun foliküler gelişimi sağlamak için kullanılan total gonadotropin dozu ve miktarını arttırmak gerekebilir. Klasik tedavi protokolünde GnRH agonist tedavisine, midluteal fazda (ovulasyondan 1 hafta sonra) başlanır. Bu dönemde endojen gonadotropinler en düşük seviyededir. GnRH agonist tedavisi (örneğin 1mg/gün leuprolid asetat) adet döneminde ya da gonadotropin stimülasyonuna kadar uygulanır. Daha sonra HCG uygulama gününe kadar yarı dozda devam edilir. GnRH agonist uygulaması ile depolanmış hipofizer gonadotropinler birden salınır (flare etki). Ancak bu hafif artışın, foliküler gelişimi sağlayabilecek etkisi yoktur(66,67).

GnRH agonist tedavisine erken foliküler fazda da başlanabilir ancak down regülasyon sağlamak için gereken süre uzar ve bu uygulamayla kistik folikül gelişimi daha fazladır. Agonist tedavisine luteal fazda başlandığında, gonadotropinlerle daha çok folikül ve oosit elde edilebilmektedir(67,68). Yine bu şekilde uygulandığında oosit ve embriyo sayısı artar. GnRH agonist tedavisine ideal başlama zamanı 28 günlük siklusun 21.günüdür. BBT'de artış yada üriner LH ölçümü ile ovulasyon zamanı tespit edilerek, ovulasyondan sonraki 8. gün de tedaviye başlanabilir.

Kullanımdaki GnRH agonistleri:

- ✓ Leuprolid asetat, subkutan
- ✓ Nafarelin asetat, intranasal
- ✓ Buserelin asetat, subkutan/intranasal
- ✓ Triptorelin asetat, subkutan olarak uygulanır.

Bütün agonistlerin etkilerinin eşit olduğu bildirilmiştir. Leuprolid ve Goserelin'in depo formları da vardır ancak gonadotropin total doz ve süresini uzatmak gerekebilir.

Standart tedaviye iyi cevap vermeyen hastalarda;

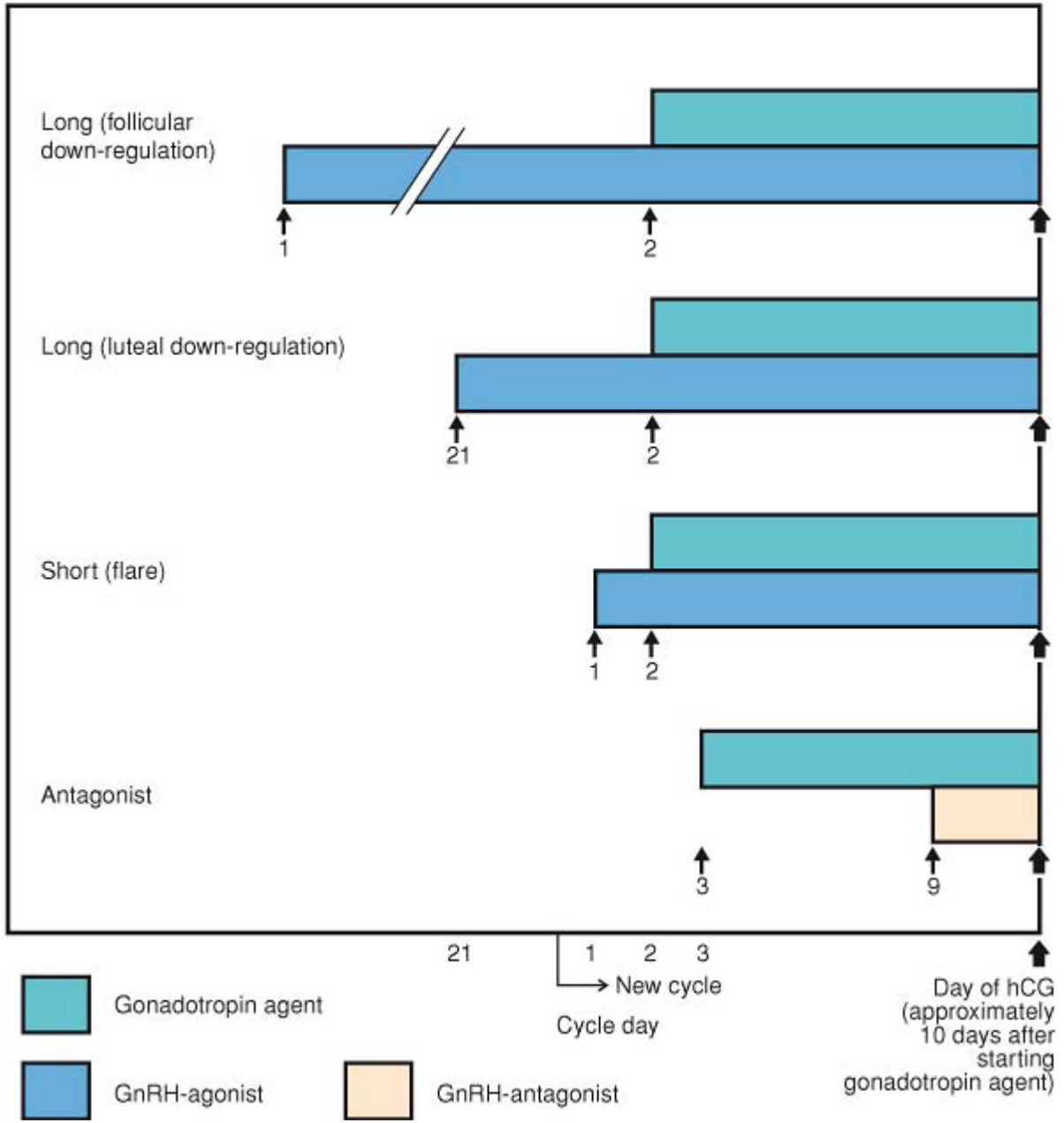
1. GnRH agonist dozu yarısından fazla azaltılabilir
2. Gonadotropin uygulamasının 5.günü agonistler kesilebilir
3. Stimülasyona başlandığında agonistler tamamen kesilebilir. Böylece gonadotropin stimülasyona cevap iyileşir. Gonadotropin stimülasyonuna başlamadan önce serum östradiol (E2) seviyelerini ve ovarian foliküler aktiviteyi takip etmek gerekir. İdeal olarak etkin GnRH agonist ile serum östradiol salınımının baskılanması (<40 pg/ml) ve over folikül aktivitesinin baskılanması(erken dönemde yapılan TVUSG de 10-15 mm çapından daha büyük folikül saptanmaması) gerekir.

Bazı yazarlar, foliküler kist oluşumunun gonadotropin stimülasyonuna iyi cevap oluşmayacağına bir işareti olduğunu ve düşük sayıdaki oosit ve embriyo sayısı nedeniyle, kötü bir IVF başarı oranı sağlayacağını iddia etmektedirler. Kimi yazarlar ise etkisi olmadığı görüşündedirler (67-71). Sonuçlar aynı olsa da siklus iptali ve kullanılan total gonadotropin dozu, kisti olan hastalarda artar. Ovarian kisti aspire etmek, stimülasyon cevabını kötü etkilemez hatta aspire edilen overde foliküler cevabı artırır(72). Ancak kontralateral over normale, infeksiyon riski yaratmamak için bu işleme gerek duyulmaz.

Gonadotropin klasik başlama dozu 225-300 IU/gün' dür. Kullanımda olan gonadotropinler üriner FSH, rekombinant FSH, üriner menotropin (hMG)dir. Hepsi subkutan olarak uygulanır. Fakat menotropin tercihen intramuskular kullanılır. Step-up ya da step-down protokolü kullanılabilir ancak step-down daha çok tercih edilen protokoldür. Foliküler steroidegenез için gereken LH dozu, LH reseptörlerinin %1'ine bağlanması gereken dozdur. Dolayısıyla GnRH agonist tedavisi sonrasında yine de az da olsa salınan LH, folikülogeneze yardım etmeye yeter (üriner FSH veya rekombinant FSH ile stimüle edilen). Ancak iyi

suprese olmuş sikluslarda LH konsantrasyonları yeterli olmaz rekFSH ve rekLH tedavisi denenebilir. Sadece FSH tedavisi ile stimüle edilip LH seviyelerinin iyice azaldığı vakalarda (<1 IU/L), kullanılan total gonadotropin dozu ve süresi artar, E2 seviyesi azalır, oosit ve embriyo sayısı azalır. Bunun dışında fertilizasyon, implantasyon ve gebelik oranları da azalmaktadır.

Stimülasyona cevap, E2 ve TVUSG ile takip edilir. İlk E2 ölçümü gonadotropin uygulanmasından 3-5 gün sonra yapılır ve 1-3 gün sonra tekrarlanır. Birçok kadına 7-12 gün stimülasyon gerekir. Amaç 17-18 mm çapında, en az iki ve 14-16 mm çapında birkaç tane folikül sağlamak ve kohortun büyüklüğüne ve maturitesine uygun E2 seviyelerine ulaşmaktır (14mm veya daha büyük folikül başına 200 pg/ml). Yararı tartışmalı olmakla beraber endometrial gelişimde incelenmelidir. HCG günü endometrial kalınlık > 8-9mm ya da trilaminer görünümdeyse prognoz oldukça iyi, endometrium <6-7 mm ise ve homojen görünümdeyse prognozun kötü olduğu bildirilmiştir(73). Endometrium kalınlığının çok arttığı (<14 mm) vakalarda da prognozun kötü olduğu bildirilmiştir. Foliküller ovulasyon için hazır olduğunda, hcg 5000-10.000 mIU dozunda uygulanır (rekombinant formu da mevcut olup 250 µgr'dır). Gonadotropin stimülasyonuna iyi cevap veren hastalarda da midsiklus progesteron seviyeleri artabilir. Progesteronun midsiklusta yükselmesi >0,9-1,0 ng/ml, özellikle zayıf yanıt veren hastalarda önemlidir.



Tablo 3.

Kontrollü ovarian hiperstimülasyonda tercih edilen GnRH antagonist ve agonistleri ile gonadotropinlerin IVF sikluslarında uygulama protokolleri

Yüksek cevaplı hastalar

Artmış masif ovarian büyüklük, varolan tüm foliküllerin çapında artış ve belirgin serum östradiol artışının (>3000 pg/ml) olduğu hastalar aşırı cevap vermiş sayılırlar yüksek Ovarian Hiperstimülasyon Sendromu (OHSS) riski taşırlar. Bu hastalarda;

- ✓ Siklus iptali
- ✓ ‘Coasting’ GnRH agonist tedavisi devam eder ama 1-3 gün boyunca gonadotropin tedavisi kesilir. Östradiol seviyeleri normale gelince HCG verilir.
- ✓ Oositler toplanır, döllendir ama transfere kadar tüm embriyolar dondurulur
- ✓ Transfer işlemini, oositler toplandıktan sonra 5 güne kadar geciktirip ovarian hiperstimülasyonun gelişen semptomları gözlenebilir.

5.Kısa (Flare) Protokol (GnRH Agonist ve Ekzojen Gonadotropinin Ardışık Uygulanması) :

Bu protokolde Leuprolid asetat 1mg/gün dozunda, siklusun 2.-4. günlerinde uygulanır. Daha sonra doz 0.5 mg/gün dozunda düşürülür. Siklusun 3. günü ise 150-450 IU/gün dozunda gonadotropin stimülasyonuna başlanır.

Kısa Protokol Varyasyonları

- ✦ Ultra-kısa Protokol: 3 gün agonist uygulamasıyla flare cevap alınır daha sonra agonistler kesilerek sadece gonadotropinlerle tedaviye devam edilir. Endojen gonadotropin baskılanması için yeterince uzun süre GnRH agonisti kullanılmadığı için prematür LH yükselmesi daha sık gözlenir. Bu protokol nadiren kullanılmaktadır, sonuçlar klasik kısa ve uzun protokole göre kötüdür.
- ✦ OKS (oral kontraseptif) + mikrodoz + GnRH agonist: 14-21 günlük OKS supresyonunu takiben mikrodoz olarak hazırlanmış Leuprolid asetat, siklusun 1.günü, (mikrodoz) 40 µgr günde iki kez olacak şekilde başlanır. Siklusun 1.gününden HCG gününe

kadar uygulanır. Leuprolid tedavisinin 3. günü yüksek doz (300-450 IU/gün) gonadotropin başlanır. Uygulanan GnRH agonist dozu düşük olduğundan ve OKS ile cevap verebilecek corpus luteum oluşması engellendiğinden serum progesteron ve androjen konsantrasyonlarında artış olmaz.

Serum FSH değerinde dramatik artışlar izlenen, zayıf cevaplı olgular için iyi bir protokoldür. Siklus iptal oranı azalır, serum tepe E2 seviyesi, transfer oranı, klinik ve devam eden gebelik oranları artar.

6.GnRH Antagonist Eklenecek Yapılan Ekzojen Gonadotropin Uyarısı:

GnRH agonistleri reseptörler üzerindeki down regülasyon etkisi ile gonadotropinlerin GnRH'a karşı desentizise olmasını sağlar böylece gonadotropin sekresyonu önce stimüle sonra inhibe olur. Antagonistler ise GnRH reseptörlerini doza bağlı kompetitif şekilde bloke eder, flare etki yaratmaz ve gonadotropinleri suprese eder(74).

Antagonistlerin agonistlere göre avantajı çoktur:

- ✦ Tedavi süresi agonistlere oranla daha azdır.
- ✦ Kullanılmasındaki amaç LH yükselmesini engellemek olduğundan ve etkisini hemen gösterdiğinden, antagonist tedavisi foliküler gelişimin geç dönemin kadar ertelenebilir (gonadotropin tedavisinin 5-7 gününden sonraya kadar). Hatta E2 seviyeleri yükseldikten sonra bile uygulanabilir. Böylece GnRH agonist tedavisi ile gözlenen östrojen eksikliğine bağlı semptomlar görülmez.
- ✦ Agonistlerin gonadotropin stimülasyonuna karşı ovarian cevabı suprese eden etkileri de olmayacağından, kullanılan gonadotropin dozu ve süresi azalır. Dolayısıyla standart uzun protokolden fayda görmeyen zayıf cevaplı olgularda antagonist tedavisi fayda sağlar.
- ✦ Agonistlerin flare etkisi olmayacağından folikül kisti oluşmaz.
- ✦ OHSS riski agonistlerden daha azdır(75).

Dezavantajları ise;

- ✦ Hasta uyumunun çok iyi olması gerekmektedir.
- ✦ Antagonistler endojen gonadotropin sekresyonunu agonistlerden daha iyi baskılar. Bu nedenle agonistlerde sağlanan ve folikülogenez için az da olsa gereken LH konsantrasyonları agonistler ile sağlanamaz.
- ✦ Serum E2 seviyeleri azalır ya da plato yapar.
- ✦ Foliküler büyüme etkilenmemiş görünse de, düşük doz hMG

(75 IU) gerekebilir. Gebelik oranları GnRH agonistlerinin kullanıldığı uzun protokollere oranla biraz daha düşüktür. Çünkü GnRH antagonistleri folikülogenezde rol oynayan hücrelerin mitotik programlanmasına, blastomer oluşumuna ve endometrial gelişim üzerine etkilidir.

Ganirelix ve Setrorelix klinik kullanımda olan GnRH antagonistleridir. Prematür LH yükselmesini önleyen minimum doz 0.25 mg/gün'dür. Subkutan olarak uygulanır(76,77). Tedavi, gonadotropin stimülasyonunun 5.-6. günü başlar. Sabit protokol, bu protokolle agonistler kadar kuvvetli şekilde LH yükselmesi önlenemez) ya da hastanın cevabına göre düzenlenir. Esnek protokolde ise, önde giden folikül 13-14 mm olduğunda tedaviye başlanır , bu protokol ovarian stimülasyonu kolaylaştırır(78).

Tedavi kişiselleştirildiğinde, kullanılan total gonadotropin dozu daha az olup, sonuçlar daha başarılı olmaktadır. Esnek rejimin uygulandığı bir çalışmada elde edilen oosit sayısının ve klinik başarının arttığı bildirilmiştir ancak çalışmanın gücü kesin sonuçları ortaya koymak açısından yeterli bulunmamıştır. Daha sonra sabit ve esnek protokolün kıyaslandığı bir çalışmada (PKOS ve zayıf yanıtı hastaların dahil edilmediği bir çalışma) elde edilen total oosit sayıları, kullanılan total gonadotropin dozu ve uygulama süresi, embriyo kalitesi, fertilizasyon oranları ve klinik gebelik oranları açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ancak istatistiksel anlamlılık olmasa da klinik gebelik oranları esnek protokolde daha azdır.

Benzer 5 çalışmayı bünyesinde barındıran meta analizde eşit sayıda embriyo transferi yapılmasına rağmen antagonist grupta klinik gebelik oranı %5 kadar daha azdır. Genel olarak, toplam gonadotropin dozu ve süresi, tepe östrodiol seviyesi ve elde edilen oosit ve embriyo sayısında antagonist kolda daha azdı. Antagonist protokollerde ortaya çıkan daha düşük gebelik oranlarının sebebini net olarak açıklamak mümkün değildir. Oositlere, embriyolara veya endometrium üzerinde olumsuz etkilerinin olması sebep olarak gösterilebilir(79).

ART'de standart hale gelip agonistlerin yerinin tamamen alıp almayacağı net değilse de PKOS olanlarda ve agonist tedavisiyle kötü yanıt veren kişilerde ümit verici olduğu aşıkardır. Agonistlerden çok antagonistlerin kullanılması son oosit olgunlaşması için HCG yerine agonist kullanılmasını elverişli hale getirmektedir. Böylece OHSS riski de azalmaktadır. Ancak bu grup hastalar için olumsuz yan etkileri de yok değildir.

Tonik olan LH seviyeleri, antagonist tedavi sürecinde de devam ederek, gebelik oranlarını düşürüyor olabilir. Bu hastalarda öncesinde OKS ile baskılama teorik olarak başarıyı arttırması beklenen bir seçenek olabilir. Ayrıca daha yüksek doz gonadotropin uygulaması ile folikül dolayısıyla da oosit sayıları arttırılabilmektedir(80).

Oosit Toplanması

Oosit toplanması, genellikle HCG enjeksiyonundan 36 saat sonra gerçekleştirilmektedir. Transvajinal USG ile oosit toplanması altın standart tedavidir. Uygun sedasyon altında yapılması tercih edilir ve antibiyotik profilaksisi verilmektedir.

İşlem sırasında elde edilen oositlerde görülen boş folikül sendromu %0,5-2 oranında izlenir. İyi gelişen foliküllere rağmen, bu foliküllerden oosit elde edilememiş demektir. HCG enjeksiyonu, planlanan zamandan önce yapılmış ya da yapılması unutulmuşsa, bazen de bazı ticari HCG preparatlarının yeterince aktif olmamasından kaynaklanıyor olabilir. Bazı siklusları kurtarmak amacıyla 36 saat sonra ek HCG dozu gerekebilir.

Oosit Olgunlaşması

Oositlerin yaklaşık %20-30 kadarı toplama sırasında yeterince olgun olmayabilir ve bu sıklık HCG verilen tarihteki folikül çapıyla uyumludur. Oosit maturasyonu genellikle kumulus kitlesinin dağılımı, korona radiatanın dağılımı, granuloza hücrelerinin çapı ve bir arada bulunabilirliği ile oositin şekil ve rengine göre karşılaştırılır. Olgun bir oosit (metafaz II) ilk polar cisimciği atar ve mayoz II de istirahate geçer. Kumulus hücreleri tipik olarak genişlemiştir ve luteinize olmuştur. Korona radiata ile birlikte güneş patlaması gibi izlenir. Eğer olgun bir oosit elde edilmişse bu oositlerden elde edilen fertilizasyon hızı ve gebelik oranı daha yüksektir. İn vitro ortamda da oositi olgunlaşması sağlanabiliyor olsa da fertilizasyon hızı beklenenden düşük olup, gebelik oranları da daha azdır.

Fertilizasyon

Erkek faktörü IVF'e giden çiftler arasında tek başına en sık sebeptir. Oosit toplanmasından hemen önce veya sonra masturbasyon ile semen örneği alınmaktadır. Sperm hazırlama için swim-up (yüzme) ve density gradient centrifugation (yoğunluk gradientli santrifugasyon) yöntemleri kullanılır. İkinci yöntem daha çok tercih edilmektedir.

Fertilizasyon aşaması yaklaşık 24 saat gerektirir ve ilk mitotik bölünmeyle de sona erer (klivaj). Konvansiyonel IVF tekniği ortalama %50-70 fertilizasyon oranına sahiptir. Uygun medyumlu in vitro ortamda her bir oosit belli sayıda sperm ile bekletilerek sağlanır.

Sperm Toplama Teknikleri

Geleneksel görüşe göre spermin fertilizasyon yeteneğine kavuşması için erkek genital sistemden geçmesi gerektiği bilinse de epididimal ve testiküler spermle yapılan ICSI başarısının benzer gebelik ve fertilizasyon oranlarına sahip olması tam tersini düşündürmektedir.

Şiddetli sperm sorunu olanlarda ICSI öncesi genetik değerlendirme önerilir. *Retrograd ejakulasyonu* olanlar da ilaç tedavisi ile başarı sağlanamıyorsa, işlem öncesinde idrar alkilleyici ajanlar verilerek veya mesane alkali sıvı ile tamponlanarak elde edilebilir. *Epididimal sperm aspirasyonu*, obstrüktif azospermisi olanlarda cerrahi tedavi başarısız ise mikrocerrahi epididimal sperm aspirasyonu (MESA) veya perkütan epididimal sperm aspirasyonu (PESA) ile sperm elde edilebilir. Obstrüktif olmayan azospermisi olanlarda veya epididimal sperm aspirasyon tekniği de yetersiz olanlarda ise *testiküler sperm ekstraksiyonu* tercih edilebilir yöntemdir.

ICSI (intrasitoplazmik sperm injeksiyonu), spermın zona pellusidayı geçme ihtiyacının ortadan kaldırılması için geliştirilmiş en çok öne çıkan yardımcı üreme tekniğidir. Uygun inkübasyon ortamında belli bir teknik ile spermın oosit ile buluşması sağlanır. ICSI endikasyonları arasında erkek infertilitesi en başta gelir. <5 milyon/ml sperm konsantrasyonu, <%5 ileri hareketlilik, kruger kriterlerine göre <%4 normal morfoloji spermogramda ICSI açısından dikkate alınan eşik değerlerdir. Ayrıca tekrarlayan IVF başarısızlığı, açıklanamayan infertilite, in vitro olarak olgunlaştırılmış oositler veya dondurulmuş oositler ile de ICSI kullanılabilir.

Embriyo Kültürü

CO₂, inkübasyon hacmi, embriyo grup büyüklüğü ve protein desteği ile uygun kültür ortamı sağlanır. Bazı durumlarda otolog endometrial hücreler de tercih edilmektedir. Amaç insan tubal sıvısının maternal serum ve proteinler ile desteklenerek bir taklidini oluşturmaktır.

Her ne kadar embriyolar gelişiminin herhangi bir aşamasında, zigottan blastokiste kadar transfer edilebilir olsa da en çok oosit toplanması ve fertilizasyondan sonraki 3.gün tercih edilmektedir. İdeal 3.gün embriyosu eşit boyutlarda olan 6-8 hücreye sahiptir ve hiç sitoplazmik fragmantasyon yoktur. Transferler 2.günde de yapılabildiği gibi blastokist veya morula aşaması da kullanılabilir. İleri evrelerde transfer güçlüğüne sebebi, bu evreleri

destekleyebilecek medyum yetersizliğidir. Son birkaç yılda bu anlamda da gelişmeler olmuştur. Erken bölünen embriyolar, ICSI/inseminasyon sonrası 25-27.saat içinde 2 hücreli aşamaya gelerek 3.gün 8 hücreli, 5.günde blastokist aşamasına ulaşmaktadır. İmplantasyon oranı 3.gün 8 hücreli olanlarda 5.gün blastokist olanlar kadar iyi olabilmektedir. Çünkü üçüncü günde en iyi kalitedeki embriyoların da ancak %50-60 kadarı blastokist haline gelmektedir. Uzamış embriyo kültürünün dezavantajı artmış siklus iptalidir.

Yardımlı Tutunma (Assisted Hatching)

Blastokistin zona pellusidadan tutunması bir gerekliliktir. In vivo ortamda bu durum embriyo-uterus arasındaki ilişkide çözünme ile sağlanır. İn vitro ortamda zona kalınlığı ve enzimlere relatif direnç implantasyon potansiyelini etkiler. Yardımlı tutunma teknikleri arasında asit tyrode ile yapılan zona drilling, cam mikro iğne ile kısmi zona disseksiyonu, lazer fotoablasyon, enzimatik inceltme ve piezo-mikromaniplatör yer almaktadır. Yardımlı tutunma tekniklerinin uygulanışının, merkezler arasında fark göstermesi işlemin başarısını karşılaştırmada zorluk yaratmakla birlikte, potansiyel yan etkilerinden ötürü sadece seçilmiş hastalarda uygulanması önerilmektedir. Bu işlem sırasında embriyo zarar görebilir ve monozigot ikiz riski yaklaşık 3 kat artmıştır.

MATERYAL METOD

Bu çalışma in vitro fertilizasyon protokollerinde kullanılan tedavi modalitelerinin başarısının, tedavinin uygulandığı çiftlerin başarısız oldukları siklusları ile başarılı oldukları siklusları retrospektif olarak karşılaştırarak, başarıyı etkileyen faktörleri ortaya çıkarma amacıyla yapılmıştır.

Çalışmamıza 01.03.2007- 31.03.2011 tarihleri arasında Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tüp Bebek Merkezi'ne başvuran, çalışmaya dahil edilme kriterlerini sağlayan 96 hastanın verileri kullanıldı. Çalışmamız hastanemiz Etik Kurulu tarafından onaylandı.

Belirlenen kriterlere göre seçilen, ovulasyon indüksiyonu için Long (down/up), Antagonist ve Mikrodoz tedavi protokolleri uygulanmış; IVF/ICSI yöntemi ile ovum fertilizasyonu sağlanmış ve elde edilen embriyolarla transfer yapılmış hastalarda uygulanan tedavinin, retrospektif olarak etkinlik karşılaştırması yapılmıştır.

1.Çalışmaya alınma kriterleri

- IVF ile tedavi endikasyonu
- Birden fazla (en az iki) ivf siklusu yapılmış olması
- Yaş ≥ 20 , ≤ 40
- BMI ≥ 18 , ≤ 29
- Primer ya da sekonder infertilite
- Düzenli menstruel siklusa sahip hastalar (25-32 gün)
- Basal FSH < 13
- TSH ve prolaktin değerleri normal sınırlarda

- İlk siklusda gebe kalmamış olması, ardışık siklusun gebelikle sonuçlanmış olması (hcg> 5 IU/ml)

2.Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri

- Polikistik over sendromu, evre 4/5 endometriozis,
- Klinik olarak anlamlı sistemik veya endokrin hastalığın olması
- İlk veya ardışık siklusda transferin oosit/sperm kaynaklı sebeple iptal edilmiş olması
- İlk siklusun gebelikle sonuçlanmış olması
- Histerosalpingografi ya da ofis histeroskopi ile endometrial kavitenin değerlendirilmesi sonucunda polip, submükoz myom, septum uteri gibi yer kaplayan lezyon tespit edilmesi

3.Siklus iptali için kriterler

- Başarısız fertilizasyon
- Ovulasyon induksiyonu sonucu >18 mm üzerinde folikül olmaması
- Östrojen seviyesinde düşüş: iki kontrol günü arasında %50 den fazla düşüş
- Muhtemel OHSS gelişimi: Stimulasyonun 8. gününde 15 veya daha fazla sayıda intermediate folikül (12-16 mm) ya da 10. gün veya daha sonra, 20 veya daha fazla sayıda büyük folikül (16-20 mm) oluşumu ve/veya östradiol konsantrasyonu ≥ 3000 pg/ml olma durumu.

Hastaların değerlendirilmesi

Seçilen hastaların ilk muayenelerinde kimlik ve yaş tespiti yapıldı, obstetrik ve jinekolojik özgeçmişleri, menstruel siklus düzenleri sorgulandı. Fizik muayenede kan basıncı, boy, ağırlık ve BMI (ağırlık / boy²) hesaplandı. Sekonder seks karakter gelişimi değerlendirildi. Rutin pelvik muayeneleri yapıldı. Tedavi öncesinde laboratuvar değerlerine bakıldı. Açlık

kan şekeri, üre, SGOT, SGPT (12 saatlik açlık süresini takiben, 10 ml venöz kan örnekleme yapılarak, Spinreact, Santa Coloma, Espana kitleriyle Roche Cobas Mira-S otoanalizatöründe); Tiroid fonksiyon testleri (Roche diagnostic, Achen, Almanya kitleri ile Roche E 170 cihazı ile) bakıldı. Erken foliküler fazda (2-3. gün) ise; bazal USG yapıldı ve uterus boyutları, endometrium kalınlığı, over boyutları, folikül sayısı ve çapları ölçüldü. Bunun için GE Medikal (Logic alfa 200 GE Medical A/S Milwaukee, Amerika Birleşik Devletleri) marka ultrasonografi cihazı ve 6,5 MHz' lik vajinal prob kullanıldı. Bazal (3. gün) FSH, LH, E2, Prolaktin (Elecsys, Meinheim, Almanya kitleriyle Roche E 170 cihazı ile) değerleri ölçüldü.

Tedavi protokolleri

Çalışmamıza alınan hastaların ilk sikluslarında 22'sine Antagonist, 3'üne Mikrodoz, 74'üne Long protokolu, ikinci sikluslarında ise bu hastaların 36'sına Antagonist, 6'sına Mikrodoz, 54'üne Long protokolu ve 3'ünde ise dondurulmuş embriyo transferi uygulandı. Over stimülasyonu menstrual siklusun 3. gününde başlandı. Stimülasyonda **r-FSH** [(Puregon; Organon,Hollanda), (Gonal-F; Serono, italya)] ve **hp-hmg** [(Menopur; Ferring, İsviçre), (Menogon; Ferring, İsviçre), (Merional; Aris, Türkiye)] veya **u-FSH** (Fostimon; Aris, Türkiye) kullanıldı. Başlangıç dozu belirlenirken her bir olgu için tahmini over cevabı göz önüne alındı. Stimülasyonun 6-7. gününden itibaren USG ile folikül sayısı, boyutu ve serum östrodiol ölçümleri ile değerlendirilen over cevabına göre yeni doz ayarlaması yapıldı ve stimülasyon hCG gününe dek devam etti. Her iki grupta da oosit matürasyonu için hCG uygulama kriteri aynıydı. Önde giden foliküllerden üçü 17 mm olduğunda üriner hCG 10000 IU (Pregnyl amp, Organon, Hollanda) veya r-hCG 250µgr (Ovitrelle, Serono, İtalya) ile ovulasyon tetikleme yapıldı. Oosit toplama işlemi hCG uygulamasından 35-36 saat sonra

gerçekleştirildi. Oosit toplama işlemi sırasında 14 mm ve üzerinde olan tüm foliküller aspire edildi. Fertilizasyon ve embriyo kalitesi kliniğimizde çalışan uzman embriyolog tarafından 20. saat, 28. saat, 44. Saat ve 68. saatte mikroskopla değerlendirildi. Embriyo kalitesini değerlendirirken hücre sayısı ve embriyo morfolojisi (fragmentasyon derecesi, fragmanların lokasyonu, blastomerlerin birbirine benzerliği, multinukleasyon ve sitoplazmik görünüm) dikkate alınmıştır. En yüksek kaliteli embriyo (tip A) 2. günde 4-5 hücreli veya 3. günde > 7 hücreli olmasının yanında eşit büyüklükteki blastomerlerde oluşan fragmentasyonun % 20 den daha az olduğu, multinukleasyonun olmadığı embriyolar olarak tanımlanmıştır. IVF standart prosedürü uygulanarak oosit toplanmasından 3 gün sonra skorlanan embriyolardan tercihen tip A iyi kalitede olanlarından 1-3 adet uterin kaviteye transfer edildi. Tüm hastalara luteal destek oosit toplanmasından sonraki sabah **Progesteron** jel (Crinone jel %8; Serono, İtalya) ve/veya 3 günde bir 1500 IU **hCG** intramusküler olarak (Pregynl 1500 IU amp; Organon, Hollanda) ile sağlandı. Gebelik olduğu takdirde vajinal progesteron desteği 8-12. gestasyonel haftaya dek devam edildi. Embriyo transferini takiben serum beta-hCG pozitifliği kimyasal gebelik olarak kabul edilerek çalışmaya kabul edildi (HCG >5 IU/ml).

Sonucu etkileyebilecek faktörler: İnfertilite nedeni, kadın yaşı, BMI, infertilite süresi, antral folikül sayısı, olgun folikül sayısı, sperm kalitesi, embriyo kalitesi, transfer edilen embriyo sayısı, östradiol düzeyi

Gruplar arasında karşılaştırılacak etkinlik parametreleri:

a) Birincil sonuçlar: Elde edilen gebelik

b) İkincil sonuçlar: İndüksiyon süresi, kullanılan gonadotropin dozu, günlük ortalama gonadotropin dozu, GnRH agonist kullanım süresi, hCG günü östradiol düzeyi, endometrial durum, elde edilen oosit sayısı, matür oosit sayısı ve oranı, fertilizasyon oranı, embriyo kalitesi.

İstatistiksel İncelemeler

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 16,0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma, Frekans) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Student t testi; niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi ve paired samples t- testi kullanıldı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.



BULGULAR

Çalışmamıza 01.03.2007- 31.03.2011 tarihleri arasında Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tüp Bebek Merkezi'ne başvuran, çalışmaya dahil edilme kriterlerini sağlayan 96 hastanın verileri kullanıldı. Hastaların yaş dağılımı 21 ile 40 arasında değişmekte olup, olguların yaş ortalaması $30,96 \pm 5,23$ 'tür. Çalışma grupları 96 çiftin gebe kalamadıkları siklusları ile gebe kaldıkları sikluslarının karşılaştırılması şeklinde ayrılmıştır.

Tablo 4'de çalışma grubunun tedavi öncesi temel özellikleri tanımlanmıştır.

	N	Min.	Max.	Ort±std	%
KADIN					
Yaş	96	21	40	$30,96 \pm 5,23$	
Çalışma durumu					
Çalışan	16	-	-	-	16
Çalışmayan	80				84
Kilo (kg)	96	50	85	$65,38 \pm 7,7$	
BMI (kg/m ²)	96	20	31	$25,00 \pm 2,63$	
İnfertilite süresi (yıl)	96	2	20	$7,87 \pm 4,14$	
ERKEK					
Basal sperm volüm (ml)	96	0,0	12,5	$2,84 \pm 2,04$	
Basal sperm konsantrasyonu (mil/ml)	96	0,0	1,1 milyon	1,79 milyon±2,5 milyon	
Basal motilite (a+b)(%)	96	0,0	98	$38,31 \pm 30,4$	
Basal total progressif motil sperm sayısı	96	0,0	4 milyon	$3,7$ milyon±6 yüzbin	
KADIN					
FSH (mIU/ml)	96	0,20	10,10	$7,47 \pm 5,52$	
E2 (pg/ml)	96	5,00	192,00	$50,17 \pm 28,47$	
PRL (ng/ml)	96	3,5	28,10	$15,8 \pm 9,26$	
TSH (µU/ml)	96	0,03	4,10	$1,96 \pm 1,20$	

Tablo-4 Hasta grubunun tedavi öncesi temel özellikleri ve laboratuvar değerleri

Çalışmamıza alınan çiftlerden kadın hastaların %82,'i çalışmamakta olup bu grubun ortalama BMI $25,00 \pm 2,63$ kg/m²'dir. Herhangi bir tedavi almamış oldukları infertilite süresi ortalama $7,87 \pm 4,14$ yıldır. Hastaların tedavi öncesi ortalama basal FSH değeri $7,47 \pm 5,52$ olup, IVF tedavi protokolünü karşılamaktadır.

Çalışmamızdaki erkek eşlerin basal sperm konsantrasyonu ortalama 1,79 milyon±2,5 milyon ve basal motilite ortalama %38,31±%30,4'dür.

Tablo 5'de çalışmaya alınan infertil çiftlerin tedavi öncesi görüntüleme yöntemlerini ve önceki tedavi sorgulamalarını ele alan değerlendirmelere yer verilmiştir.

	Sıklık(N=96)	Yüzde (%)
İnfertilite sebebi		
Primer	86	89,9
Sekonder	10	10,1
HSG		
Normal	76	79,1
Tek taraflı açık	7	6,4
Her iki tuba kapalı	13	13,5
L/S		
Yapılan	18	18,7
Yapılmayan	78	81,3
H/S		
Yapılan	11	11,4
Yapılmayan	85	88,6
Önceki IUI tedavisi		
Var	24	25
Yok	72	75
Önceki IVF tedavisi		
Var	16	16,6
Yok	80	83,4

Tablo-5 Hastaların tedavi öncesi değerlendirmeleri

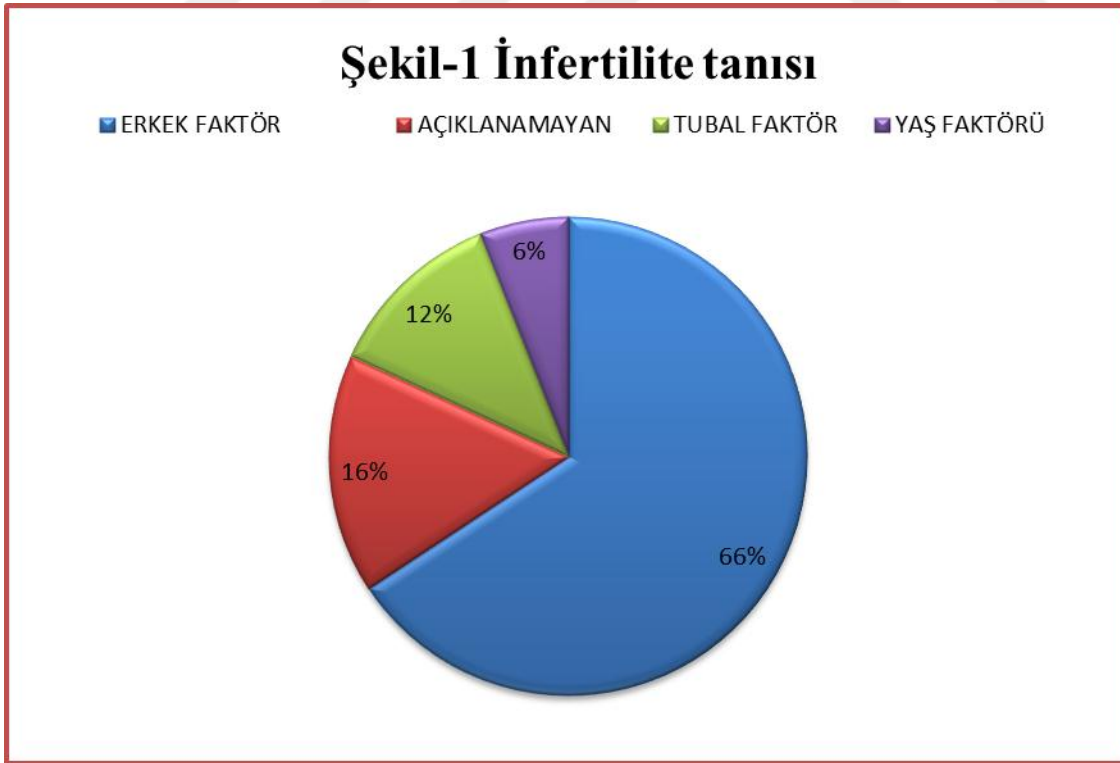
Çalışmaya alınan hastaların %86'sı primer infertil olup, hastaların %79,1'inin primer HSG değerlendirmeleri normal olarak saptanmıştır. HSG değerlendirmesi ile birlikte bazı hastalarda sonradan ek değerlendirme olarak hastaların %11,4'üne H/S ve %18,7'sine L/S gerekmiştir.

Hastaların %25'i daha önce bizim merkezimizde veya bize referans edilmiş olan merkezde IUI tedavisi, ayrıca %16,6'si bizim merkezimiz dışında önceden IVF tedavisi almıştır.

Merkezimiz dışında almış oldukları IVF tedavi protokolleri çalışma kapsamı dışında tutulmuş olup, başarısız kabul edilmiştir.

Çalışmamızdaki çiftlerin %65,7'si erkek faktörü sebebiyle IVF tedavisi almıştır. Geri kalan %34,3'ü kadın faktörden kaynaklanmakta olup; %12,1'i tubal faktör ve %6'sı yaş faktörüdür. %16,1 ise açıklanamayan sebeplerdir(Bkz. Şekil 1).

Tablo 6 ve 7'de verilen bilgiler çalışmaya kabul edilen hastaların, almış oldukları tedavi protokollerinde kullanılan gonadotropinlerin tedavi süresince toplam kullanım süreleri, toplam dozları, başlangıç dozları, antagonistlerin başlama günü ve süresi, endometrial kalınlığın 5.gün ve HCG günündeki değeri, E2'nin 5.gün ve HCG günü değeri ile 1000 pg/ml'nin üzerinde olduğu gün sayısı ve siklusda karşılık gelen OPU günü standart sapmaları ile birlikte hastaların gebe kalamadıkları 1.siklusları ile gebe kaldıkları 2.siklusları karşılaştırılarak verilmiştir.



Tablo 6’de ele alınan çift sayılarındaki değişiklikler karşılaştırmanın esas alındığı kritere göredir. Buna göre her iki grup arasında gonadotropinlerin kullanıldığı protokol değişikliği yapılmayan sikluslar karşılaştırılmıştır.

Tablo 6’te belirtilen bulgular bu şekilde ele alındığında, grup 1 ve grup 2 için sikluslar arasında tedavi protokollerinde değişiklik yapılmamış hastalar karşılaştırılarak gonadotropin kullanım süresinin, gonadotropin başlangıç dozunun ve toplam dozunun her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ifade etmediği saptanmıştır ($p>0.05$). Antagonist protokolün uygulandığı 20 siklusta, antagonist başlangıç günleri ve siklus başına kullanılan toplam gün sayıları istatistiksel olarak anlamlı bir fark ifade etmemektedir ($p>0.05$).

Tablo 6. Grup 1 ve 2 arasındaki her iki siklusta da protokol değişikliği yapılmayan hastaların tedavi ve takip sürecinde değerlendirilmesi

	N (Hasta Sayısı)	*Grup 1 (gebelik gelişmeyen ilk IVF siklusu)	*Grup 2 (gebelik oluşan takip eden IVF siklusu)	**p- değeri
Gonadotropin kullanım süresi(gün)	66	8,92±1,50	8,89±1,25	AD
Gonadotropin başlangıç dozu (IU)	66	293,28±83,6	291,42±83,4	AD
Gonadotropin toplam dozu (IU)	66	2527,30±976,8	2541,73±1049,9	AD
Antagonist başlama günü	20	5,7±0,8	5,7±0,57	AD
Antagonist kullanım süresi (gün)	20	4,9±1,3	5,0±1,5	AD

*Veriler ±std ile birlikte verilmiştir. ** $p > 0.05$ AD: istatistiksel düzeyde anlamlı fark yok

Çalışmaya alınan tüm hastalar (N=96) grup 1 ve 2 için siklusların karşılaştırılması neticesinde endometrial kalınlıkların 5. günde ve HCG günündeki değerleri istatistiksel olarak anlamlı bir fark taşımamaktadır ($p>0.05$). Çalışmada E2 düzeyi; 5.gün, HCG günü ve >1000 pg/ml olduğu gün sayıları iki grup arasında karşılaştırılmış, ancak istatistiksel düzeyde anlamlı bir fark ifade etmediği görülmüştür ($p>0.05$) (Bkz. Tablo 7).

Tablo 7. Grup 1 ve 2 arasında endometrial kalınlık, E2 değerleri ve OPU günü karşılaştırması

	N (Hasta sayısı)	*Grup 1 (gebelik gelişmeyen ilk IVF siklusu)	*Grup 2 (gebelik oluşan takip eden IVF siklusu)	**p değeri
Endometrial kalınlık 5.gün (mm)	96	7,32±1,7	7,22±1,87	AD
Endometrial kalınlık HCG günü (mm)	96	10,28±2,2	10,2±1,87	AD
E2 5. gün (pg/ml)	96	515,11±428,3	534,4±416,2	AD
E2 HCG günü (pg/ml)	96	2222,25±1061,7	2144,6±1119,0	AD
E2 >1000 pg/ml gün sayısı	96	3,32±2,08	3,15±1,8	AD
OPU günü	96	12,04±1,2	12,06±1,6	AD

*Veriler ±std ile birlikte verilmiştir. **p > 0.05 AD: istatıksel düzeyde anlamlı fark yok

Tablo 8’de OPU öncesi TVUSG’de izlenen >14mm ve >17mm’deki folikül sayısı ve OPU sonrasında bu foliküllerden elde edilmiş olan matur oosit sayısının grup 1 ve 2 arasındaki karşılaştırılmalarına yer verilmiştir. Buna göre iki grup arasında elde edilen >14mm folikül sayıları arasında istatıksel anlamlılık bulunmamıştır(p>0.05). Ancak >17mm üzerindeki folikül sayıları karşılaştırıldığında gebeliğin elde edilmediği ilk siklusta ortalama 4,72±0,36 ile grup 2’ye göre daha yüksek bulunmuş olup, istatıksel anlamlılık ifade etmektedir(p<0.05). Oysaki her iki grup arasında elde edilen matur oosit sayıları birbirine yakın olup, istatıksel düzeyde anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05).

Tablo 9’te ise erkek faktörü incelenmiş olup her iki grup arasında OPU günü elde edilen spermogramlar değerlendirilmiştir. İkinci siklusları dondurulmuş embriyo transferi olan 3 hasta dışında kalan her iki grup karşılaştırıldığında OPU günü sperm volumleri, sperm konsantrasyonları, motilitesi ve TPMSS değerleri arasında istatıksel olarak anlamlı bir fark ifade eden bulguya rastlanmamıştır(p>0.05).

Tablo 8. TVUSG’de izlenen folikül özellikleri ve OPU sonrası elde edilen matur oosit sayısı

	N (hasta sayısı)	*Grup 1 (gebelik gelişmeyen ilk IVF siklusu)	*Grup 2 (gebelik oluşan takip eden IVF siklusu)	**p- değeri
Folikül çapı >14mm sayısı	96	4,8±3,1	5,23±3,3	AD
Folikül çapı >17mm sayısı	96	4,72±0,36	3,76±3,2	<0.05
Elde edilen matür oosit sayısı	96	8,72±5,05	8,54±4,7	AD

*Veriler ±std ile birlikte verilmiştir. **AD: p > 0.05, istatistiksel düzeyde anlamlı fark yok.

Tablo 9. OPU günü spermogram özellikleri

	N (Hasta Sayısı)	*Grup 1 (gebelik gelişmeyen ilk IVF siklusu)	*Grup 2 (gebelik oluşan takip eden IVF siklusu)	**p- değeri
OPU günü sperm volümü (ml)	96	3,0±1,7	3,55±7,5	AD
OPU günü sperm konsantrasyonu (mil/ml)	96	2,33 milyon±3,65 milyon	3,62milyon±9, 8 milyon	AD
OPU günü sperm motilitesi (a+b) (%)	96	43,3±30,3	43,3±32,9	AD
OPU günü TPMSS	96	5,90 milyon±8,77 milyon	6,64 milyon±1,02 milyon	AD

*Veriler ±std ile birlikte verilmiştir. **p > 0.05 AD: istatistiksel düzeyde anlamlı fark yok

Tablo 10’de tedavi protokolleri ve gebelik arasındaki ilişki gruplar arasında saflaştırılarak ele alınmıştır. Buna göre grup 1 ve grup 2 arasında her protokol kendi içinde değerlendirilmiştir. Gebe kalınan sikluslarda long protokol sayısının azaldığı, ilk siklusta %74(71/96) iken 2.siklusta bu oranın %56,2 (54/96) olduğu gözlenmiştir. Buna karşılık antagonist protokolde ise %22,9’dan (22/96), %36’ya (36/96) ve mikrodoz protokolde ise %3,1’den (3/96) %6,2’ye (6/96) artış olduğu saptanmıştır. Antagonist ve mikrodoz protokollerinin kullanımındaki bu

artışın, seçilmiş vakalarda başarılı gebelik sonuçları vermesi istatistiksel açıdan anlamlı bir fark ifade etmektedir($p<0.05$).

Tablo 10. Tedavi protokolleri ve gebelik ilişkisi*

	Grup 1 (gebelik gelişmeyen ilk IVF siklusu) N (%)	Grup 2 (gebelik oluşan takip eden IVF siklusu) N (%)	Toplam Sayı N(%)
Long protokol sayı	71 (%74)	54 (%56,2)	125 (%65,1)
Antagonist protokol sayı	22 (%22,9)	36 (%37,5)	58 (%30,2)
Mikrodoz protokol sayı	3 (%3,1)	6 (6,2)	9 (%4,7)
Toplam sayı	96 (%100)	96 (%100)	192 (%100)

* $p<0.05$ istatistiksel düzeyde anlamlı

Tablo 11. Gonadotropin tipi ve gebelik ilişkisi

	Grup 1 (gebelik gelişmeyen ilk IVF siklusu) N(%)	Grup 2 (gebelik oluşan takip eden IVF siklusu) N(%)	Toplam sayı	*p- değeri
Rec- FSH sayı	77 (%80,2)	82 (%85,4)	159	AD
HMG sayı	19 (%19,8)	14 (%14,6)	33	AD
Toplam sayı	96 (%100)	96 (%100)	192	AD

*AD: p değeri $>0,05$, istatistiksel düzeyde anlamlı fark yok

HMG ve rec-FSH kullanımının gruplar arasındaki dağılımının karşılaştırıldığı tablo 11’de, iki grup arasında rec-FSH oranının %80,2’den (77/96) %85,4’e (82/96) yükseldiği, HMG oranının ise %19’dan (19/96) %14,6’ya (14/96) düştüğü izlense de bu durumun gebe kalınan siklus açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark ifade etmediği saptanmıştır ($p>0.05$).

Tablo 12. Gebelik ve siklus içi 'coasting' ilişkisi

	Grup 1 (gebelik gelişmeyen ilk IVF siklusu) N (%)	Grup 2 (gebelik oluşan takip eden IVF siklusu) N (%)	Toplam Sayı N (%)	p-* değeri
Coasting olmayan siklus sayısı	83(%86,5)	90(%93,8)	173 (%90,1)	AD
Coasting olan siklus sayısı	13(%13,5)	6(%6,2)	19(%9,9)	AD
Toplam sayı	96(%100)	96(%100)	192(%100)	

*AD: istatıksel olarak anlamlı fark yok p değeri > 0,05

Tablo 12'de coasting yapılan siklusların grup 1 ve 2 arasındaki dağılımı gösterilmektedir. Buna göre coasting yapılan siklus oranının, gebe kalınan sikluslarda azaldığı saptanmış olup bu durum istatıksel önem arz etmemektedir(p>0.05)

Tablo 13. Gonadotropin step up/down dozları ve gebelik sonuçları üzerindeki etkisi

	Grup 1 (gebelik gelişmeyen ilk IVF siklusu) N(%)	Grup 2 (gebelik oluşan takip eden IVF siklusu) N(%)	Toplam sayı	*p-* değeri
Gonadotropin doz değişikliği olmayan siklus sayısı	51 (%53,1)	46 (%47,9)	97	AD
Step up siklus sayısı	6 (%6,2)	9 (%9,4)	15	AD
Step down siklus sayısı	39 (%40,6)	41 (%42,7)	80	AD
Toplam sayı	96 (%100)	96 (%100)	192	

*AD: istatıksel olarak anlamlı fark yok p değeri > 0,05

Gonadotropin dozlarının siklus süresince step up/down veya aynı şekilde devam ederek kullanılmasının gebelik sonuçları üzerine etkisi tablo 13'da verilmiştir. Buna göre doz değişikliği yapılmayan siklusların oranı (%53,1) (46/96), gebe kalınan siklusta azalmıştır. Step up (%9,4) (9/96) ve step down (%47,9) (41/96) protokollerinin ise gebe kalınan siklusta, gebelik elde edilemeyen siklusa nazaran daha yüksek oranda kullanıldığı saptanmıştır. Ancak bu fark istatıksel önem ifade etmemektedir(p>0.05)

Embriyo transferi sayısı ve transfer günü tablo 14’da değerlendirilmiştir. Gebe kalınan siklularda embriyo transfer gününün daha ileri olduğu ($3,02\pm 1,1$ gün) ve transfer edilen embriyo sayısının ise daha az olduğu ($n=2,32\pm 0,7$) saptanmıştır. Her iki durumda gebe kalınan siklular açısından değerlendirildiğinde istatistiksel anlamlılık ifade etmekte olup p değerleri sırasıyla 0,04 ve 0,03’dür.

Tablo 14. Embriyo transfer sayısı ve günü ile gebelik ilişkisi

	N (hasta sayısı)	*Grup 1 (gebelik gelişmeyen ilk IVF siklusu)	*Grup 2 (gebelik oluşan takip eden IVF siklusu)	**p-değeri
Embriyo transfer günü	96	2,66±0,76	3,02±1,1	<0,05
Embriyo transfer sayısı	96	2,52±0,64	2,32±0,7	<0.05

*Veriler ±std ile birlikte verilmiştir. **p < 0.05; istatistiksel düzeyde anlamlı

Transfer edilen embriyolara uygulanan laser işleminin gebelik sonuçlarına olan etkisi tablo 15’de verilmiştir. Laser uygulanan siklus oranının, gebe kalınan grupta arttığı (%17.7) (17/96) gözlenmiş olup, her iki hasta grubu birlikte ele alındığında %17,2’sine (33/192) laser uygulandığı tespit edilmiştir. Bu oranlar istatistiksel olarak anlamlı bir fark ifade etmez($p>0.05$).

Tablo 15. Transfer edilen embriyolara uygulanan laser ve gebelik ilişkisi

	Grup 1 (gebelik gelişmeyen ilk IVF siklusu) N(%)	Grup 2 (gebelik oluşan takip eden IVF siklusu) N(%)	Toplam sayı N(%)	*p-değeri
Laser uygulanmayan siklus sayısı	80 (%83,3)	79 (%82,3)	159 (%82,8)	AD
Laser uygulanan siklus sayısı	16 (%16,7)	17 (%17,7)	33 (%17,2)	AD
Toplam sayı	96 (%100)	96 (%100)	192 (%100)	

*AD: istatistiksel olarak anlamlı fark yok p değeri > 0,05

Tablo 16. Blastokist transferi ve gebelik arasındaki ilişki

	Grup 1 (gebelik gelişmeyen ilk IVF siklusu) N(%)	Grup 2 (gebelik oluşan takip eden IVF siklusu) N(%)	Toplam sayı N(%)	*p- değeri
Blastokist transferi yapılmayan siklus sayısı	84(%87,5)	79 (%82)	163 (%84)	AD
Blastokist transferi yapılan siklus sayısı	12 (%12,5)	17 (%16)	29 (%16)	AD
Toplam sayı	96 (%100)	96 (%100)	192 (%100)	

*AD: istatistiksel olarak anlamlı fark yok p değeri > 0,05

Tablo 16, iki grup arasındaki blastokist transferinin gebelik sonucuna olan etkisini ifade etmektedir. Gebe kalınan siklularda artmış blastokist transferi dikkat çekmektedir (%12'den %16'ya). Bunun yanı sıra blastokist transferi yapılmayan siklusların %51,5'inde (84/163) gebelik gelişmediği saptanmıştır. Ancak gebe kalınan sikluslar kendi içinde değerlendirildiğinde sadece %17,7'sinde(17/96) blastokist transferi yapıldığı tespit edilmiştir. Tüm bu sonuçlarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır(p>0.05).

TARTIŞMA

İnfertilite, fertil dönemdeki toplumun % 15'ini ilgilendiren emosyonel ve sosyal sorunlar yaratabilen bir durumdur. Yardımcı üreme teknikleri tedavisi pahalı, zaman gerektiren ve hastalar için stresli bir tedavi şeklidir. Hasta hakkında doğru bilgilenmek, uygun hastada uygun tedaviyi yapmak hastaların maddi ve manevi kaygılarını azaltmak ve başarılı sonuç elde edebilmek için kaçınılmazdır.

Mevcut çalışmalara göre, önceki İVF siklusu gebelik (viabl gebelik/gecikmiş düşük) ile sonuçlanmış çiftlerde, sonraki İVF siklusunda gebelik elde etme şansı daha yüksektir. Biz çalışmamızda önceki İVF siklusunda gebelik elde edilmeyen hasta popülasyonunda, sonraki gebelikle sonuçlanmış (kimyasal gebelik dahil) siklusunda bu başarıyı etkileyen faktörleri incelemeyi amaçladık.

Çalışmamızda başarısız ivf siklusunu takiben yapılan sonraki ivf sikluslarının başarısını arttıran en önemli faktörlerin hasta için kişiselleştirilen ivf protokol değişikliği, embriyonun transfer gününün daha ileri olması (viabilite şansı yüksek olan embriyonun transferi), embriyo transfer sayısının daha az olması olarak saptamış bulunuyoruz.

Kalu ve arkadaşlarının yaptığı retrospektif bir çalışmada ilk ivf siklusunun başarısının takip eden ivf siklusu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Buna göre yaş faktörünün sonraki siklusta başarıyı tahmin etmede önemli olduğu ifade edilmiş olup, genç yaş hastalarda başarısız ivf siklusunu takiben başarılı ivf siklusu elde etmenin daha yüksek prediktif değer taşıdığı saptanmıştır. <40 yaş takip eden siklusta başarı %42 ($p<0.001$), >40 yaş ise %19,9 ($p>0.05$). Bu durum bizim çalışmamızdaki yaş aralığı ile uyumludur(81).

2010 yılında ABD ve Avrupa'daki İVF başarısını karşılaştıran paralel tek-kör randomize yapılan bir çalışmanın sonuçları sunulmuştur(82). Her iki grupta HMG ve rec-FSH kullanarak

down regüle uzun protokol uygulanmıştır. Çalışmanın ABD kolunda, Avrupa koluna göre daha yüksek gebelik oranları elde edilmiştir. Başarılı implantasyon oranları sırasıyla %35,4 ve %16,5'dir($p<0.001$). Bu çalışmada ABD'nde daha yüksek başlangıç FSH dozunun, siklus boyunca kullanılan toplam FSH dozunun ve daha düşük FSH tedavi süresinin gebelik başarısını arttırması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur($p<0.05$). Ancak bizim çalışmamızda başarısız ve başarılı grup arasında protokol değişikliği yapılmadan (uzun protokol) karşılaştırılmış sikluslar arasında kullanılan başlangıç FSH dozu, toplam FSH dozu ve FSH kullanım süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$, Bkz. Tablo 6). Bu sonucun çalışmamızda değerlendirmeye alınan grubun sayısından kaynaklanabileceğini düşünüyoruz($N=67$).

Yine aynı çalışmada ve daha önce Jun ve ark. sunduğu benzer bir çalışmada siklus başına daha yüksek sayılarda folikül elde etmenin, hem matur oosit sayısını arttırdığı hem de buna bağlı olarak daha yüksek gebelik oranları elde edildiği vurgulanmıştır (82,83,84). Ancak bizim çalışmamızın sonuçlarına göre, grup 1 ve 2 arasında >14 mm folikül sayıları arasındaki fark istatistiksel anlamlılık ifade etmemiştir($p>0.05$). Bununla birlikte çalışmamızda >17 mm folikül sayısının grup 1 ve grup 2 arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur($p<0.05$). Ancak grup 1'in gebeliğin elde edilmediği siklusları tanımlaması ve grup 1'de daha yüksek sayıda >17 mm folikül elde edilmiş olması sebebiyle, bu anlamlılığın klinik olarak anlam ifade etmediği düşünülmüştür. Sonuç olarak çalışmamızda iki grup arasında elde edilen matür oosit sayıları arasında fark bulunmamıştır(Bkz. Tablo 8).

Endometrium reseptivitesi ve bunun gebelik sonuçlarına etkisi açısından çalışmamızda yer alan her iki grup arasında endometrial kalınlığın 5.gün ve HCG gününde, ayrıca E2 düzeylerinin 5.gün ve HCG günü ile >1000 pg/ml olduğu gün sayısının karşılaştırılması sonucunda aradaki fark istatistiksel anlam ifade etmemektedir ($p>0.05$, Bkz. Tablo 7). Rinaldi ve ark, endometrial kalınlığın IVF sikluslarının başarısı üzerindeki etkisini araştırmak

amacıyla 119 hastayı retrospektif olarak değerlendirmiştir(89). Buna göre HCG günü endometrium kalınlığının ≥ 10 mm üzerinde olduğu gruplarda IVF başarısı, < 10 mm altındaki gruba göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Çalışmamızda HCG günü endometrium kalınlığının başarısız grupta 10.28 ± 2.2 mm ve başarılı grupta 10.20 ± 1.6 mm olması, gebelik sonuçları üzerinde anlamlı fark ortaya çıkarmamış olmasını açıklayabilir ($p > 0.05$).

Pappageorgiou ve ark. retrospektif olarak E2 seviyeleri ve IVF başarısını karşılaştırdığı çalışmasında, 90.persantil ve üzerinde tanımladıkları yüksek E2 seviyelerinin gebelik sonuçları üzerinde olumlu etkileri olabileceğini savunmuştur(90). Buna göre HCG günü E2 seviyeleri > 90 .persantil olan hastalardan elde edilen toplam oosit ve embriyo sayısı ile iyi grade'li embriyo sayısı daha yüksek bulunmuş ve yine bu grup hastalarda gebelik oranları daha yüksek saptanmıştır. Fakat gebelik oranlarındaki artışı, istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yaratmamıştır($p < 0.05$).

OPU günü spermogram parametreleri iki grup arasında karşılaştırılmış ancak istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$; Bkz. Tablo 9). Bunun sebebinin çalışmaya dahil olan her iki grubun aynı çiftlerden dolayısıyla aynı erkeklerden alınmış spermogram örnekleri olduğundan kaynaklandığını düşünüyoruz. Sonuçta ICSI'nin genel olarak erkek faktör infertilitesinde konvansiyonel IVF'e göre gebelik oranını düşürmesi beklenmese de, ABD-Avrupa İVF başarısının karşılaştırıldığı çalışmada ABD'nde elde edilen daha yüksek gebelik oranının; Avrupa'daki çalışma grubunda ICSI oranının %100 ve ABD'de ise %70,4 olmasına bağlı olabileceğine dikkat çekilmiştir(82). Yani farklı çiftlerin karşılaştırıldığı çalışmalarda erkek faktörünün gebelik sonuçları üzerine etkisi fark yaratabilecektir. Çalışmamızdaki hasta gruplarının aynı çiftlerden oluşması ve erkek faktörünün ağırlıklı (%66) sebep olması dolayısıyla bu durumun gebelik sonuçlarına etkisi net değerlendirilememiştir.

Çalışmamızda long protokol oranı, gebelik elde edilen siklusda (%74'den %56,2'ye) daha düşük saptanmış, buna karşılık başarısız siklusta kullanılan antagonist (%22,9) ve mikrodoz (%3,1) tedavilerinin oranlarının, başarılı siklusta (sırasıyla %37,5 ve %6,2) anlamlı biçimde arttığı saptanmıştır. Bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$; Bkz. Tablo 10). 2010 yılında Cochrane veri bankası kullanılarak zayıf cevaplı hastaları değerlendirmek amacıyla bir derleme yayınlanmıştır(85). Buna göre Marci ve ark.(2005) tarafından 60(30/30) çift antagonist protokol ile long protokol karşılaştırılarak değerlendirilmiş, kullanılan başlangıç FSH dozu ve toplam FSH dozu, antagonist grupta daha az olarak tespit edilmiş, ayrıca yine antagonist grupta elde edilen oosit sayısı daha fazla bulunmuştur ($p < 0.05$). Ancak antagonist grup ile Long protokolün uygulandığı gruplar arasında gebelik sonuçları bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır($p > 0.05$). Aynı derlemede Tazegul (2008) ve ark. tarafından 89 çift (44/45) antagonist protokol ve mikrodoz protokol karşılaştırılarak değerlendirilmiş ancak benzer sonuçlar elde edilerek, gebelik oranlarında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$). Çalışmamızda başarısız siklusu takiben, gebelik elde edilmiş olan sikluslar incelendiğinde protokol değişikliği yapılarak mikrodoz ve antagonist protokolün uygulandığı siklus sayısında artış olduğu gözlenmiştir. Bu artışın gebelik sonuçları üzerinde istatistiksel anlamlılık yarattığı tespit edilmiştir. Buna göre başarısız ivf siklusundan sonra tedavinin kişiselleştirilerek, protokol değişikliğine gidilmesinin gebelik sonuçları bakımından klinik olarak fayda gösterebileceğini düşünüyoruz.

Çalışmamızda rec-FSH ve HMG baz alarak grup 1 ve 2'yi karşılaştırdığımızda, gonadotropin tipindeki farklılığın gebelik sonuçları üzerinde anlamlı bir fark yaratmadığı saptanmıştır($p > 0.05$). 2007'de Mochtar ve ark. yaptığı bir çalışmada HMG kullanılan sikluslarda LH etkisiyle artan östrojenizasyona sekonder yüksek endometrium reseptivitesi ve oosit maturasyonu elde edilmesine rağmen bu durumun, gebelik sonuçları üzerinde anlamlı bir farklılık yaratmadığı tespit edilmiştir(86). Bu çalışmada GnRH agonisti kullanılan 2396

hastayı kapsayan 11 merkez üzerinden elde edilen sonuçlarda canlı doğum oranlarında (OR=1.51, %95 CI=0.79-2.87) ve klinik gebelik oranlarında (OR=1.15, %95 CI=0.91-1.45) istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır. Son yayınlanan bir meta analizde, devam eden gebelik oranı HMG grubunda, rec-FSH grubuna göre %5 daha yüksek saptanmış, devam eden gebelik oranı HMG grubunda %27 ve rec-FSH grubunda ise %22 bulunmuştur. Ancak bu sonuçlarda istatistiksel anlamlılık gösterilmemiştir(87).

IVF siklusunda viabilitesi en yüksek embriyonun transferini gerçekleştirmek günümüzde embriyo transferine modern yaklaşıma öncülük etmektedir. Bugün halen bazı ülkelerde 2ET veya 3ET'ne izin verilse de ART'nin kullanılmasıyla artan çoğul gebelik ve buna bağlı komplikasyonlar embriyo transfer sayısını kısıtlamıştır. Ülkemizde bugün tek embriyo transferine izin verilmektedir. Ancak çalışmamızın kapsadığı tarihlerde en fazla 3 embriyo olmak üzere çoğul ET'ne izin verilmekteydi. Çiftler açısından bakıldığında ise çoğul embriyo transferi daha yüksek gebelik şansını taşıyabileceğinden tercih edilmektedir. Ama çoğul embriyo transferinde embriyolar arasındaki antagonizma gebelik şansını düşürebilmektedir. Nitekim çalışmamız sonuçlarında gebelik elde edilen sikluslarda, gebelik elde edilmeyen siklusa göre daha az sayıda embriyonun transfer edilmiş olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve klinik sonuçlarla da uyumlu olduğu görülmüştür.

Avrupa ve ABD'ndeki İVF sikluslarının karşılaştırıldığı analizde, ABD ile Avrupa arasında transfer edilen embriyo sayıları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş, ABD'nde daha düşük sayıda embriyo transferi yapılmış olması gebelik sonuçlarına olumlu yönde etki etmiştir(82). Bu çalışmanın sonuçlarına göre ABD'nde transfer edilen embriyo sayısı $2,3 \pm 0,6$ ve Avrupa'da $2,6 \pm 1,0$ olarak bulunmuştur($p = 0.003 < 0.05$). Bizim çalışmamızda başarısız siklusta transfer edilen embriyo sayısı 2.52 ± 0.6 , başarılı siklusta ise 2.32 ± 0.77 olarak bulunmuştur ($p < 0.05$).

Aynı çalışmanın embriyo transfer günü sonuçları da bizim çalışmamızın sonuçlarını desteklemektedir. Çalışmamızda başarısız siklusda embriyo transferi 2.66 ± 0.76 günde, başarılı siklusta ise 3.02 ± 1.10 günde yapılmıştır ($p < 0.05$). ABD’nde ise embriyolar; fertilizasyon takibinin $3,5 \pm 0,9$ gününde, Avrupa’da ise $2,7 \pm 0,7$ gününde ($p = 0.001 < 0.05$) transfer edilmişlerdir.

Bilindiği gibi konvansiyonel IVF tedavisinde sıklıkla 2. ve 3.gün embriyo transferleri yapılmaktadır. Blastokist transferi ise 5.güne denk gelmektedir. Çalışmamızda gruplar arasında blastokist transferi oranları karşılaştırılmış ve gebe kalınan sikluslarda, kalınmayan siklusa göre daha fazla yapıldığı gözlenmiştir (sırasıyla %58,6 ve %41,4). Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bunun sebebi çalışmamızda gebeliğin geliştiği 2.siklusta, bu grubun tamamı dikkate alındığında sadece %17,7’inde blastokist transferi yapılmış olması olabilir. Çünkü yapılan çalışmalar embriyo grade’i göz önüne alındığında 3.gün ve üzerindeki transferlerde blastokist transferinin gebelik şansını anlamlı derecede arttırdığını göstermektedir. Feil ve ark. , tek embriyo transferi yaptıkları sikluslarda embriyo grade ve transfer gününü karşılaştıran çalışmalarında 4.gün ve 5.gün blastokist transferlerinin gebelik sonuçları üzerine etkilerini araştırmışlardır(88). Buna göre 4.gün (%38,7) ve 5.gün (%32,1) transferleri arasında gebelik sonuçlarını etkileyen anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Ancak bu çalışmada embriyo grade’i gebelik sonuçlarını etkileyen en önemli parametre olmuştur. Embriyo grade’i, Gardner’in 1999’da sunduğu blastokist sınıflamasına (evre 1-4) göre tanımlanmıştır. 4.günde evre 1 ve 2 embriyolarla yapılan (sırasıyla %43 ve %49) transferlerin, evre 3 ve 4’e göre (sırasıyla %16 ve %0) anlamlı şekilde yüksek devam eden gebelik oranlarına sahip oldukları gösterilmiştir ($R^2 = 0.972$, $p < 0.05$).

Sonuçlarımız göstermektedir ki, başarısız IVF siklusundan sonra uygulanan tedaviler, hasta bazında kişiselleştirilmelidir. Protokol değişikliği hastanın tedaviye cevabını, dolayısıyla gelişen folikül sayısını ve elde edilen matur oosit sayısını olumlu yönde etkileyebilir.

Çalışmamızda, hasta sayısının az ve erkek faktörünün ağırlıklı olması gruplar arasındaki tedavi cevabını değerlendirme de yetersiz kalmış olabilir. Bununla birlikte başarılı siklusta daha ileri gündeki embriyonun (iyi kalitede, dolayısıyla viabilitesi yüksek olan) ve az sayıdaki embriyonun transferinin olumlu şekilde tedavi sonuçlarını etkilemesi başarısız IVF siklusları için en önemli faktörün embriyo kalitesi olduğunu bir kez daha vurgulamıştır.

Yakın zamana kadar yüksek sayıda embriyo transferinin IVF başarısını olumlu yönde etkilediği düşünülse de bu durum çoğul gebelik ve komplikasyonlarının oranının artmasına sebep olmuştur. Ayrıca tekrarlayan başarısız IVF siklusları hastanın her seferinde tedavi cevabını oldukça olumsuz yönde etkilemektedir. Bu sonuçlarla bakıldığında başarısız siklus sonrası, hasta temeli alınarak tedavi kişiselleştirilmeli ve en iyi kalitede embriyonun transferi mümkün kılınmalıdır. Literatüre bu konuda daha geniş serili çalışmalar sunulması, sonuçların daha net vurgulanmasını sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Cramer DW, Walker AM, Schiff I. Statistical methods in evaluating the outcome of infertility therapy. *Fertil Steril* 1979;32 :80-86.
2. Barnhart K, Dunsmoor-Su R, Coutifaris C Effect of endometriosis on in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2002;77(6):1148
3. Mosher WD, Pratt WF: Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. *Fertil Steril*.1991; 56: 192-193
4. Chandra A, Mosher WD. The demography of infertility and the use of medical care for infertility. *Infert Reprod Med Clin North Am* 5: 283-296.
5. Wilcox LS, Mosher WD. Use of infertility services in the US. *Obstet Gynecol* 1993; 82 : 122-127.
6. Vaskivuo TE, Anttonen M, Herva R, Billig H, Dorland M, te Velde ER, Stenbäck F, Heikinheimo M, Tapanainen JS. Survival of human ovarian follicles from fetal to adult life: apoptosis, apoptosis-related proteins, and transcription factor GATA-4. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 86(7):3421-9
7. Gougeon A, Ecochard R, Thalabard JC. Age-related changes of the population of human ovarian follicles: increase in the disappearance rate of non-growing and early-growing follicles in aging women. *Biol Reprod*. 1994;50(3):653-63.
8. Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, Nelson JF. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod*. 1992 Nov;7(10):1342-6.
9. Menken J, Trussell J, Larsen U. Age and fertility *Science*. 1986; 26;233(4771):1389-94.
10. Gougeon A, Ecochard R, Thalabard JC. Age-related changes of the population of human ovarian follicles: increase in the disappearance rate of non-growing and early-growing follicles in aging women. *Biol Reprod*. 1994;50(3):653-63.
11. Hull MG, Fleming CF, Hughes AO, McDermott A. The age-related decline in female fecundity: a quantitative controlled study of implanting capacity and survival of individual embryos after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1996 ;65(4):783-90.
12. Ziebe S, Bangsbo S, Schmidt KL, Loft A, Lindhard A, Nyboe Andersen A. Embryo quality in natural versus stimulated IVF cycles. *Hum Reprod*. 2004 19(6):1457-60.

13. Pellestor F, Andréo B, Arnal F, Humeau C, Demaille J. Mechanisms of non-disjunction in human female meiosis: the co-existence of two modes of malsegregation evidenced by the karyotyping of 1397 in-vitro unfertilized oocytes. *Hum Reprod.* 2002 ; 17(8):2134-45
14. Hassold T, Chiu D. Maternal age-specific rates of numerical chromosome abnormalities with special reference to trisomy. *Hum Genet.* 1985;70(1):11-7.
15. Volarcik K, Sheean L, Goldfarb J, Woods L, Abdul-Karim FW, Hunt P. The meiotic competence of in-vitro matured human oocytes is influenced by donor age: evidence that folliculogenesis is compromised in the reproductively aged ovary. *Hum Reprod.* 1998 ;13(1):154-60.
16. Rowland AS, Baird DD, Long S, Wegienka G, Harlow SD, Alavanja M, Sandler DP. Influence of medical conditions and lifestyle factors on the menstrual cycle. *Epidemiology.* 2002;13(6):668-74.
17. Zenzes MT, Reed TE, Wang P, Klein J. Cotinine, a major metabolite of nicotine, is detectable in follicular fluids of passive smokers in in vitro fertilization therapy. *Fertil Steril.* 1996 Oct;66(4):614-9.
18. Wentz AC, Herbert CM, Maxson WS, et al. Outcome of progesterone treatment of luteal phase inadequacy. *Fertil Steril* 1984;41:856-862.
19. Kerin JF, Edmonds DK, Warnes GM, et al. Morphological and functional relations of Graafian follicle growth to ovulation in women using ultrasonic, laparoscopic and biochemical measurements. *Br J Obstet Gynaecol* 1981; 88:81-90.
20. O'Herlihy C, De Crespigny LC, Lopata A, et al. Preovulatory follicular size: a comparison of ultrasound and laparoscopic measurements. *Fertil Steril* 1980;34:24-26.
21. Forti G, Krausz C. Clinical review 100: Evaluation and treatment of the infertile couple. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998 ;83(12): 4177-88. Review.
22. Noyes RW, Haman JO Accuracy of endometrial dating; correlation of endometrial dating with basal body temperature and menses. *Fertil Steril.* 1953;4(6):504-17.
23. Duggan MA, Brashert P, Ostor A, Scurry J, Billson V, Kneafsey P, Difrancesco L. The accuracy and interobserver reproducibility of endometrial dating. *Pathology.* 2001 ;33(3):292-7.
24. Davis OK, Berkeley AS, Naus GJ, Cholst IN, Freedman KS. The incidence of luteal phase defect in normal, fertile women, determined by serial endometrial biopsies. *Fertil Steril.* 1989 ;51(4):582-6

25. Li TC, Dockery P, Cooke ID. Endometrial development in the luteal phase of women with various types of infertility: comparison with women of normal fertility. *Hum Reprod*. 1991;6(3):325-30
26. Ombelet W, Vandeput H, Van de Putte G, et al. Intrauterine insemination after ovarian stimulation with clomiphene citrate: predictive potential of inseminating motile count and sperm morphology. *Hum Reprod* 1997;12,1458-1463
27. Snick HK, Snick TS, Evers JL, Collins JA, The spontaneous pregnancy prognosis in untreated subfertile couples: the Walcheren primary care study, *Hum Reprod* 1997; 12: 1582.
28. Krawetz SA. Paternal contribution: new insights and future challenges. *Nat Rev Gen*. 2005;6.633-642.
29. Bordson BL, Leonardo VS. The appropriate upper age limit for semen donors: a review of the genetic effects of potential age. *Fertil Steril* 1997;56.397-401.
30. Burkman LJ, Cobbington CC, Franken DR, et al. The hemizona assay (HZA): development of a diagnostic test for the binding of human spermatozoa to the human hemizona pellucida to predict fertilization potential. *Fertil Steril* 1988;49.688-697.
31. Kruger TF, Menkveld R, Stander FS, et al. Sperm morphologic features as a prognostic factor in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1986;46,1118-1123.
32. Pasqualotto FF, Lucon AM, de Goes PM, et al. Semen profile, testicular volume, and hormonal levels in infertile patients with varicoceles compared with fertile men with and without varicoceles. *Fertil Steril* 2005;83.74-77.
33. Navot D, Rosenwaks Z, Margalioth EJ, Prognostic assessment of female fecundity, *Lancet*; 1987; 687.
34. Navot D, Drews MR, Bergh PA, et al. Age related decline in female fertility is not due to diminished capacity of the uterus to sustain embryo implantation. *Fertil Steril* 1994;61.97-101.
35. Federation CECOS, Schwartz D, Mayaux MJ. Female fecundity as a function of age: results of artificial insemination in 2193 nulliparous women with azoospermic husbands. *N Engl J Med* 1982;306:404-406.
36. Hall JE, Welt CK, Cramer DW. Inhibin A and inhibin B reflect ovarian function in assisted reproduction but are less useful at predicting outcome. *Hum Reprod* 1999;14.409-415.
37. Seifer DB, MacLaughlin DT, Christian BP, et al. Early follicular serum mullerian inhibiting substance levels are associated with ovarian response during assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril* 2002;77.468-471.

38. World Health Organization. Temporal relationships between ovulation and defined changes in the concentration of plasma estradiol 17 β luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and progesterone. *Am J Obstet Gynecol* 1980;138:383-390.
39. Grinsted J, Jacobsen JD, Grinsted L, et al. Prediction of ovulation. *Fertil Steril* 1989;52:388-393.
40. Luciano AA, Peluso J, Koch EI, Maier D, Kuslis S, Davison E, Temporal relationship and reliability of the clinical, hormonal, and ultrasonographic indices of ovulation in infertile women, *Obstet Gynecol* 1990; 75:412.
41. Filicori M, Butler JP, Crowley WF Jr. Neuroendocrine regulation of the corpus luteum in the human: evidence for pulsatile progesterone secretion. *J Clin Invest* 1984;73:1638-1647.
42. Petsos P, Chandler C, Oak M, Ratcliffe WA, Wood R, Anderson DC, The assessment of ovulation by a combination of ultrasound and detailed serial hormone profiles in 35 women with long-standing unexplained infertility, *Clin Endocrinol (Oxf)* 1985; 22:739
43. Westrom L. Incidence, prevalence, and trends of acute pelvic inflammatory disease and its consequences in industrialized countries. *Am J Obstet Gynecol* 1980;138:880-892.
44. Rosenfeld DL, Seidman SM, Bronson RA, et al. Unsuspected chronic pelvic inflammatory disease in the infertile female. *Fertil Steril* 1983;39:44-48.
45. Evers JLH, Land JA, Mol BW, Evidence-based medicine for diagnostic questions, *Seminars Reprod Med* 2003;21,9.
46. Glazener CM, Ford WC, Hull MG, The prognostic power of the post-coital test for natural conception depends on duration of infertility, *Hum Reprod* 2000;15:1953.
47. Optimal evaluation of the infertile female. A practice committee report, Birmingham, AL, *American Society for Reproductive Medicine*, 2000.
48. Brown SE, Coddington CC, Schnorr J, et al. Evaluation of outpatient hysteroscopy, saline infusion hysterosonography, and hysterosalpingography in infertile women: a prospective, randomized study. *Fertil Steril* 2000;74:1029-1034.
49. Soares SR, Barbosa dos Reis MM, Camargos AF. Diagnostic accuracy of sonohysterography, transvaginal sonography, and hysterosalpingography in patients with uterine cavity diseases. *Fertil Steril* 2000;73:406-411.
50. Fedele L. Transvaginal ultrasonography versus hysteroscopy in the diagnosis of uterine submucous myomas. *Obstet Gynecol* 1991;77:745.
51. Homer HA, Li TC, Cooke ID, The septate uterus: a review of management and reproductive outcome, *Fertil Steril* 2005; 73:1.

52. Lindheim SR, Kavic S, Shulman SV, Sauer MV, Operative hysteroscopy in the office setting, *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 2000; 7:65.
53. Soares SR, Barbosa dos Reis MM, Camargos AF, Diagnostic accuracy of sonohysterography, transvaginal sonography, and hysterosalpingography in patients with uterine cavity diseases, *Fertil Steril* 2000; 73:406.
54. Randall JM, Templeton A, The effects of clomiphene citrate upon ovulation and endocrinology when administered to patients with unexplained infertility, *Hum Reprod* 1991;6:659.
55. Spiessens C, Vanderschueren D, Meuleman C, D'Hooghe T, Isolated teratozoospermia and intrauterine insemination., *Fertil Steril* 2003;80:1185.
56. Reich H, McGlynn F, Treatment of ovarian endometriomas using laparoscopic surgical techniques, *J Reprod Med* 1986; 31:577.
57. van der Westerlaken LA, Naaktgeboren N, Helmerhorst FM, Evaluation of pregnancy rates after intrauterine insemination according to indication, age, and sperm parameters, *J Assist Reprod Genet* 1998; 15:359.
58. Kruger TF, Acosta AA, Simmons KF, Swanson RJ, Matta JF, Oehninger S, Predictive value of abnormal sperm morphology in in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1988; 49:112.
59. Klein NA, Harper AJ, Houmard BS, Sluss PM, Soules MR, Is the short follicular phase in older women secondary to advanced or accelerated dominant follicle development?, *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:5746.
60. Leroy I, d'Acremont MF, Brailly-Tabard S, Frydman R, de Mouzon J, Bouchard P, A single injection of a gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist (Cetrorelix) postpones the luteinizing hormone (LH) surge: further evidence for the role of GnRH during the LH surge, *Fertil Steril* 1994; 62:461.
61. Ingerslev HJ, Hojgaard A, Hindkjaer J, Kesmodel U, A randomized study comparing IVF in the unstimulated cycle with IVF following clomiphene citrate, *Hum Reprod* 2001; 16:696.
62. Toner JP, Brzyski RG, Oehninger S, Veeck LL, Simonetti S, Muasher SJ, Combined impact of the number of pre-ovulatory oocytes and cryopreservation on IVF outcome, *Hum Reprod* 1991; 6:284.
63. Meldrum D, GnRH agonists as adjuncts for in vitro fertilization, *Obstet Gynecol* 1989; 44:314.
64. Edwards RG, Lobo R, Bouchard P, Time to revolutionize ovarian stimulation, *Hum Reprod* 1996;11:917.

65. Janssens RM, Lambalk CB, Vermeiden JP, Schats R, Bernards JM, Rekers-Mombarg LT, Schoemaker J, Dose-finding study of triptorelin acetate for prevention of a premature LH surge in IVF: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study, *Hum Reprod* 2000; 15:2333.
66. Meldrum DR, Wisot A, Hamilton F, Gutlay AL, Huynh D, Kempton W, Timing of initiation and dose schedule of leuprolide influence the time course of ovarian suppression, *Fertil Steril* 1988; 50:400.
67. Urbancsek J, Witthaus E, Midluteal buserelin is superior to early follicular phase buserelin in combined gonadotropin-releasing hormone analog and gonadotropin stimulation in in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1996; 65:966.
68. Ron-El R, Herman A, Golan A, Nachum H, Soffer Y, Caspi E, Gonadotropins and combined gonadotropin-releasing hormone agonist&gonadotropins protocols in a randomized prospective study, *Fertil Steril* 1991; 55:574.
69. Thatcher SS, Jones E, DeCherney AH, Ovarian cysts decrease the success of controlled ovarian stimulation and in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1989;52:812.
70. Keltz MD, Jones EE, Duleba AJ, Polcz T, Kennedy K, Olive DL, Baseline cyst formation after luteal phase gonadotropin-releasing hormone agonist administration is linked to poor in vitro fertilization outcome, *Fertil Steril* 1995; 64:568.
71. Segal S, Shifren JL, Isaacson KB, Leykin L, Chang Y, Pal L, Toth TL, Effect of a baseline ovarian cyst on the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer, *Fertil Steril* 1999; 71:274.
72. Rizk B, Tan SL, Kingsland C, Steer C, Mason BA, Campbell S, Ovarian cyst aspiration and the outcome of in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1990; 54:661.
73. Ueno J, Oehninger S, Brzyski RG, Acosta AA, Philput B, Muasher SJ, Ultrasonographic appearance of the endometrium in natural and stimulated in-vitro fertilization cycles and its correlation with outcome, *Hum Reprod* 1991; 6:901.
74. Matikainen T, Ding YQ, Vergara M, Huhtaniemi I, Couzinet B, Schaison G, Differing responses of plasma bioactive and immunoreactive follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone to gonadotropin-releasing hormone antagonist and agonist treatments in postmenopausal women, *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75:820.
75. Felberbaum RE, Albano C, Ludwig M, Riethmuller-Winzen H, Grigat M, Devroey P, Diedrich K, Ovarian stimulation for assisted reproduction with HMG and concomitant midcycle administration of the GnRH antagonist cetrorelix according to the multiple dose protocol: a prospective uncontrolled phase III study, *Hum Reprod* 2000;15:1015.

76. The Ganirelix Dose-Finding Study Group, A double-blind, randomized, dose-finding study to assess the efficacy of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462) to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone (Puregon), *Hum Reprod* 1998; 13:3023.
77. Albano C, J, Camus M, Riethmaller-Winzen H, Siebert-Weigel M, Diedrich K, Van Steirteghem AC, Devroey P, Comparison of different doses of gonadotropin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during controlled ovarian hyperstimulation, *Fertil Steril* 1997; 67:917.
78. Fanchin R, Salomon L, Castelo-Branco A, Olivennes F, Frydman N, Frydman R, Luteal estradiol pre-treatment coordinates follicular growth during controlled ovarian hyperstimulation with GnRH antagonists, *Hum Reprod* 2003; 18:2698.
79. Al-Inany H, Aboulghar M, GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review, *Hum Reprod* 2002; 17:874.
80. Hernandez ER, Embryo implantation and GnRH antagonists: embryo implantation: the Rubicon for GnRH antagonists, *Hum Reprod* 2000; 15:1211.
81. Kalu E, Thum MY, Abdalla H. Prognostic value of first IVF cycle on success of a subsequent cycle. *J Assist Reprod Genet.* 2011 ;28(4):379-82.
82. Baker VL, Jones CE, Cometti B, Hoehler F, Salle B, Urbancsek J, Soules MR. Factors affecting success rates in two concurrent clinical IVF trials: an examination of potential explanations for the difference in pregnancy rates between the United States and Europe. *Fertil Steril.* 2010; 94(4):1287-91.
83. Jun SH, Choi B, Shahine L, Westphal LM, Behr B, Reijo-Pera RA, et al. Defining human embryo phenotypes by cohort-specific prognostic factors. *PLoS ONE* 2008;3:1-7.
84. Centers for Disease Control and Prevention, American Society for Assisted Reproductive Technology. 2006 Assisted reproductive technology success rates: national summary and fertility clinic reports. Atlanta, GA: *U.S. Department of Health and Human Services*, Centers for Disease Control and Prevention, 2008.
85. Pandian Z, McTavish AR, Aucott L, Hamilton MP, Bhattacharya S. Interventions for 'poor responders' to controlled ovarian hyper stimulation (COH) in in-vitro fertilisation (IVF). *Cochrane Database Syst Rev.* 2010 ;(1):CD004379.
86. Mochtar MH, Van der Veen, Ziech M, van Wely M. Recombinant Luteinizing Hormone (rLH) for controlled ovarian hyperstimulation in assisted reproductive cycles. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007; 18(2): CD005070

87. Vav Wely M, Westergard LG, Bossuyt PMM, Van Der Veen F. Human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle stimulation hormone for ovarian stimulation in assisted reproductive cycles. *Fertil Steril*. 2003; 80: 1121-2.
88. Feil D, Henshaw RC, Lane M. Day 4 embryo selection is equal to Day 5 using a new embryo scoring system validated in single embryo transfers. *Hum Reprod*. 2008 ;23(7):1505-10.
89. Rinaldi L., Lioffi F., Floccari A., Lisi R., Pepe G., Fishel S., Endometrial thickness as a predictor of pregnancy after in-vitro fertilization but not after intracytoplasmic sperm injection, *Human Reproduction* 1996 ; 11 (7): 1538-1541.
90. Papageorgiou T., Guibert J., Goffinet F., Patrat C., Fulla Y., Janssens Y., Zor JR., Percentile curves of serum estradiol levels during controlled ovarian stimulation in 905 cycles stimulated with recombinant FSH show that high estradiol is not detrimental to IVF outcome. *Human Reproduction* 2002; 17 (11):2846–2850.