

**T.C.**  
**SAGLIK BAKANLIğI**  
**ZEYNEP KAMIL EğİTİM ve ARAşTIRMA HASTANESİ**  
**KADIN HASTALIKLARI VE DOğUM KLİNİğİ**  
**Klinik şefi Op. Dr. Sadiye EREN**

**IVF/ICSI UYGULANAN HASTALARDA BAZAL SERUM  
ANTİMÜLLERİAN HORMON İLE OOSİT KALİTESİ VE GEBELİK  
SONUÇLARI ARASINDAKİ İLİşKİNİN DEğERLENDİRİLMESİ**

**(Uzmanlık Tezi)**  
**Dr. Gültekin ADANAş**

**İSTANBUL-2010**

## ÖNSÖZ

*Uzmanlık eğitimim boyunca mesleğine olan aşkı, engin deneyimi ve her konuya sistematik yaklaşımıyla bizlere örnek olan ve mesleğime duyduğum saygının en büyük nedeni değerli hocam Sayın Op. Dr. Sadiye Eren'e;*

*Eğitimimde değerli katkıları olan, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım klinik şefleri Sayın Prof. Dr. Ateş Karateke'ye ,Op. Dr.Vedat Dayıcioğlu, Op. Dr. Mehmet Uludoğan, Doç. Dr. Aktuğ Ertekin'e;*

*Başhekimimiz Sayın Doç. Dr. Ayşenur Celayir'e;*

*Tez çalışmam sürecinde yardım ve önerilerini esirgemeyen Sayın Op. Dr. Tayfun Kutlu ve Doç.Dr. Ranan Gülhan Aktaş' a, tezimin laboratuvar çalışmaları esnasında desteğini gördüğüm HNH Enfeksiyon hastalıkları ve Klinik Bakteriyoloji Klinik şefi Doç.Dr. Paşa Göktaş'a ve sayın Handan Tünay'a;*

*Birlikte çalıştığım başasistanlarıma, uzmanlarıma, tüm sevgili asistan arkadaşlarıma, hemşire ve personelimize;*

*Bugünlere gelmemde büyük emeği olan değerli aileme;  
Sonsuz teşekkür ederim...*

**Dr. Gültekin ADANAŞ**

## İÇİNDEKİLER

|                     |    |
|---------------------|----|
| GİRİŞ VE AMAÇ.....  | 1  |
| GENEL BİLGİLER..... | 3  |
| MATERYAL-METOD..... | 37 |
| BULGULAR.....       | 40 |
| TARTIŞMA-SONUÇ..... | 49 |
| KAYNAKLAR.....      | 55 |

## GİRİŞ

İnfertilite üreme dönemindeki toplumun %10-15' ini ilgilendiren bir durumdur (1). Toplumda kadınların rolünün değişmesi, evlilik yaşının ilerlemesi, geç çocuk sahibi olma isteği, çevresel ve sosyo-ekonomik faktörler fertilitiyi etkileyen nedenlerdir.

Günümüzde infertil hastaların tedavisinde önemli gelişmeler elde edilmiştir. Özellikle yardımcı üreme tekniklerinin gelişmesiyle infertilite tedavisindeki başarı oranları artmış ve daha çok infertil çiftin sağlıklı bir bebeğe sahip olabilmesi sağlanmıştır. Böylece infertil çiftlerin tedaviye yönelik umutları artmış ve bu nedenle hastaneye başvuru sayısında önemli artışlar olmuştur.

Halen yardımcı üreme tekniklerinin başarısını artırmak için çalışmalar sürmektedir. Tedavinin başarısı, hastaların uygun olarak değerlendirilmesine, uygun tedavinin planlanmasına, uygun tekniklerin kullanılmasına ve hasta uyumuna bağlıdır.

Yardımcı üreme teknikleri tedavisi pahalı, zaman gerektiren ve hastalar için stresli bir tedavi şeklidir. İnfertil hastaların doğru değerlendirilmesi ve uygun tedavi tekniklerinin seçilmesi yardımcı üreme tekniklerinin başarısı için şarttır. Bu nedenle tedavi öncesi over rezervi ve semen kalitesinin değerlendirilmesi gereklidir.

Over rezervi oosit sayısı ve kalitesiyle ilgilidir ve kadının reproduktif potansiyelini gösterir. Over rezervinin gösterilmesi klinisyenin başarı şansı konusunda hastayı doğru bir şekilde bilgilendirilmesini sağlar.

Over rezervinin değerlendirilmesi için birçok test geliştirilmiştir. Bu amaçla serum bazal FSH, E<sub>2</sub>, inhibin B değerleri ile tedavi öncesi over volümü ve antral folikül sayısı gibi parametreler yanında çeşitli provakatif testlerde kullanılmıştır. Son yıllarda antimüllerian hormonun over rezervini belirlemedeki önemi gittikçe daha fazla anlaşılmaya başlanmıştır.

Günümüzde yardımcı üreme teknikleri ile gebelik oluşumunu etkileyen faktörler üzerine araştırmalar devam etmektedir. Gebelik oluşumu tedavi ile elde edilecek

oosit sayısı kadar oosit kalitesine de bağılıdır. Normal over rezervi olan hastalarda gebelik oluşmayabilir. Kötü cevaplı hastalar düşük olasılıkla da olsa gebe kalabilirler.

Son yıllarda over rezervini değerlendirmek için kullanılan AMH ile oosit kalitesi ve gebelik oluşumu arasında ilişki olup olmadığına dair çalışmalar yapılmaktadır.

Halen yardımcı üreme tekniklerinin başarısının artırılması için çalışmalar devam etmektedir. Gebelik oluşumunda etkili olan faktörlerin saptanması tedavinin başarı şansını daha da artıracaktır.



## GENEL BİLGİLER

İnfertilite bir yıl süresince korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebelik oluşmaması olarak tanımlanmaktadır. Sağlıklı çiftlerin yaklaşık %85-90' ında bir yıl içerisinde spontan gebelik oluşmaktadır. Dolayısıyla infertilite çiftlerin yaklaşık %10-15' ini etkilemektedir (1).

İnfertilite; daha önce hiç gebelik oluşmamışsa primer infertilite, canlı doğumla sonuçlansın yada sonuçlanmasın, en az bir gebelik oluşmuşsa sekonder infertilite olarak tanımlanır.

Normal fertil çiftlerde, siklus başına gebe kalabilme şansı (fekundabilite) %20-25' tir. Kontrasepsiyon kullanmayan normal çiftlerin %57' si ilk üç ayda, %85' i bir yıl içerisinde, %93' ü iki yılın sonunda gebe kalmaktadır (1).

Evlilik yaşının ilerlemesi, geç çocuk sahibi olma isteği, toplumda kadınların rolünün değişmesi, çevresel ve sosyo-ekonomik faktörler fertilitiyi etkileyen nedenlerdir. Her ne kadar infertilitenin prevalansı değişmezken, primer infertil kadınların oranında belirgin artma görülmüştür (2).

Son yıllarda yardımcı üreme tekniklerinin gelişmesiyle infertil çiftlerin tedavi şansları artmıştır. Uygun tedavi için infertil çiftler doğru bir şekilde değerlendirilmelidir. İnfertiliteye neden olan sebepler belirlenmeye çalışılmalı ve nedene yönelik tedavi planlanmalıdır.

### İNFERTİL ÇİFTİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Bir yıl ve üzerinde korunmasız ilişkiye rağmen gebelik oluşmayan çiftlerde değerlendirilmeye başlanmalıdır. İncelemeye başlamak için bir yıllık infertilite süresi kesin gereklilik olmamalıdır. 35 yaş üzerindeki kadınlarda, endometriozis öyküsü olanlarda, anovulatuvar siklusları olanlarda, kötü semen kalitesi olanlarda daha erken incelemeye başlanmalıdır. İnfertil çiftlerin tedavi oranları kadının yaşı, infertilite süresi, daha önceki gebelik hikayesi ve infertilite nedenine göre değişmektedir.

İncelemeye hem kadının hem de erkeğin birlikte değerlendirilmesiyle başlanmalıdır. Çiftin ayrıntılı anamnezi alınmalıdır.

## 1) ANAMNEZ

### 1.1) Yaş

Yapılan çalışmalardan elde edilen verilere göre, 20-24 yaşları arasında fertilite en yüksek seviyedir. 30-32 yaşından sonra bu oran hafif şekilde azalmaktadır ve 40 yaşından sonra ilerleyici olarak hızla azalmaktadır.

25-29 yaşları arasında infertilite oranları %4-8 iken, 30-34 yaşlarında %15-19, 35-39 yaş arasında %26-46 ve 40-45 yaş arasında %95 civarındadır (3).

Yardımcı üreme teknikleri ile elde edilen başarı oranları da yaş artıkça azalmaktadır. Yaşlı kadınlarda genç yaştakilere göre elde edilen oosit ve embriyo sayısı ile implantasyon oranı düşüktür (4,5). 35 yaş altında transfer edilen embriyo başına canlı doğum oranı %41, 35-37 yaşlarında %35, 38-40 yaşlarında %25, 41-42 yaşlarında %14, 44 yaş üzerinde ise %2.9' dur (6).

### 1.2) İnfertilite süresi

Tedavisiz canlı doğum olasılığı artan yaş ve infertilite süresiyle azalmaktadır (7,8). Kadın yaşının her yıl artışıyla birlikte tedavisiz gebelik olasılığı %5 azalırken, infertilite süresinin her yılında %15-25 azalma olmaktadır (9).

### 1.3) Menstruasyon düzeni ve son adet tarihi

Hipotalamo-hipofiz-over aksının çalışması hakkında bilgi verir.

### 1.4) Sistemik hastalıkların varlığı

Tiroid hastalıkları semptomları, galaktore, hirsutismus ve başka sistemik hastalıkların öyküsü

### 1.5) Geçirilmiş operasyon öyküsü, endikasyonları ve sonuçları

### 1.6) Sigara, alkol veya diğer madde kullanımları

Sigara içiciliği fekundabiliteyi doz bağımlı olarak olumsuz etkiler (10,11).

### 1.7) Daha önce uygulanan infertilite tedavisinin varlığı

Kullanılan ilaçlar, tedaviye alınan cevap ve sonuçlarının değerlendirilmesi tedavi şeklinin belirlenmesinde önemlidir.

## 2) FİZİK MUAYENE

Fizik muayene sırasında, öncelikle hastanın kilosu ve vücut kitle indeksi not edilmelidir. Tiroid muayenesi, meme muayenesiyle birlikte galaktorenin varlığı ve artmış androjen bulguları yönünden değerlendirme yapılmalıdır. Jinekolojik muayene ile bazı anatomik bozukluklar saptanabilir. Pelvik ya da abdominal hassasiyet, cul de sac veya adnekslerde kitle, nodularite saptanabilir. Vajinal veya servikal anormallikler

ile mukopürülan akıntının varlığı değerlendirilmelidir. Ayrıca servikal kültür, direkt yayma, mikoplazma ve klamidy kùltürleri ile detaylı bir tarama gerçekleştirilebilir. Yine Pap-smear testi ile serviksin premalign hastalıkları yönünden araştırılması gereklidir.

### 3)LABORATUAR İNCELEMELERİ

#### 3.1) KADIN İÇİN

- ✓ Hematolojik Testler

Kan grubu, tam kan sayımı

Gerekli görüldüğünde; açlık kan şekeri, açlık insulin düzeyi, karaciğer ve böbrek testleri, HbA<sub>1c</sub> düzeyi, hemoglobin elektroforezi

- ✓ Serolojik Testler

HBsAg, Anti-HBs, Anti-HCV, Anti-HIV I-II, Rubella ve Toxo Ig-G ve/veya Ig-M

- ✓ Hormonal Testler

FSH, LH, estradiol, prolaktin, TSH, serbest T4

Gerekli görüldüğünde; serbest testosteron, androstenedion, 17-OH Progesteron, DHEA-SO<sub>4</sub>

- ✓ Genetik Testler

Gerekli görüldüğünde; periferik karyotip ve mutasyon analizi

- ✓ Mikrobiyolojik Testler

Gerekli görüldüğünde; direkt yayma, servikal kültür, servikal mikoplazma ve klamidy antijeni

- ✓ Histerosalpingografi; intrakaviter yer kaplayıcı lezyonlar, sineşiler, tubal pasajın değerlendirilmesi ve konjenital anomalilerin saptanması
- ✓ TVUSG
- ✓ Laparoskopi ve histeroskopi

#### 3.2) ERKEK İÇİN

- ✓ Hematolojik Testler

Kan grubu

- ✓ Hormonal Testler

FSH, LH, total testosteron

Gerekli görüldüğünde; prolaktin, TSH

- ✓ Serolojik Testler



HBsAg, Anti-HBs, Anti-HCV, Anti-HIV I-II

✓ Genetik Testler

Gerekli görüldüğünde; periferik karyotip, Y kromozomu mikrodelyasyonu, spermatozoa FISH analizi, mutasyon analizi, kistik fibrozis mutasyonları

## İNFERTİLİTE NEDENLERİ

Birçok çiftin zaman içerisinde gebelik şansı vardır, fakat bilinen ya da tespit edilmemiş nedenlerden dolayı spontan gebelik oranı düşüktür ve medikal tedavi gerektirir. Subfertilite nedenlerinin belirlenmesi (örneğin anovulasyon veya oligospermi) nedene yönelik tedavi imkanı verir. Herhangi bir neden bulunmasa bile ampirik tedavilerle gebelik şansı artar.

İnfertilite nedenlerinin prevalansına baktığımızda %40-55'ini kadın infertilitesi, %25-40'ını erkek infertilitesi ve %10'unu açıklanamayan infertilite oluşturur.

Kadın infertilitesi nedenlerine baktığımızda, %30-40'ını ovulasyon disfonksiyonu, %30-40'ını tubal veya peritoneal faktörler, %10-15'ini açıklanamayan infertilite ve %10-15'ini diğer nedenler (anatomik, enfeksiyöz, endokrin, çevresel faktörler) oluşturur.

### 1) ERKEK İNFERTİLİTESİ

Erkek infertilitesi tek başına infertilite nedenlerinin %20 sini oluştururken, infertil çiftlerin %30-40'ında diğer nedenlerle birlikte bulunabilir.

Erkek infertilitesini araştırırken anamnezde infertilite öyküsü, geçirilmiş enfeksiyonlar, operasyonlar ve travmalar, sistemik hastalıkların varlığı, aile öyküsü sorgulanmalıdır. Genel fizik muayene ve ürogenital muayeneden sonra incelemeye non-invaziv testlerden başlanmalıdır.

Bu amaçla yapılacak olan semen analizi yeterlilik ve etyoloji hakkında bilgi verebilir. Erkek faktörünün değerlendirilmesinde ilk olarak en az dört hafta ara ile yapılmış iki semen analizinin incelenmesi gerekir. İki veya üç günlük cinsel perhiz sonrası tercihen mastürbasyon yöntemi ile alınır.

Semen değerlendirilmesinde Dünya Sağlık Örgütü' nün (WHO) önerdiği referans değerleri kullanılmaktadır (13).

#### **Semen Analizi: Normal Referans Değerleri**

Volüm : > 2 ml

PH : > 7.2

Sperm konsantrasyonu : > 20 milyon/ ml

Total sperm sayısı : > 40 milyon/ ejakülat

Motilite : %50 veya daha fazla hareketli, %25 veya daha fazla ileri hareketli spermelerin varlığı

Morfoloji: spermilerin %30' undan fazlasının normal morfolojiye sahip olması  
( Kruger kriterlerine göre > %14 )

Vitalite : spermilerin %75 ve daha fazlasının canlı olması

Lökosit sayısı: <1 milyon / ml

İmmünobead testi

Spermimar testi: %10' dan az partiküllere yapışık sperm varlığı

Kruger kriterlerine göre sperm morfolojisi %4-14 arasında ise iyi prognozla ilişkili iken, %4' ten az normal sperm morfolojisi kötü prognoz ile ilişkilidir (14).

## **2)KADIN İNFERTİLİTESİ**

### **2.1) OVULASYON BOZUKLUKLARI**

Kadın infertilitesinin %30-40' ını ovulasyon bozuklukları oluşturur. Bu bozuklukların tanısı genellikle kolaylıkla konabilir ve tedavi edilebilen infertilite nedenlerindendir.

Konsepsiyon için ovulasyon gerekli olduğundan, infertil çiftin değerlendirilmesinde ovulasyonun olduğunun gösterilmesi önemlidir. Bu amaçla kullanılan yöntemler şunlardır;

- ❖ Menstrüel hikaye: tek başına menstrüel öykü ovulasyon hakkında bilgi verebilir. Normal ovulasyonu olan kadınlar genellikle düzenli, miktar ve süre açısından sabit kanama paternine sahiptirler. Tipik olarak premenstrüel veya menstrüel semptomlar görülebilir.
- ❖ Bazal vücut ısı: ovulatuvar fonksiyonların değerlendirilmesinde ucuz ve basit bir yöntemdir. Progesteronun termojenik etkisi nedeniyle foliküler fazda düşük olan vücut sıcaklığı ovulasyondan sonra 0.4-0.8 derece artar. Günlük vücut ısı ölçümüyle, ovulatuvar kadınlardaki bu bifazik vücut ısı paterni gösterilebilir. Bu amaçla her sabah uyandıktan hemen sonra herhangi bir aktivite yapmadan vücut ısı ölçülür. Bazal vücut sıcaklığının en düşük seviyesi, ovulasyondan bir gün önce ya da ovulasyon günü izlenir. Birçok olguda sıcaklık artışı ovulasyondan iki gün sonra olur ve genellikle serum progesteron değerleri 4ng/ ml den yüksektir (15). Bununla beraber vücut ısı ölçümü, transvajinal ultrasonografi ile gösterilen ovulasyonun %30.4' ünü saptayabilir.
- ❖ Serum progesteron ölçümü: serum progesteron düzeyindeki yükselmeler ovulasyonun indirekt bulgusudur. Luteal fazda ölçülen 3 ng/ ml üzerindeki

değerler ovulasyonu destekler. Serum progesteronu ölçümü için en ideal dönem menstruasyondan bir hafta öncesidir.

- ❖ LH monitorizasyonu: ovulasyon LH pikinden 10-12 saat sonra oluşur. Üriner LH test kitleri ile midsiklus LH eğrisi tanımlanabilir. Özellikle akşam alınan idrar örneklerindeki sonuçlar, serum LH pikiyle koreledir. En fertil dönem LH artışının olduğu gün ve sonrasındaki iki gündür. İlk pozitif testin olduğu günden sonraki gün genellikle ilişki veya inseminasyon için en ideal zamandır (17,18).
- ❖ USG monitorizasyonu: preovulatuar foliküllerin sayısı ve boyutları hakkında detaylı bilgi vererek ovulasyonun ne zaman olacağı hakkında tahmin yapılabilir. Preovulatuar dönemde foliküller günde yaklaşık 2mm büyür (1-3 mm). Ovulasyondan sonra, folikül boyutu hızla azalır, kenarları düzensizleşir, internal eko derecesi artar ve cul-de sac da sıvı miktarı artar (19,20).

## **2.2) SERVİKAL FAKTÖR**

Serviksin ve servikal mukusun üreme sürecinde birçok rolü vardır. Ejakülattan spermleri yakalayarak diğer seminal proteinleri ayırır, anormal morfolojili spermleri infiltre eder (21), biyokimyasal olarak hazır hale getirir ve sperm için rezervuar görevi yapar.

Östrojen servikal mukus üretimini artırır, düzeyi artıkça mukusun miktarı ve akışkanlığı artarak sperm geçişine olanak sağlar (22). Progesteron ise servikal mukus üretimini azaltarak visköz yapıya gelmesine neden olur, böylece sperm geçişine engel olur. Ovulasyon döneminde servikal mukus miktarı artar, şeffaflaşır, uzama özelliği artar (Spinnbarkeit) ve kurduğunda eğreltiotu manzarası alır (Fering testi).

Servikal faktör kadın infertilitesinin %5' inden azını oluşturur. Sims-Hühner testi olarak da bilinen postkoital test, ilişkiden sonraki saatler içinde servikal mukusta motil sperm varlığını araştırmak için yapılan geleneksel bir metoddur. Ancak günümüzde test sonuçlarının fertilité kriterleriyle iyi bir korelasyon göstermemesi nedeniyle artık kullanılmamaktadır.

## **2.3) UTERİN FAKTÖR**

Uterin patolojiler, tedavi için başvuran infertil çiftlerin %15' inde infertilite nedenidir ve infertil çiftlerin yaklaşık %50'sinde uterin patolojiler saptanır (23,24).

IVF yapılan hastalarda, uterin kavite anomalisi olması durumunda daha düşük gebelik oranları elde edilir (25,26). Bu anomalilerin düzeltilmesiyle gebelik oranlarında düzelme olur (24).

İnfertilitenin araştırılması esnasında sık karşılaşılan uterin patolojiler arasında endometrial polipler, submükoz myomlar, intrauterin adezyonlar, müllerian anomaliler ve daha önce DES (diethylstilbestrol) maruziyeti yer alır.

Uterin kavitenin değerlendirilmesinde üç yöntemden faydalanılır. Bunlar histerosalpingografi (HSG), transvaginal ultrasonografi (TVUSG) veya sonohisterografi ve histeroskopidir.

- ❖ Histerosalpingografi (HSG): tubal patolojilerin değerlendirilmesinde %85 ile %100 sensitivitesi varken, uterin malformasyonların ve intrauterin adezyonların değerlendirilmesinde %44 ile %75 sensitiviteye sahiptir (27, 28, 29).
- ❖ TVUSG:
  - ✓ Uterusun boyutu, kontör ve pozisyonu
  - ✓ Endometriumun kalınlığı, yapısı ve siklus fazı ile uyumu, intrakaviter patolojilerin varlığı
  - ✓ Myomatöz yapı varlığı, yerleşimi ve boyutları
  - ✓ Overlerin volümü, siklus dönemine göre antral ve dominant folikül varlığı
  - ✓ Over içi ya da paraovaryan kistik-solid kitle varlığı değerlendirilebilir.

İnfertil hastalarda uterin malformasyonların tanısında sonohisterografi HSG' ye göre daha sensitiftir. Hastaların %90' ında anomalileri tespit edebilir (30).

- ❖ Histeroskopi: ofis histeroskopisi endometrial kavitenin değerlendirilmesinde sensitivitesi %100, spesifitesi %95 olarak bulunmuştur (31).

## ▪ Konjenital Uterus Anomalileri

Uterusun konjenital anomalileri , infertilite ve gebelik kayıpları ile ilişkili olabilir. Unikornuat, uterus didelfis veya uterin septum varlığında spontan abortus ve preterm doğum oranları %25-38 ve %25-47 olarak bulunmuştur (32).

Uterin septum haricindeki konjenital uterin anomalilerde cerrahinin yeri yoktur. Uterin septumlu hastalarda tekrarlayan gebelik kayıplarının olması durumunda cerrahi tedavi düşünülmelidir (33).

İn utero DES'e maruz kalmış kadınlarda konjenital uterin anomali riski, preterm doğum ve servikal yetmezlik riski artmıştır (34). Bu kadınların %70' inde HSG ile uterin malformasyonlar saptanmıştır (35). DES'e maruz kalmış infertil popülasyonda IVF oranları DES'e maruz kalmamış kadınlara göre daha düşük bulunmuştur (36).

## ▪ Edinilmiş Uterus Anomalileri

**Myoma uteri:**

Uterin myomlar infertilitenin direkt bir nedeni değildirler. Myomların fertilitiyi etkileme mekanizmaları, ovum ile sperm transportunu engellemesi, embriyo implantasyonuna engel olan uterin kontraktileteye sebep olması ve fokal endometrial değişikliklere neden olarak kan akımını azaltmasıdır (37). Gebelik ve implantasyon oranları submükoz myomlarda düşükken, endometrial kaviteye bası yapmayan ve orta düzeyde büyüklüğü olan (5-7 cm) intramural ve subseröz myomlarda normaldir (38, 39, 40).

**Endometrial Polipler:**

İnfertil kadınlarda asemptomatik endometrial polip oranı %10 ile %32 arasında değişmektedir (41,42). Ovulasyon indüksiyonu öncesi histeroskopik değerlendirme ve tedavinin yararı görülmüştür (24). Her ne kadar endometrial polibi olan hastalarla diğer hastalar arasında IVF sonrası gebelik oranları benzer olarak bulunmuşsa da, spontan gebelik kayıpları polipleri olan hasta grubunda daha yüksek bulunmuştur (43).

**İntrauterin Adezyonlar:**

İntrauterin adezyonlarda sık görülen semptomlar, menstrüel bozukluklar ve infertilitedir (44). Patofizyolojik mekanizması, travma sonrası endometriumun damarlanmasının ve fonksiyonunun bozulmasıdır. Histeroskopik rezeksiyon tercih edilen tedavi yöntemidir. Hafif ve orta derece adezyonların cerrahi tedavi sonrası gebelik oranları %80 civarındadır (45).

**Endometrial Fonksiyon Bozuklukları Ve Luteal Faz Defekti:**

Luteal faz defekti, endometriumdan yapılan iki histolojik incelemede siklus gününe göre iki günden daha fazla gecikme olarak tanımlanır (46). Luteal faz defekti, reseptif olmayan endometriumun bir nedeni olarak görülmektedir. Luteal faz defektinde endometriumda moleküler profilde değişiklikler oluşabilir, bu da blastokistin implantasyonunda endometrial reseptiviteyi kötü yönde etkiler. Endometrial reseptivitenin değerlendirilmesinde günümüzde artık moleküler markerler kullanılmaya başlanmıştır. İnfertil hastalarda luteal faz defekti için ampirik tedavi kullanılır ve amaç progesteron eksikliğini yerine koymaktır.

**2.4) TUBAL, PARATUBAL VE PERİTONEAL FAKTÖRLER**

Tubal ve peritoneal faktörler, kadın infertilitesinin %30-40'ından sorumludur. Tubal faktörler sıklıkla fallop tüplerinin hasarına veya obstrüksiyonuna yol açan PID, pelvik

yada tubal cerrahiyle ilişkilidir. Peritoneal faktörler PID, cerrahi veya endometriozise bağlı peritubal ve paraovaryan adezyonları içerir.

Tubal hasarı olan hastaların yaklaşık yarısında belirlenebilen bir risk faktörü saptanmayabilir (47). Bu kadınların büyük kısmı subklinik klamidyal enfeksiyon geçirmiş olabilirler. Bir kez PID geçirildikten sonra tubal nedenli infertilite insidansı %12 iken, iki kez PID geçirildikten sonra %23, üçüncü epizottan sonra bu oran %54'e çıkar (48).

İnfertil kadınlarda tubal yeterliliği değerlendirmek için HSG ve laparoskopiden faydalanılır. Laparoskopi tubal ve peritoneal faktörlerin saptanmasında mükemmel bir tekniktir. Bu yöntem pelvik organların direkt görüntülenmesini sağlar, peritubal ve paraovarian adezyonların ve endometriozisin saptanmasına yardımcı olur. Kromopertübyasyon ile tubal açıklık hakkında bilgi edinilebilir. Ayrıca laparoskopinin bir avantajı da tanı anında tedavi olanağı vermesidir.

## **2.5) İNFEKSİYÖZ FAKTÖRLER**

İnfeksiyöz nedenlerden özellikle klamidy ve mikoplazma dikkati çekmektedir. Klamidy sıklıkla asemptomatik enfeksiyona neden olur ve tubal hasar yapabilir. İnfertil hastalarda kontrol gruplarına göre klamidy kültürleri daha fazla pozitif olarak saptanır (49). Mikoplazma enfeksiyonu veya tedavisi ile fertilité sonuçları arasında daha kesin bir ilişki saptanıncaya kadar infertilitenin değerlendirilmesinde taranması şart değildir.

## **2.6) AÇIKLANAMAYAN İNFERTİLİTE**

Nedeni açıklanamayan infertilite tanısı, infertilite araştırmasında yapılan incelemelerin normal çıkması sonrası konulmaktadır (50). Tanı normal semen analizi, ovulasyonun objektif kanıtları, normal uterin kavite ve bilateral tubal açıklık olduğunda konur.

İnsidansı, infertil popülasyonda tanı kriterlerine bağlı olarak %10-30 arasında değişmektedir (51). Açıklanamayan infertilitesi olan tedavi edilmemiş çiftlerde siklus fekunditesi yaklaşık %3.8' dir (52).

Açıklanamayan infertilite tanısı olan kadınlarda tanısız laparoskopinin gerekliliği tartışmalıdır. Laparoskopi ile normal HSG bulguları olan kadınların %21-68 inde anormal bulgular saptanır (53). Sık saptanan anormal bulgular endometriozis (%43) ve peritubal adezyonlardır (53).

# ÜREME FİZYOLOJİSİ

Üreme fizyolojisini ve folikülogenezi gözden geçirmek gerekirse; üreme çağındaki bir kadında her ay overlerde bir grup primordial folikül uyarılmakta ve aralarından seçilen bir folikül mayoz bölünme sürecini başlatmaktadır. Primordial folikül döneminden matür oosit aşamasına dek sürecektir olan gelişme dönemi uzun bir süre teşkil eder. Bir siklus sırasında gelişen folikülün yaklaşık 60 gün içerisinde 1 mm' lik boyuta ulaştığı, takip edilen siklustan bir önceki luteal dönemde (2 hafta) 4-6 mm' lik boyuta, foliküler fazda da (2 hafta) 20 mm' lik boyuta ulaştığı düşünüldüğünde, foliküler gelişimin yaklaşık 3 aylık bir dönemi kapsadığı ortaya çıkar.

## FOLİKÜLOGENEZ

Foliküler gelişim, dinamik bir olaydır ve tüm fizyolojik koşullarda, çocukluk döneminden menapoza kadar devam eder, her yaşta foliküller büyür ve atreziye uğrar.

Gebeliğin 6-8 haftasında, hızlı mitotik çoğalma meydana gelerek, 16-20. haftalarda maksimum oosit sayısına (6-7 milyon) ulaşıldıktan sonra sayısı gittikçe azalır. En hızlı azalma doğumdan önce meydana gelir, 1-2 milyon değerine iner ve puberteye gelindiğinde total oosit sayısı 300.000' dir. Reprodüktif dönemde 500' den az sayıda folikül ovulasyona kadar ulaşabilecektir.

Sekizinci hafta civarında bazı primer oositlerin etrafı granuloza ve teka hücrelerinin prekürsörü olan iç biçimindeki yassı hücrelerle çevrilir. Mayotik profazın diploten döneminde bulunan primer oosit ve tek sıra granuloza hücrelerinin oluşturduğu bu yapı primordial folikül olarak adlandırılır. Çapı 30-60 mikrometre kadardır ve yapımı 20-25. haftalarda maksimum düzeydedir.

İntrauterin 5-6. aylarında granuloza hücrelerinin bir kısmı kübikleşerek çoğalır ve tabaka oluşturmaya başlar ve primer folikül haline gelir. Bu gelişim dönemi adaylığın ilk bulgusudur ve granuloza hücreleri dört tabaka olana kadar gonadotropin etkisine ihtiyaç duymaz. Biraz büyümüş ve etrafı zona pellusida ile çevrilmiş primer oositin etrafında, tabakalaşmış granuloza hücreleri ve stromadan farklılaşmış teka tabakasının bulunması ile oluşan yeni yapı preantral folikül olarak adlandırılır. Foliküle yakın olan teka hücreleri vasküler olup teka interna, onun dışında fibrosellüler olanlar ise teka eksterna adını alır. Gonadotropine bağımlı olan bu gelişme sınırlıdır, gonadotropin uyarısı olmazsa süratle atrezi ile sonuçlanır. FSH ve östrojen, folikülün FSH reseptör içeriğini artırır. FSH reseptörleri folikülün

büyümesiyle, granüloza hücrelerinin plazma membranında hemen ortaya çıkar ve kısa sürede çok yüksek konsantrasyonlara ulaşır.

Folikül gelişimi devam ederken, östrojen ve FSH' nın etkisiyle granüloza hücreleri arasındaki folikül sıvısının yapımı artar ve kavite oluşma eğilimi başlar, folikül içindeki oosit de gelişir ve bu yapı antral folikül adını alır. Preantral folikülün antral folikül haline gelmesinde gonadotropinler gereklidir. FSH' nın varlığında folikül sıvısındaki dominant madde östrojendir, FSH yokluğunda ise folikül sıvısında androjen hakimiyeti başlar. Normalde, midsiklusa kadar folikül sıvısında LH bulunmamaktadır. Plazma ve antral sıvıda LH' nın erken olarak yükselmesi durumunda granüloza hücrelerinde mitotik aktivite azalır ve dejeneratif değişiklikler başlar.

Foliküldeki steroid sentezi fonksiyonel olarak kompartmanlara ayrılmıştır. Teka ve granüloza hücrelerinin progestinleri, androjenleri ve östrojenleri üretebilme yeteneği olsa da, granüloza hücrelerinde aromataz aktivitesi teka hücrelerine göre fazladır, FSH reseptörleri sadece granüloza hücrelerinde, LH reseptörleri de sadece sadece teka hücrelerinde bulunur. Tekal interstisyel hücrelerin membranında 20.000 LH reseptörü yer almakta, LH uyarısı ile tekada androjen üretimi artmakta, FSH uyarımlı aromatzasyon ile androjenler granülozada östrojene dönüştürülebilmektedir. Androjenik mikroçevreden östrojenik mikroçevreye dönüşüm FSH ve artan östrojen etkisi ile oluşur ve gittikçe yükselen FSH duyarlılığına bağlıdır.

Ovulasyona gidecek folikülün gelişiminde başlıca üç dönem söz konusudur:

- ❖ **Recruitment:** Gelişmeye aday primer foliküllerin toplanmasıdır. Bu olay genellikle bir önceki siklusun sonu ve siklusun ilk dört gününde olur. Hangi foliküllerin gelişmeye başlayacağını seçim zamanı bilinmemekle beraber bir önceki siklusa korpus luteumun gerilemesinden sonraki günlerde başlaması muhtemeldir. Bu dönem gonadotropin uyarısına bağlı değildir.
- ❖ **Seleksiyon:** Dominant folikülün belirlenmesi siklusun 5-7. günlerinde olur. Recruitment döneminden sonra gonadotropin uyarısı altında dominans kazanacak folikül belirir, bu dönem seleksiyon adını alır. Seleksiyon döneminde gonadotropin miktarı ne kadar fazla ise seçilen folikül sayısı da o kadar fazladır. FSH granüloza hücrelerini uyarır, granüloza hücreleri tarafından sentezlenen estradiolün mitotik aktiviteyi uyarmasıyla folikül gelişimi başlar. Primer folikülde oosit 15 mikrometreden 100 mikrometreye, granüloza hücreleri de iki hücre tabakasına ulaşmıştır. Granüloza hücreleri genişlemeye devam eder ve hücreler özel gap junctionları ile fonksiyonel bir birim oluştururlar. Bu arada gelişen sekonder folikül etrafındaki teka hücreleri farklılaşmaya ve granüloza hücreleri de mukopolisakkarid salgılamaya başlar. Bu sıvı antral kaviteyi dolduran folikül sıvısıdır.



- ❖ **Dominans:** Ovulasyona aday folikülün belirlenmesi, 8-12. günde olur. Öne geçen folikül bazı metabolik üstünlüklere sahip olduğundan, gelişimine devam ederken diğer sekonder foliküller atreziye uğrarlar. Dominant folikül çapı yaklaşık 5 mm civarındadır ve LH pikinden birkaç gün önce 20 mm ye ulaşır, olgunlaşmış olan bu folikül ovulasyona aday olup Graaf folikülü adını alır.

**Dominant folikül seçimi:** Gelişen dominant folikülün göstergesi olan ovaryan östrojen yapımı siklusun 5. gününde ovaryan venöz kanda saptanabilir. Bu durum midfoliküler fazda FSH düzeylerinin aşamalı olarak azalması ile uyumludur, dominant folikülün çap artışına öncülük etmektedir. Bu siklusun kritik dönemidir, dominant folikülün seçiminden sonra verilen eksojen östrojen, FSH düzeylerini düşürerek preovulatuvar gelişmeyi durdurur ve atreziyi başlatır. Atrezi sürecine giren foliküller daha az sayıda olduklarından, bu dönemde oluşan dominant folikül kaybı, başka bir preantral folikül topluluğu ile başlamayı gerektirir. Bu seçim sürecinde östrojen, FSH sekresyonunu suprese eder ve dominant folikülden inhibin salgılanmasına neden olur. Bu durum gelişmekte olan diğer foliküllere inhibitör etki oluşturur.

Olgunlaşan folikülde östrojen, FSH' nın etkisini desteklediği halde, hipotalamik-hipofizer düzeyde FSH ile negatif feedback ilişkisinden dolayı, daha az gelişmiş foliküllere olan gonadotropin desteğinin çekilmesine yol açmaktadır. Azalan FSH desteği granüloza hücre proliferasyonunu ve fonksiyonunu kesintiye uğratacak, androjenik mikroçevreye dönüşümü hızlandıracak ve irreversible atretik değişiklikleri başlatacaktır. Atrezi sürecindeki ilk olay granüloza tabakasındaki FSH reseptörlerinin azalmasıdır. Seçilmiş olan folikül FSH' ya bağımlı olmaya devam ettiğinden, FSH' nın azalan plazma düzeyleri karşısında preovulatuvar gelişimini tamamlamalıdır. Dominant folikül, kendisinin ürettiği östrojenin neden olduğu FSH düşüşünün sonuçlarından kurtulmalıdır. Dominant folikülün avantajları; yüksek FSH reseptör içeriği ve yüksek intrafoliküler östrojen konsantrasyonu veya lokal otokrin/parakrin peptidler ile ortaya çıkan FSH etki artışıdır. Dominant folikülün ovulatuvar pike yanıt verebilmesi için reseptörlerinin artması gerekmektedir. FSH büyük antral foliküllerin granüloza hücrelerindeki LH reseptörlerinin gelişimini artırmaktadır. Burada östrojen veya lokal otokrin/parakrin peptidler koordinatör rolü üstlenir. Folikül ve korpus luteumdaki fonksiyonel regülasyonda, bazı düzenleyici proteinlerin rolü gösterilmiştir. FGF, EGF, TGF, IGF-1,IGF-2, AMH, inhibin, aktivin, follistatin, interleukin-1 sistemi sayılabilir.

**Preovulatuvar folikül:** Foliküldeki granüloza hücreleri büyüyerek içinde lipid inklüzyonları oluşur, bu arada teka hücrelerinde vakuoller ortaya çıkar ve vaskülarizasyonda artış olur. Oositte mayoz yeniden başlar ve redüksiyon bölünmesini tamamlamaya yönelir.

Geç foliküler fazda östrojenler önce yavaş sonra hızlı bir artış gösterir ve ovulasyondan 24-36 saat önce pik yapar ve LH' da ani artış başlar. LH dominant foliküldeki lüteinizasyonu hızlandırır ve granüloza hücrelerinde progesteron üretimi başlar. Preovulatuvar progesteron ve progesteron reseptör etkinliği, doğrudan granüloza hücrelerinin mitozunu inhibe eder, böylece LH reseptörleri gelişince granüloza hücrelerinin proliferasyonu sınırlandırılmaktadır. LH reseptörü, ortaya çıktıktan sonra hücrenin büyümesini baskılamakta ve enerjisini steroidogeneze odaklamaktadır. Ayrıca midsiklusta progesteron, FSH' nın ani artışından da sorumludur.

**Ovulatuvar folikül:** LH piki LH eğrisi içinde bir dönemdir, LH eğrisinin ortalama süresi 48-50 saattir, bu sürenin ilk 14 saati çıkış, 14 saati plato (pik) ve 20 saati iniş olarak kabul edilir. Ovulasyon, LH pikinden yaklaşık 10-12 saat sonra ve östradiol pik düzeyine ulaştıktan 24-36 saat sonra gerçekleşmektedir. LH' nun ani artışının başlangıcı, yaklaşan ovulasyonun en güvenilir endikatörü olarak görülmekte ve folikülün rüptüründen 34-36 saat önce ortaya çıkmaktadır. Oositin olgunlaşması için belli bir LH konsantrasyonunun 14-27 saat süre ile sağlanması gerekmektedir.

LH' nın ani artışı, oositteki mayozun yeniden başlamasını, granüloza hücrelerinin lüteinizasyonunu, kümülüsünün büyümesini ve folikül rüptürü için gerekli olan prostaglandinler ve diğer eikozanoidlerin sentezini sağlamaktadır.

Progesteron, prostoglandinlerle beraber folikül duvarının sindirim ve rüptüründen sorumlu proteolitik enzimlerin aktivitesini artırır. Granüloza hücrelerinden üretilen plazminojen aktivatörleri, folikül sıvısındaki plazminojeni aktive ederek plazmine dönüştürmekte, plazmin aktif kollejenaz oluşturarak folikül duvarını yıkıma götürmektedir. Prostaglandinler ayrıca overde düz kas hücrelerinin kontraksiyonuna yol açarak oosit-kümülüs hücre kitlesinin dışarı atılmasına katkıda bulunur.

LH eğrisi ile fetal dönemde başlayan birinci mayoz bölünme tamamlanır ve birinci polar cisim atılır ve ikinci metafaza girer. Oosit bu fazda fertilizasyona kadar kalır. Sperm ile fertilizasyon gerçekleştiği takdirde oosit ikinci mayoz bölünmesini tamamlar ve haploid ovum ile ikinci polar cisim oluşur. Fetal dönemde başlayan bölünme, fertilizasyon ile tamamlanır.

## OVER REZERVİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

İnfertiliteye yönelik tedavi şeklinin belirlenmesi ve seçilecek tedaviyle elde edilecek başarı, gamet hücrelerinin elde edileceği over ve testisin tam olarak değerlendirilmesine bağlıdır. Erkeklerde yeterli bir spermiyogram incelemesi ile çoğu zaman bu bilgiyi elde etmek mümkündür. Kadında ise eksojen hormonlarla yapılan uyarıya overlerin vereceği cevabın önceden belirlenmesi, over rezervinin uygun şekilde değerlendirilmesi ile mümkündür.

Over rezervi, overlerdeki primordial folikül sayısı ve oosit kalitesi ile belirlenen üreme potansiyelini tanımlar. Over rezervinin bilinmesi uygulanacak tedavinin seçiminde önemli bir rol oynar.

Over rezervini; obezite, sigara, geçirilmiş over cerrahisi, şiddetli endometriozis, adezyon ve frozen pelvis gibi anatomik bozukluklara yol açan nedenler, latent veya prematür ovarian yetmezlik, geçirilmiş kemoterapi veya radyoterapi olumsuz yönde etkiler.

Kadının kronolojik yaşı hem spontan sikluslarda hem de yardımcı üreme tekniklerinde gebe kalma şansını etkiler. Kadın yaşının artması ile fertilité azalmakta, özellikle 35 yaşından itibaren oosit sayı ve kalitesinde azalma olduğu bilinmektedir. Yaşın ilerlemesi ile oositlerde perivitellin debri, ince zona pellusida ve genişlemiş perivitellin aralık gibi morfolojik değişiklikler gözlenmektedir. İleri yaştaki kadınların (35-45 yaş) oositleri ile gerçekleştirilen IVF ve ICSI uygulamalarında elde edilen embriyolarda daha yüksek oranda anöploidî görülür.

Over rezervinin azalması ile beraber oosit kalitesinde bozulma, sitoplazmik ve kromozomal değişiklikler tedavi sonuçlarını olumsuz yönde etkilemektedir.

Over rezervinin bilinmesi tedavinin seçiminde önemli bir rol oynamaktadır. Over rezervi kısıtlı olan ve özellikle daha uzun infertilite süresine sahip bir olguda bilinen tedaviler ile başarı şansının düşük olabileceği göz önüne alınarak zaman kaybetmeden, over rezervinin mümkün olduğunca iyi bir şekilde değerlendirilmesi ve yardımcı üreme tekniklerinin uygulanması önerilmektedir.

### Over Rezervinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Testler:

#### Endokrin Testler

- Bazal FSH, LH, E<sub>2</sub>, Progesteron
- Bazal FSH/LH, bazal inhibin B

- Bazal AMH: Anti-Müllerian Hormon

### **Dinamik Endokrin Testler**

- Klomifen sitrat challenge testi (CCCT)
- GnRH-A stimulasyon testi (GAST)
- Ekzojen FSH ovarian rezerv testi (EFORT)

### **Ultrasonografik Testler**

- Ovarian volüm tespiti
- Antral folikül sayısı
- Stromal kan akımı

### **İnvaziv Testler**

- Laparoskopik over biyopsisi

## **1)Bazal FSH Düzeyi:**

Overlerden folikül gelişimini uyararak FSH' nın kan düzeyi, over cevabı azaldıkça daha fazla uyarıda bulunmak için giderek yükselecektir. Bu dönemin öncesinde folikül gelişiminin bozulduğu, kısa foliküler faz ve düzensiz ovulasyonlara bağlı menstruel düzensizlikler görülür. FSH' nın erken proliferatif dönemdeki seviyesi ile ovarian cevap arasında (siklus iptal oranı, elde edilecek oosit oranı) korelasyon izlenir. FSH değerleri yüksek olan olgularda oosit kalitesinin de (morfolojik ve genetik) olumsuz etkilendiği düşünülmektedir.

FSH erken proliferatif dönemde yani menstruel siklusun 2. veya 3. günlerinde değerlendirilmelidir. 3. gün FSH değeri 10 IU/l ve üzerinde saptanan olgularda overin indüksiyon veya kontrollü ovarian hiperstimülasyona verdiği cevabın zayıf olduğu bilinmektedir.

FSH değerlerinin sikluslar arasında dalgalanmalar gösterdiği ve böylece tek bir FSH ölçümünün değerlendirmedeki yetersizliği bilinmektedir. FSH' nın en az bir kez yüksek olarak saptanmasının, kötü over rezervi yönünden anlamlı olduğu gösterilmiştir.

## **2)Bazal Estradiol Düzeyi:**

Menstruasyonun 2. veya 3. gününde değerlendirilen E<sub>2</sub>' nin yüksek olması over rezervinin kısıtlı olması yönünden uyarıcıdır. Ancak, FSH' dan daha iyi bir belirleyici değildir. E<sub>2</sub> düzeyi, FSH düzeyi ile birlikte değerlendirildiğinde anlamlı olabilir. 3. gün incelemelerinde yüksek E<sub>2</sub> değerleri FSH üzerinde negatif feedback etki yoluyla FSH'

nın daha düşük saptanmasına yol açar. Ovulasyon indüksiyonu ve kontrollü ovarian hiperstimülasyon takibinde de E<sub>2</sub> over rezervi açısından yol gösterici olmaktadır. Kontrollü ovarian hiperstimülasyon sürecinde hCG günü E<sub>2</sub> değerinin 800 pg/ ml' nin altında olması 'zayıf cevap' olarak adlandırılmaktadır.

### **3)Progesteron Düzeyi:**

Over rezervindeki azalma genellikle kısa foliküler faz, erken LH yükselmesi ve progesteron düzeylerinde erken dönemde yükselme ile seyretmektedir. Bu durum progesteronun over rezervinin araştırılmasında kullanılabileceğini düşündürmüştür de, yaş ile menstruasyonun farklı dönemlerindeki progesteron değerleri veya değerler ile gebelik sonuçları arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

### **4)İnhibin-B Düzeyi:**

İnhibinler, inhibin A ve inhibin B subünitelerinden oluşan heterodimerik glikoproteinlerdir. İnhibin B overlerde küçük preovulatuvar foliküllerin granüloza hücrelerinden, inhibin A korpus luteum tarafından salgılanan luteal faz polipeptitidir. İnhibin B, FSH salınımını inhibe eder. İlerleyen yaş ve azalan over rezervi ile paralel olarak inhibin B seviyesi azalır ve bu azalma FSH değerindeki artıştan önce olur. FSH değerlerinin inhibin B değerleri kombine edilmesi over rezervinin daha güvenilir şekilde değerlendirilmesine olanak sağlar.

### **5)Anti-Müllerian Hormon:**

Transforming growth faktör  $\beta$  ailesinin bir üyesidir (54). 72 kDa ağırlığında, disülfid bağlarıyla bağlanmış iki monomerden oluşur (55). Dimerik glikoprotein yapısındadır, doku büyümesi ve farklılaşmasında etkilidirler (56). Erkek testiste sertoli hücrelerinde yapılır. Erkek fetusun gelişiminde Müllerian kanalların gerilemesini ve normal erkek üreme sisteminin gelişmesini sağlar (57). Kadında serum AMH düzeyleri erkeğe göre daha düşüktür. Puberte sonrası menstrüel siklus başladığında, sirkülasyondaki AMH düzeyi giderek azalır ve menapozda tespit edilemez.

Overlerde preantral ve küçük antral foliküllerin granüloza hücrelerince salgılanır. Overyan aktivite üzerine düzenleyici etkisi vardır (58). Bir yandan primordial foliküllerde adaylığı önlerken diğer yandan bu foliküllerin FSH' ya duyarlılıklarını azaltır. FSH, E<sub>2</sub> ve inhibin B' den farklı olarak menstruel siklus süresince sabit bir biçimde salınır. Erken folikül gelişimde rol alır ve değerleri yaş, antral folikül sayısı ve

yardımcı üreme teknikleri sonuçları ile uyumludur. Azalmış over rezervinde serum AMH değerleri daha düşük olarak saptanır.

Serum AMH düzeyleri ve antral folikül sayısının birlikte değerlendirilmesinin sadece yardımcı üreme teknikleri öncesinde değil; yüksek riskli grupta yer alan kadınlarda ( ailevi erken menapoz, geçirilmiş over cerrahisi, ağır endometriozis, uzun süreli ve yüksek doz sigara tüketimi gibi) bir tarama testi olarak kullanılabilir.

## **6)Klomifen Sitrat Challenge Test:**

Bu test kapsamında menstruasyonun 3. günü FSH ve E<sub>2</sub> ölçümü yapılır. Takiben 5. ve 9. günleri arasında 100 mg/ gün klomifen sitrat uygulanır. FSH ve E<sub>2</sub> ölçümü 10. günde tekrarlanarak, sonuçlar 2. veya 3. gündeki bazal değerlerle kıyaslanır. Klomifen sitrat uyarısı ile folikül gelişiminin uyarılması, buna bağlı olarak foliküllerden E<sub>2</sub> salgılanması ve artan E<sub>2</sub>' nin ise FSH' yı baskılaması beklenir. 10. günde FSH' nın bazal değerlere göre artmış olması veya E<sub>2</sub> değerlerinde anlamlı bir yükselme olmaması olumsuz bir sonuç olarak değerlendirilir. 35 yaş üstündeki kadınlarda anormal yanıt sıklığı yüksektir.

## **7)GnRH Analöğü Stimülasyon Testi (GAST):**

Gonadotropin salgılatıcı hormon agonistleri uygulamanın ilk 4-6 günleri arasında FSH ve LH artışına, buna bağlı olarak da E<sub>2</sub> artışına neden olur. Bu durum 'flare etki' (alevlendirici etki) olarak adlandırılır. Testte siklusun 2. veya 3.günü GnRH analöğü uygulamasını takiben gözlenen E<sub>2</sub> değişiklikleri değerlendirilir.

Uygulamadaki zorluk ve pahalı bir test olması nedeniyle pratik kullanımda yer almamıştır.

## **8)Ekzojen FSH Ovarian Rezerv Testi (EFORT):**

Siklusun 3. günü 300 IU FSH uygulanmasından 24 saat sonra estradiol ve inhibin B seviyelerindeki değişikliğin ölçümüne dayanır. Düşük veya gecikmiş cevap; azalmış over rezervi ve yardımcı üreme tekniklerinde kötü prognoz belirtisidir.

## **9)Transvaginal Ultrasonografi:**

Overlerin ultrasonografideki görünümü ile indüksiyona verdikleri cevap arasında bağlantı olduğu gösterilmiştir. Bu gözlem doğrultusunda over hacmi ve over içerisinde yer alan antral foliküllerin sayısı üzerinde durulmuştur.

## TEDAVİ

Ovulasyon indüksiyonu terimi anovulatuvar siklusları olan kadınlarda folikül gelişiminin çeşitli ajanlar yardımı ile uyarılması ve ovulasyonun sağlanması anlamına gelmektedir. Buna karşın günümüzde ovulasyonu olan kadınlarda da folikül gelişiminin yönlendirilmesi, ovulasyonun zamanlanması yada gametlerin buluşma olasılığının artırılabilmesi, bir yerine birkaç folikül gelişiminin sağlanması için de kullanılmaktadır. Ovulasyon indüksiyonunda amaç bir ya da bazen birkaç folikülün gelişiminin sağlanması iken, kontrollü ovarian hiperstimülasyonda ise overlerden çok sayıda ve iyi kalitede oosit elde edilmesi amaçlanmaktadır. Yardımcı üreme tekniklerinde tedavi başarısı, elde edilen iyi kalitede oositlerin sayısı ile değişmektedir. Uni-bifoliküler gelişim nispeten düşük dozlarda ilaç kullanımı ile sağlanabilmekte iken, kontrollü ovarian hiperstimülasyon için daha yüksek dozlarda ilaç kullanımı gerekmektedir.

Kontrollü ovarian hiperstimülasyon için başlangıç gonadotropin dozunun ayarlanmasında kadının yaşı, bazal FSH, E2, inhibin B değerleri, vücut kitle indeksi, geçirilmiş over cerrahisi öyküsünün varlığı ve önceki ovulasyon indüksiyonu veya kontrollü ovarian hiperstimülasyona cevabı önemlidir.

İnfertilite problemlerini çözmek için, oositin ve spermin in vitro şartlarda bir araya getirilmesi sonucu oluşan embriyonun transferi son zamanlarda gelişen bir yöntemdir. Günümüze kadar in vitro fertilizasyon (IVF), gamet intrafallopian transferi(GIFT), zigot intrafallopian transferi(ZIFT), intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI), cerrahi yolla sperm elde etme teknikleri (TESA, TESE, PESA vb.), spermatid enjeksiyonu (ELSI, ROSİ), in vitro oosit ve sperm maturasyonu, ooplazma ve nükleus transferi, preimplantasyon genetik tanı (PGT) gibi farklı teknikler geliştirilmiştir. Bir yardımla üreme tekniğinde, temel olarak

- ✓ Gonadotropinler ile kontrollü ovarian hiperstimülasyon
- ✓ Prematür LH artışının önlenmesi ve ovulasyon
- ✓ hCG ile oosit matürasyonu
- ✓ Oosit toplanması
- ✓ IVF veya ICSI ile fertilizasyon
- ✓ İn vitro embriyo kültürü
- ✓ Progesteron ile luteal desteğin sağlanması aşamalarını içerir.

# TEDAVİ SEÇENEKLERİ

## 1)Doğal siklus

Doğal siklusa bırakılan IVF' llerde siklus iptal oranları yüksektir (%25-%75) (59, 60, 61, 62). Oosit toplanması ve fertilizasyon başarılı olsa bile doğal siklularda sadece bir olgun oosit ve embriyo elde edilir. Doğal IVF siklusu over uyarımına zaten düşük cevap veren hastalar için (1-2 folikül) veya uyarımın medikal sebeplerden dolayı sakıncalı olabileceği durumlarda düşünülebilir.

## 2)Klomifen sitrat

Klomifen bir nonsteroidal trifeniletillen yapısında olup, östrojen agonisti ve antagonisti etkileri vardır. Östrojene olan yapısal benzerliği sebebiyle üreme sisteminde mevcut olan östrojen reseptörlerine bağlanır. Ancak östrojenden farklı olarak reseptöre uzun süre bağlı kalır ve reseptör dönüşümünü azaltarak ortamdaki reseptör sayısını azaltır(63). Hipotalamik seviyede östrojen reseptörlerinin azalması seviyelerinin tam olarak yorumlanmasını engellemektedir. Negatif östrojen geri dönüşümü normal kompansatuar mekanizmaları tetikler. Bu da GnRH salgılanma paterninde değişime neden olur, hipofizer gonadotropin salınımını artırır ve sonuçta overlerde foliküler gelişimini indükler. Hipogonadotropik hipogonadizmi olan (WHO grup I) hastalarda kullanılmaz.

Menstrüel siklusun üçüncü günü 100 mg/ günlük dozunda 5-8 gün boyunca uygulanır. Normal ovulatuar siklusları olan kadınlarda iki veya daha fazla folikül gelişir(64, 65, 66). Klomifen tedavisi ile %80 oranında ovulasyon sağlanabilir(67). Altı ile dokuz siklus tedavi sonrası %70-75 oranında gebelik elde edilir(68).

Açıklanamayan infertilitesi olan ovulatuar kadınlarda klomifen ile süperovulasyon sağlanır. Bu hasta grubunda intrauterin inseminasyon (IUI) ile beraber uygulandığında fertilite sonuçlarını iyileştirir. Açıklanamayan infertilite olgularında klomifen ile IUI uygulandığında siklus başına fekundabilite %8'dir. Klomifen tedavisine cevap veren anovulatuar ve infertil kadınlar arasında toplam fekundabilite oranı ise yaklaşık %15' tir.

## 3)Klomifen ve eksojen gonadotropinler ile ardışık tedavi

Beş gün 100mg/ gün dozunda klomifen sitrat tedavisine ek olarak düşük doz gonadotropin başlanır. Her ne kadar transfer ve kriyoprezervasyon için uzun protokole oranla daha az oosit ve embriyo elde edilse de, gebelik oranları az değildir



ve OHSS riski daha azdır. Tedaviye GnRH antagonisti eklenmesi erken LH salınım riskini azaltır (69,70,71).

#### **4)Gonadotropinler**

Gonadotropinler ile ovarian folikül gelişimi veya ovulasyon indüksiyonu sağlanabilir. Temel olarak;

- ✓ Anovulatuvar metformin ve klomifen tedavisine rezistan PCOS' lu hastalarda
- ✓ Hipotalamik hipogonadizmi olanlarda
- ✓ Açıklanamayan infertilite hastalarında IUI ile birlikte superovulasyon veya kontrollü ovarian hiperstimulasyonda
- ✓ IVF ve ICSI yapılacak hastalarda kontrollü ovarian hiperstimülasyonda kullanılır.

Endikasyonuna bakılmaksızın, ovulasyon indüksiyonu veya kontrollü ovarian hiperstimülasyon için kullanılan tedavi rejimleri benzerdir. Bütün tedavi rejimlerinde folikül gelişiminin TVUSG ile izlenmesi ve serum E2 seviyelerinin yakın takibini gerektirir. Bu şekildeki monitorizasyon ile gonadotropin doz değişikliği, hCG uygulanma zamanı belirlenebilir ve OHSS ve çoğul gebelikler gibi komplikasyonlar önlenir. Hastanın yaşı, over rezervi ve infertilite nedeni gonadotropin tedavisine başlama dozu, gelişebilecek folikül sayısı ve siklus süresi hakkında bilgi verebilir.

Klomifene dirençli anovulatuvar hastalarda eksojen gonadotropinler ile %90 vakada ovulasyon sağlanabilir. Hipogonadotropik hipogonadizmi olan kadınlarda siklus fekunditesi normal ovulatuvar kadınlarla aynı veya biraz fazla olacak şekilde %25 iken, altı aydaki toplam gebelik oranları %90' lara yükselmektedir. Klomifene dirençli vakalarda siklus fekunditesi %5-15 arasında değişir, toplam gebelik oranı %30-60 civarındadır. Hiperandrojenik olanlarda prognoz en kötüdür (72, 73, 74, 75, 76).

#### **5)Uzun etkili GnRH agonistleri ile yapılan down regülasyon sonrasında eksojen gonadotropinlerle uyarım-uzun (long) protokol**

Kontrollü ovarian hiperstimülasyon ile ideal folikül gelişimi, bir önceki siklusun midluteal döneminde başlanan GnRH analogu ile overlerin baskılanmasını takiben gonadotropin uyarısı ile sağlanmaktadır. Bu tedavi protokolü ile senkron-uniform tarzda folikül gelişimi sağlanırken, LH' nun erken ve kontrolsüz yükselmesi önlenmektedir. Endojen FSH ve LH, GnRH analogunun etkisi ile baskılandığından, folikül gelişimi eksojen gonadotropin preparatlarının yardımı ile sağlanmaktadır.

Uzun protokolde, GnRH agonist tedavisine midluteal aşamada, ovulasyondan yaklaşık bir hafta sonra başlanır. Bu dönemde endojen gonadotropin seviyeleri düşüktür ve agonistlerin sahip oldukları alev (flare) etkileri yeni bir foliküler gelişimi

uyarmak için en düşük seviyededir(77, 78). Baskılama sonrası oluşacak kanamanın 3. günü gonadotropinlere geçilir. USG incelemesi ile 10 mm den büyük folikül olmaması, E<sub>2</sub> nin 50 pg/ ml altında olması ve LH nun 5 mIU/ ml den az olması down regülasyonun tanımlanması için yeterlidir.

Uzun protokolün bir avantajı, GnRH analogunun kullanım süresinin uzatılabilmesi sayesinde tedavinin istenilen şekilde programlanabilmesidir. Dezavantajı ise, endojen gonadotropinlerin baskılanması nedeni ile folikül gelişimini sağlamak için gerekli olan gonadotropin dozunun artmasıdır.

Uzun protokolde analogun etkisi ile down regülasyonun gerçekleşip, gonadotropinler ile indüksiyona siklusun 3. günü başlanır. Başlangıç dozu olarak belirlenen gonadotropinlerin etkisinin ilk değerlendirmesi iki veya üç gün sonra yapılır. Altıncı günde bakılan E<sub>2</sub> değerinin 100 pg/ ml altında olması başlangıç dozunun yetersiz olduğunu ve FSH eşiğinin uzun sürede aşılabileceğini veya kohorttan beklenenden az sayıda folikül seçileceğini gösterir. Altıncı gün bakılan E<sub>2</sub> değerinin 300-400 pg/ ml ve daha yukarısında olması ise başlanan dozun yüksek olduğunu veya olgunun hiperstimülasyon riski yüksek PCO özelliğini taşıdığını düşündürür. Normal sınırlar içinde ilerleyen bir siklusa, geç foliküler fazda E<sub>2</sub> nin bir gün önceki değerine oranla %50 civarında artması, foliküllerin ise 1-3 mm/gün civarında büyümeleri beklenir. Yapılacak olan doz ayarlamaları ile E<sub>2</sub> artışları bu sınırlar arasında tutulmaya çalışılır. Tedavi esnasında foliküller yeterli büyüklüğe ulaşmadan yüksek E<sub>2</sub> değerlerine ulaşıldığı takdirde, OHSS riskinden korunmak amacı ile uygulanabilecek yöntemlerden biri siklusu coasta bırakmaktır. Analoga devam edildiği halde gonadotropin verilmeden geçirilen günler süresince foliküllerde büyüme devam eder ve E<sub>2</sub> seviyeleri (<3000 pg/ml) daha güvenli düzeye iner. E<sub>2</sub> emniyetli bir değere indikten sonra hCG verilerek oosit toplama işlemine geçilebilir.

Coast uygulaması OHSS riskini belirgin şekilde engellemektedir ancak coast süresinin uzaması halinde atreziye giden folikül sayısı artacağından, hastadan elde edilen oosit sayısı oldukça kısıtlı olabilir.

#### **6)GnRH antagonist uygulanması**

GnRH antagonisti kullanımı, yardımla üreme tekniği uygulanacak hastalar için daha kolay ve kısa tedavi rejimlerini ortaya çıkarmıştır. Antagonist kullanımında, endojen LH salınımını baskılamak için analoglardaki gibi uzun süreli kullanıma gerek yoktur. GnRH reseptör blokajı ile kısa sürede (24 saat) baskılama başlamaktadır. Agonistlerle tedavi edilen kadınlarda ortaya çıkabilecek östrojen eksikliği belirtileri ise

daha azdır, çünkü östrojen seviyeleri artmıştır(79). Agonistlerin eksojen gonadotropin uyarısına verilecek cevabı azaltma ihtimalini ortadan kaldırdığı için kullanılan indüksiyon daha düşük olabilecektir (79, 80). Agonistlerin flare etkisi ortadan kalktığı için GnRH antagonistler ile folikül kisti oluşma riski daha azdır ve OHSS agonist kullananlara göre daha az görülür (81, 82).

Tedaviye genellikle gonadotropin tedavisi başladıktan beş ile altı gün sonra başlanır (83, 84,85) veya verilen cevaba göre değiştirilir. En büyük folikül 13-14 mm çapına ulaştığında verilir ve hCG gününe kadar devam edilir.

GnRH analog ve antagonist protokollerinde gebelik oranları yaklaşık olarak aynıdır (80, 86, 87, 88).

### **7)Bir GnRH agonisti ve eksojen gonadotropinlerle ardışık olarak yapılan kısa veya flare protokoller**

Bu protokoller hem uzun dönemli bir GnRH agonistinin ilk başta ortaya koyduğu agonistik etkisini hem de daha uzun tedavi döneminde uyarılan endojen gonadotropin salgısındaki baskılamayı sağlaması açısından uygun alternatif yöntemlerdir (89,90).

Adetin 2-4. günü löprolid asetat (1 mg/gün) verilir ve sonra dozu (günlük 0.5 mg) azaltılır. Gonadotropin enjeksiyonu adetin 3. günü başlanır (150-450 IU).

Sıradan flare protokolü genellikle foliküler cevabı iyileştirir ve kötü yanıt verenlerde siklus iptali sıklığını azaltır, ancak gebelik ve canlı doğum oranları nisbeten düşük kalır (91,92). Bu tedavi aynı zamanda artmış serum progesteron ve androjen düzeylerinde ilişkilidir.

Ultra kısa GnRH agonist protokolü kısa protokolün bir varyasyonudur. Bu prokolde flare etkiyi stimule etmek için agonist tedavi üç gün verilir ve sonra kesilir. Bu protokol kısa ve uzun protokollere göre daha düşük başarı oranına sahiptir ve nadiren uygulanır (93, 94).

Oral kontraseptiflerle verilen mikrod doz GnRH agonist flare protokolü kısa protokolün bir çeşididir. 14-21 günlük oral kontraseptif ile ovarian baskılamayı takiben, üçüncü günden itibaren mikrod doz löprolid tedavisi başlanır.(günde iki kez 40 mikrogram) Daha sonra gonadotropin doz ayarlamaları ve hCG zamanlaması diğer prokollerle aynıdır.

Oral kontraseptif-mikrod doz GnRH agonist flare protokolü serum FSH seviyeleri dramatik olarak yükselmiş ve daha önce kötü cevap verdiği bilinen kadınlarda kısmen

değerli olup daha düşük siklus iptali oranına, daha yüksek tepe östradiol seviyeleri ile transfer oranlarına ve en önemlisi daha cesaretlendirici gebelik oranlarına sebep olacaktır.

## **İNDÜKSİYON SÜRESİ**

Yardımcı üreme tekniklerinde FSH indüksiyonuna başlanan günden hCG gününe kadar geçen süre 10 ila 12 gündür. Kohortun 10 günden daha kısa veya 12 günden uzun olduğu olgularda ya doz ayarlaması doğru yapılamamıştır ya da olgular kötü gebelik yanıtı yönünden uyarılmalıdır.

## **OOSİTLERİN FİNAL MATURASYONUNUN TETİKLENMESİ**

Klasik olarak önden gelen foliküllerin 18-19 mm boyutlarına ulaştığı dönemde hCG uygulaması ile matür oositler elde edileceği kabul edilir. 10 000 IU intamüsküler veya 250 mikrogram rekombinant hCG subkutan verilir. Öncü olarak gelişen matür foliküller ile arkadan gelen intermediate foliküller arasındaki ölçüm farkı büyükse, üç veya dört tane matür oosit yanı sıra çok sayıda immatür oosit elde edilebilir. Bu nedenle gelişen foliküllerin mümkün olduğunca yakın büyüklükte ve senkronize olup olmadığına dikkat edilmelidir. Gerekirse, erken gelişen ve arkadaki asıl büyük gruptan kopan birkaç folikülün, ilerlemesine izin verilerek, ikinci grubun olgunlaşması beklenerek hCG verilebilir. Folikül büyüklüğünün yanı sıra hCG günü E<sub>2</sub> değeri de gelecek oositlerin matüritesi hakkında bilgi verebilir. Düşük E<sub>2</sub> değerlerinde sadece matür ve matüre yakın ölçülerdeki öncü foliküllerden olgun oosit elde edilirken, yüksek E<sub>2</sub> değerlerinde olgun oosit elde edilen folikül boyutlarının 12 mm'ye kadar indiği görülmektedir.

Olgun folikül ölçüsünde olup olmadığına bakılmaksızın, OPU esnasında görülen her boyuttaki folikül aspire edilmelidir. Bu uygulama elde edilecek matür oosit sayısını artıracığı gibi, OHSS' den korunmada da fayda sağlayabilir.

## **OOSİT TOPLANMASI**

hCG uygulanmasından 35-39 saat sonra oosit pick-up (OPU) yapılabilir. İşlem öncesi steril salin ile hazırlık yapılır. TVUSG eşliğinde 16-17 numara iğne ile üst vaginal duvar geçilir, foliküler sıvı aspire edilerek kültür tüplerine alınır. İşleme tüm foliküller aspire edilmeye kadar devam edilir. İşlem öncesi antibiyotik profilaksisi önerilir.

OPU ertesi ikinci günde E<sub>2</sub> değerinin 1000 pg' ın üzerinde olması OHSS riskinin yüksek olduğunun bir göstergesidir. hCG günü E<sub>2</sub> değerleri 3000 pg/ ml' nin üzerinde olan hastalarda OHSS yönünden takip gereklidir.

Yeterli sayıda oosit kavramı değişkendir. Optimal matür oosit sayısı 10-12 civarında olmalıdır. Tedavisi gerçekleştirilen olgulardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda, bir olgudan en az 5 adet matür oosit elde edilmesi amaçlanmaktadır.

Nadiren 'boş folikül sendromu' olarak adlandırılan ve hCG verilmesini takiben OPU'da aspirasyon ve yıkamaya rağmen oosit elde edilememesi durumunda OPU işleminin durdurularak tekrar hCG uygulamasını takiben 34-36 saat sonra OPU'nun tekrarlanması önerilmektedir. Ancak bu durumda endometrium gün uyumu değişebileceğinden embriyoların dondurulması ve sonraki sikluslarda kullanımı uygun olacaktır.

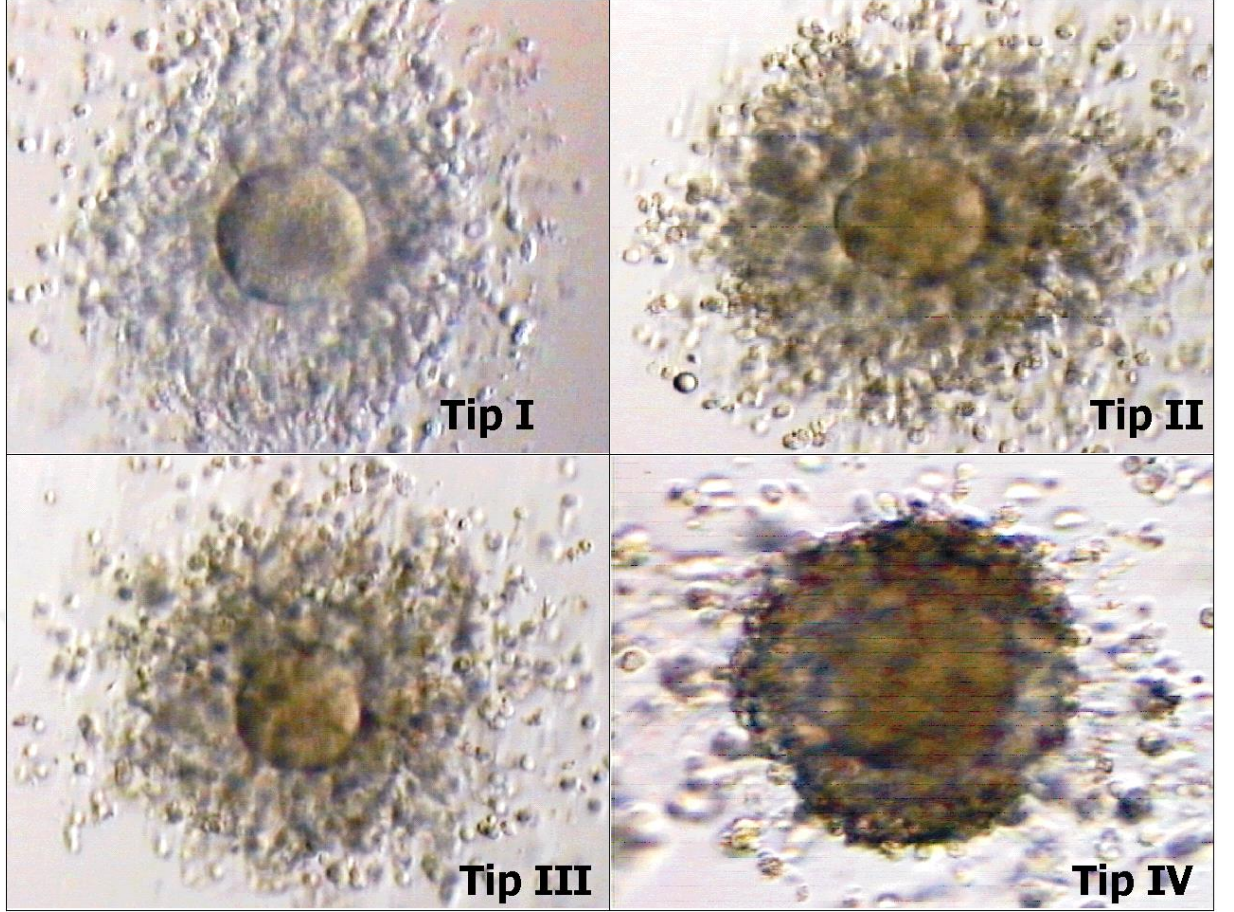
İleri yaş grubu hastalar için de oosit sayısı ve kalitesi büyük önem taşımaktadır. Günümüzde bu hasta grubu için, ileri yaşın getirdiği, embriyolarda artmış anöploidi riskinin tanımlanması ve kromozomal olarak normal olduğu saptanan embriyoların transfer edilerek sağlıklı gebelik elde edilmesi amacı ile preimplantasyon genetik tanı (PGT) gerçekleştirilmektedir.

### **OOSİT-KÜMÜLÜS KOMPLEKSİ MATURASYONUNUN DEğERLENDİRİLMESİ**

İşlemler bittiğinde oosit maturasyonu değerlendirilir. Oosit maturasyonu mutlaka inverted mikroskop altında yapılmalıdır. Bu aşamada maturasyon değerlendirmesi kesin olmayabilir ancak genel görünüm hakkında fikir sahibi olmak ve inseminasyon zamanını belirlemek açısından önemlidir. Maturasyon değerlendirmesi oositin çevresini saran korona/kümülus kompleksinin radial yayılımına göre yapılır.

#### **BELİRGİN ÖZELLİKLER**

|   |                                                                                                                                                                         |
|---|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | Kümülus yapısı çokça ve dolgun bir şekilde genişlemiş, yapışkan ve homojendir. Geniş ve radyal yayılımlı bir korona yapısı gözlenmektedir.                              |
| 2 | Hücreler arası boşluklar yaygın bir görünümde, gevşekçe kümeleşmeler izlenmekte ve hücreler yayılmış olarak gözlenmektedir.                                             |
| 3 | Kümülus yapısı daha az genişlemiştir. Cisimcik gibi görünen kümesel kümulus parçaları mevcuttur. Parçalı, yaygınlaşmış, kalın tabakalı korona hücreleri gözlenmektedir. |
| 4 | Granuloza hücre yapısı kompakt, küçük hücreler arası boşluklar gözlenmektedir. Kümülus yapısı oldukça yoğun, granüloza hücre kümeleri hafif yaygın olarak izlenir.      |



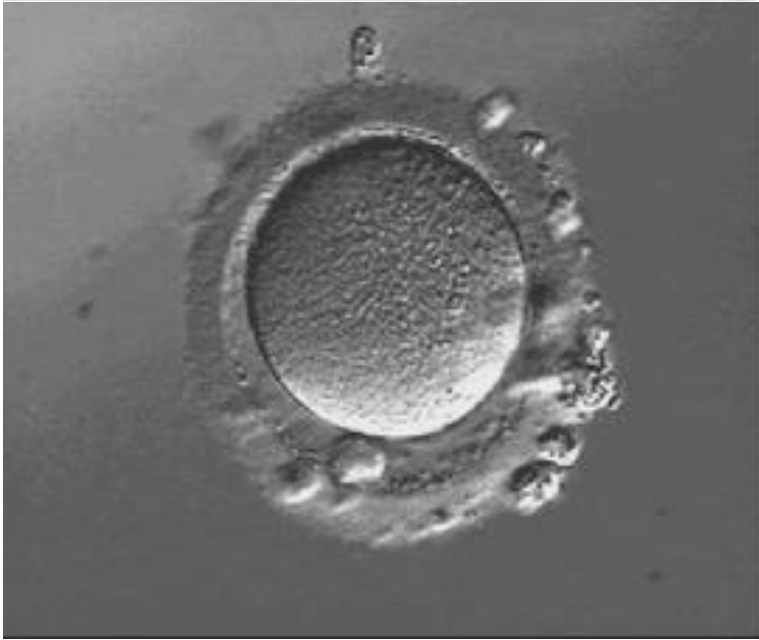
Şekil 1. Oosit-Kümülüs Kompleksi Sınıflaması

Olgun bir oosit yuvarlak (yaklaşık 100µm büyüklüğünde), açık renkli parlak ve homojen granülasyon gösteren sitoplazmaya ve düzgün yüzeyli bir oolemmaya sahip olmalıdır. Zona pellusidası; yaklaşık 14-15 µm kalınlığında, kesintisiz, oosite bakan yüzü daha homojen ve tüm oosit yüzeyinde eşit kalınlıktadır. Perivitellin aralık ise döküntü içermeyen, düzgün ve I. kutup cisimciğinin bulunduğu bölgede hafif genişlemiş diğer bölgelerde aynı genişlikte olmalıdır.

Bugüne kadar yaptıkları çalışmalarda oosit morfolojisinin döllenme, embriyo gelişimi ve gebelik üzerine olası etkilerini araştırılmıştır. Bazı araştırmalar oosit morfolojisinin fertilizasyon ve klivaj oranları üzerine bir etkisi olmadığı sonucuna varırken, bazıları granüler oositler ve sitoplazmik anormallikler (düz endoplazmik retikulum, refraktil cisimcikler ve vakuoller) içeren oositler kullanıldığında implantasyon ve gebelik oranlarında azalmaya sebep olduğunu göstermiştir.



**Metafaz I oosit:** Germinal vezikül ve birinci polar body izlenmiyor.



**Metafaz II oosit:** Birinci polar body izleniyor.



**Profaz I oosit:** Germinal Vezikül izleniyor.



## **İn Vitro Oosit Maturasyonu (IVM)**

İmmatür oositlerin toplanmasından sonra uygulanan in vitro maturasyon işlemi infertilite tedavisinde yeni uygulanmaya başlanan bir yöntemdir. Laboratuvarda hazırlanan IVM mediumu içinde en az 24 saat tutulan immatür oositler bu sürenin sonunda kontrol edilerek maturasyonunu tamamlayan oositlere işlem uygulanır.

PCO nedeni ile HCG kullanımını engelleyen hiperstimülasyon sendromu, over kanseri olgularında, doğal siklus takiplerinde, ICSI sikluslarında toplanmış immatür oositlerin varlığında in vitro oosit maturasyonu işlemi uygulanabilir.

## **IVF VE ICSI**

Bütün yardımıyla üreme tekniklerinde, erkek gametleri steril bir kap içerisine ejakülasyon ile alınır. Daha sonra işleminden geçirilerek konsantre hale getirilir, fertilizasyonda kullanılmadan 3-4 saat önce proteinden zengin mediada inkübe edilir. Bu son inkübasyon sperm kapasitasyonunu sağlar. Fertilizasyon öncesi, toplanmış oositlerde bu medialarda 6-8 saat kültüre edilir.

IVF için 50 000 ile 100 000 işleminden geçirilmiş sperm bir oosit ile kültüre edilir. 16-20 saat sonra gelişen embriyoda iki pronükleusun bulunmasıyla fertilizasyon olduğu gösterilir.

ICSI de aspire edilmiş kumulus kompleksindeki granülosa hücreleri ayrılır ve viable bir sperm direkt oosit içerisine yerleştirilir. Böylece sperm motilitesi , kapasitasyon veya akrozom reaksiyonu ve spermin zona pellusidaya tutunması gibi işlemler atlanmış olur.

### **ICSI Endikasyonları;**

- ✓ Erkek faktörü, total progresif motil sperm sayısı  $0.5 \times 10^6$ / ml ve Tygerberg kriterlerine göre normal morfolojinin %3' ün altında olması.
- ✓ Bütün spermilerin immotil olması veya akrozom reaksiyonu gösterememesi
- ✓ IVF ile fertilizasyon sağlanamaması
- ✓ HIV seropozitivitesi olan erkeklerden seronegatif kadına bulaş riskini azaltmak

## **FERTİLİZASYONUN DEĞERLENDİRİLMESİ**

### **1.GÜN**

Fertilizasyon kontrolü IVF veya mikroyenjeksiyon işleminden 12-18 saat sonra yapılmalıdır. İnsemine edilen oositlerin çevresindeki korona hücreleri yaklaşık 200µm kalınlığında çekilmiş pastör pipet ile stereo mikroskop altında temizlenir.



Fertilizasyon, kısaca tek bir sperm çekirdeğinin oositten gelen çekirdek ile aktive olmuş oosit sitoplazması içinde birleşmesi olarak özetlenebilir. Yakın zamanda yapılan bilimsel araştırmalar bize fertilizasyonun uygun şekilde gerçekleşebilmesi için gerek hücre içinde gerekse hücre dışında birtakım olaylar dizisinin oluşmasının şart olduğunu göstermiştir. Çekirdekler döllenmenin en basit ve kolayca gözlemlenebilen işaretleridir. Normal fertilizasyonda 2 pronükleus ve birinci ve ikinci kutup cisimciği gözlenir. Her iki çekirdekte meydana gelen olayların eş zamanlı olması döllenme ve ileri embriyo gelişimi açısından önemlidir. Erken zigot oluşumunda çekirdekçik ve çekirdekçiğe bağlı oluşumlar büyük önem taşır. Eş zamanlı gelişim göstermeyen döllenme aktivitelerine sahip zigotlarla yapılan araştırmalarda bu zigotlarda yüksek oranda kromozomal anomali, anormal klivaj ve gelişim blokajı nedeni ile nadir blastosist oluşumu gözlenmiştir.

Zigot değerlendirmesinde döllenme sonrası dört ana kriter dikkate alınmaktadır. Bunlar çekirdek büyüklüğü, çekirdekçik-öncesi cisimciklerin sayıları, büyüklükleri ve dağılımıdır.

- A: Çekirdekçik-öncesi cisimcikler büyük, kesişim noktasında ve sıralı
- B: Çekirdekçik-öncesi cisimcikler küçük, kesişim noktasında ve sıralı
- C: Çekirdekçik-öncesi cisimcikler büyük ve dağınık
- D: Çekirdekçik-öncesi cisimcikler küçük ve dağınık
- E: Çekirdekçik-öncesi cisimcikler büyüklü küçüklü, kesişim noktasında
- F: Çekirdekçik-öncesi cisimcikler büyüklü, küçüklü ve dağınık
- G: Pronükleuslar birbirinden ayrı veya boyutları farklı
- J: Erken singami

## Şekil 2. Zigot Değerlendirilmesi



**A**  
*Nükleoluslar büyük, kesişim noktasında ve sıralı*



**B**  
*Nükleoluslar küçük, kesişim noktasında ve sıralı*



**C**  
*Nükleoluslar büyük ve dağınık*



**D**  
*Nükleoluslar küçük, ve dağınık*



**E**  
*Nükleoluslar büyüklü küçüklü, kesişim noktasında*



**F**  
*Nükleoluslar büyüklü küçüklü dağınık*

## EMBRİYO SINIFLANDIRMASI (KLİVAJ DÖNEMİ)

Zigot aşamasından 4-8 hücreli bir embriyo oluşumuna kadar geçen süre erken klivaj dönemi olarak tanımlanır. Bu dönem içerisinde zigot birbiri ile yapısal anlamda değişiklik göstermeyen iki-üç bölünme geçirir. Klivaj hızı embriyolar arasında değişiklik gösterebilir fakat bu bölünmeler sonrasında normal bir embriyo birbirine eş büyüklükte 6-8 hücreden oluşur. Yapılan araştırmalar bu parametrenin dışında, eşit olmayan blastomer veya fragman denilen yapısında çekirdek bulunmayan sitoplazmik parçacıklar içeren embriyoların ileri gelişim yönünden diğerlerine göre daha riskli olduklarını göstermiştir. Bu özelliklere sahip embriyolar ayrıca daha yüksek oranda kromozomal anomali içerirler ve çok çekirdekli blastomer oluşturma şansları yüksektir. Bu dönem ayrıca çekirdeklerin birleşmesi sonrası oluşan embriyoya ait genomun da devreye girdiği dönemdir. Normal olarak yapılanmamış bir genoma sahip embriyoların çoğu bu dönem sonrası ileri gelişim göstermezler. Bu dönem ayrıca hücreler arası bağların (tight junctions, adherens junctions ve gap junctions) kuvvetlenerek arttığı bir dönemdir. Bu bağların bir kısmı hücreleri birbirine sıkıca bağlayarak geçirgen olmayan bir tabaka oluştururken diğer bir kısmı seçici olarak bazı moleküllerin taşınmasını, böylece ileri embriyo gelişim döneminde hücreler arası sinyal mekanizmaları oluşturarak başkalaşmalarını sağlarlar. Birleşme (compaction) olarak ta adlandırılan bu dönemde artık hücrelerin sınırlarını belirlemek zordur.

2. günden 4. güne kadar olan klivaj dönemindeki embriyolar değerlendirilirken göz önüne alınan kriterler blastomer sayısı, blastomer morfolojisi, embriyonun içerdiği fragmentasyon ve sitoplazma yapısıdır. Klivaj hızına göre embriyonun sahip olduğu blastomer sayısı şayet günün beklenen limitleri arasında ise normal gelişen bir embriyo, eğer bu sayı düşükse yavaş gelişen bir embriyo olarak değerlendirilir. Normal klivaj hızına sahip bir embriyo 24-25. saatte 2 hücre, 2.günde 3-4 hücre, 3.günde 6-8 hücre ve 4.günde ise birleşme işaretlerine bağlı olarak 10 ve üzerinde hücreye sahip olan embriyodur. Değerlendirilen embriyo eşit büyüklükte blastomer yapısına sahipse, % 0-5 arasında fragmentasyon içeriyorsa ve sitoplazmasında belirgin granüler yapı gözlenmiyorsa grade I, %10-%20 arasında fragmentasyon içeriyor, blastomerler hafifçe birbirinden farklı veya granülasyon gösteriyorsa grade II

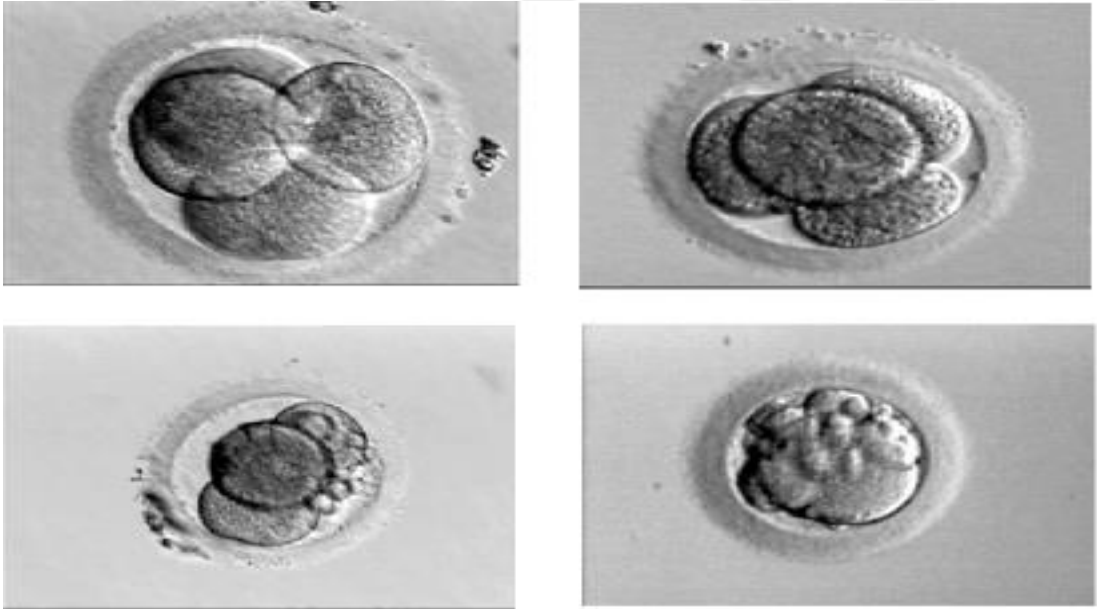
olarak sınıflandırılır. Daha yüksek oranda fragmentasyon veya granülasyon içeren embriyolar grade III-IV olarak tanımlanır. Bu gruba giren embriyoların ileri gelişim gösterme oranları son derece düşüktür ve ileri dönemlerde yüksek canlılık göstermezler.

## **Klivaj Dönemi Embriyo Sınıflandırması**

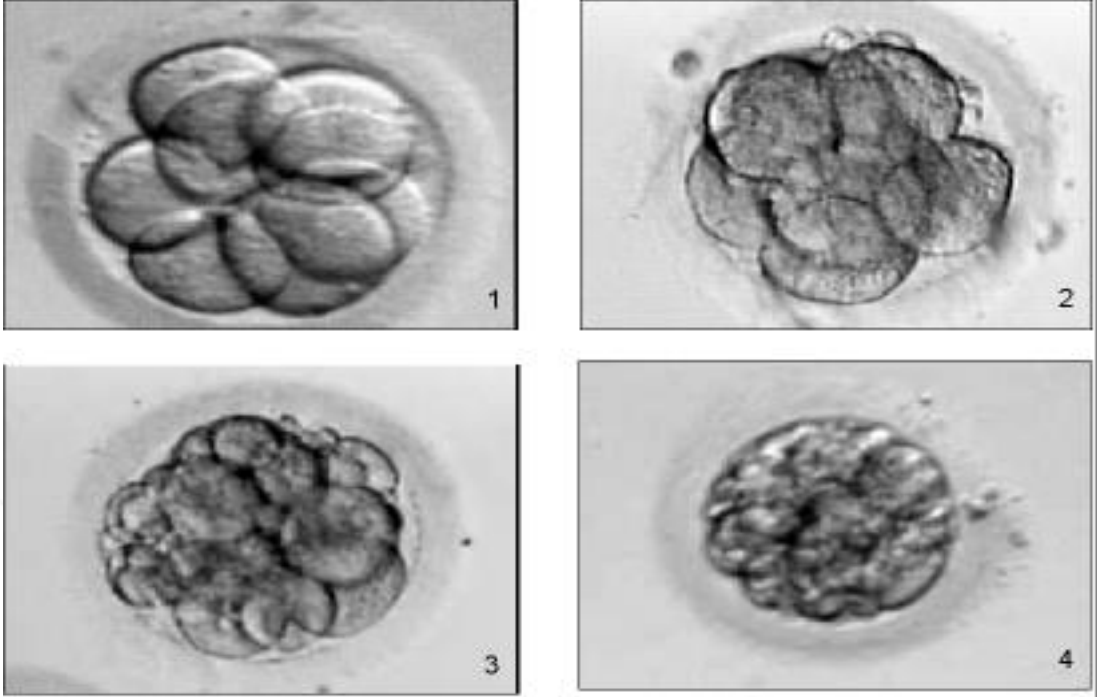
### **TANIM**

- 1 Eşit blastomer morfolojisine sahip, fragmentasyon veya granülasyon işaretleri göstermeyen embriyo.
- 2 Eşit blastomer morfolojisine sahip, %5-10 oranında fragmentasyon içeren veya granülasyon işaretleri gösteren embriyo.
- 3 Blastomerler birbirinden hafifçe farklı, %10 üzerinde fragmentasyona sahip veya granülasyon işaretleri gösteren embriyo.
- 4 Blastomer sayısı net sayılamayan, %30 dan fazla fragmentasyona sahip, blastomerler birbirinden belirgin derecede farklı veya ileri derecede granülasyon gösteren embriyo.

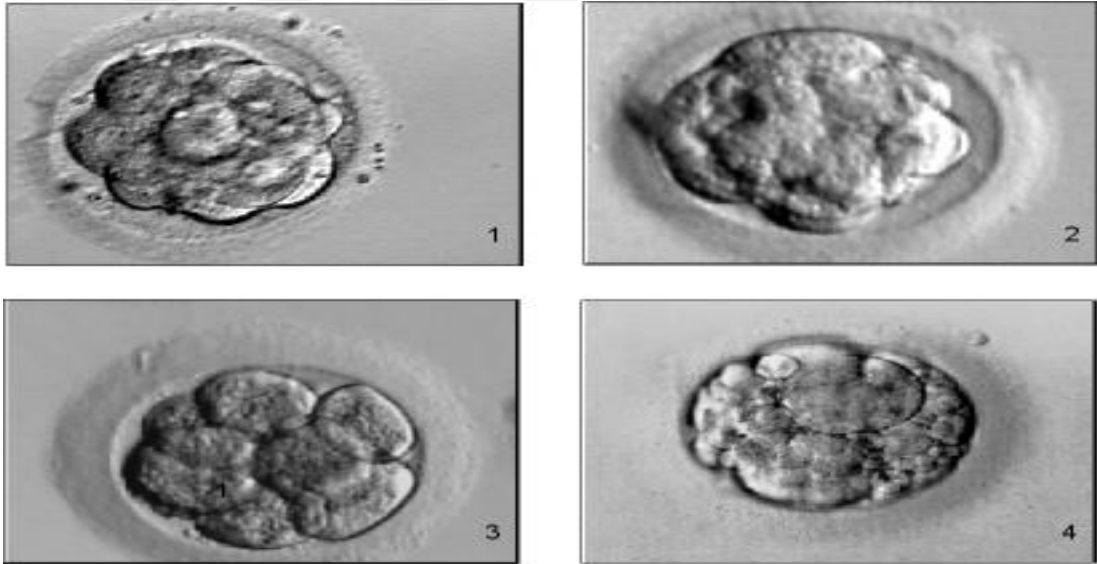
### **2.GÜN**



### 3.GÜN



### 4.GÜN



## BLASTOSİST DÖNEMİ EMBRİYO GELİŞİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

3. günden sonra takip eden bölünmeler ile embriyonun hücre sayısı artar ve 16-32 hücreden oluşan sıkı bir kitle haline gelir. Bu aşamadaki bir embriyoya morula adı verilir. Normal bir morulada iç kısımda yerleşik olarak bulunan hücreler ile dış

kısımdaki hücreler ileri gelişim aşamasında başkalaşımlarına devam ederek blastosist aşamasına gelindiğinde sırasıyla iç hücre kütleini (inner cell mass) ve trofektoderm tabakasını oluştururlar. Trofektoderm tabakasını oluşturan hücreler arası bağlar sıkıcıdır ve başkalaşım sırasında bu hücreler tarafından iç kısımda blastosel adı verilen sıvı oluşturulur. Blastosel içerdığı değişik iyon ve protein konsantrasyonu bakımından iç hücre kütleinin ileri gelişimi için son derece kritik bir önem taşır. Bu aşamada oluşan embriyonun yapısal değerlendirmesinde kullanılan üç temel kriter blastosel kavitenin yapısı , trofektoderm hücrelerinin yapısı ve dizilimi, ve iç hücre kütleini oluşturan hücrelerin sayısı ve yapısıdır.

## **LUTEAL DESTEK**

Oosit toplanması esnasında granüloza hücreleri de toplandığından luteal fonksiyonlar etkilenir. Luteal desteğe oosit toplandığı gün başlanır.

Progesteron 50 mg/gün intramüsküler olarak, oral mikronize progesteron günde 2 kez 200 mg veya vaginal progesteron günde iki ile 3 kez 200 mg olacak şekilde uygulanabilir.

## **EMBRIYO TRANSFERİ**

Oosit toplanmasından sonra in vitro beş ile altı güne kadar embriyoların büyümesi sağlanabilir. Beşinci güne kadar in vitro kültür yapılması durumunda embriyolar blastokist aşamasına kadar gelir ve bu da embriyoların kalitesinin daha iyi değerlendirilmesine olarak sağlar. Böylece implantasyon oranları artar ve transfer edilecek embriyo sayısının sınırlanmasına olanak sağlar (95). Kesin olmamakla beraber blastokist aşamasına kadar embriyo kültürlerine devam edilmesi monozigotik ikizlik riskini artırır. Blastokist transferinden sonra gebelik oranları %44-87 arasında değişmektedir (96). Beşinci gün yapılan transferleri etkileyen bir başka faktör ise üçüncü gündeki sekiz hücreli embriyo sayısıdır.

Embriyo transferinde operatörün deneyimi, servikal mukusun aspirasyonu, işlem esnasında USG kullanımı, prosedür sonrası kullanılan kateterin kültürü gebelik sonuçlarını etkiler (97, 98, 99, 100). Kateter kültürlerinde üreme olması gebelik oranlarını %50 azaltır (101).

Standart IVF sikluslarında doğum oranı ortalama %22.3, ektopik gebelik oranı %3, heterotopik gebelik oranı ise %1' dir. Klinik gebeliklerin %20' si abortusla sonuçlanır. Çoğul gebelik oranı %35'dir.

## EMBRIYO KRİYOPRESERVASYONU

Embriyoların kriyopreservasyonu embriyoların daha sonra stimölasyon yapılmamış bir siklusta transferine olanak sağlar. Bazı hastalarda bu embriyolar doğal sikluslarda transfer edilebilirken diğler hastalarda östrojen ve progesteron ile endometriumun hazırlanması sonrası transfer edilebilir. Bu sikluslarda cerrahi veya OHSS riski yoktur. Bu sikluslarda gebelik oranları biraz daha düşüktür. Gebelik oranları %22.2 olarak saptanmıştır (102).

## GEBELİĞİN DEĞERLENDİRİLMESİ

hCG ölçümüne oosit toplanmasından 16 gün sonra başlanabilir. Daha erken ölçülmesi yalancı pozitif veya negatifliklere sebep olur. Onaltıncı günde bakılan hCG değerinin 50 IU/l altında saptanması durumunda %35 oranında gebelik şansı varken, 500 IU/l üzerinde olursa ise bu oran %95 tir (103).

Erken gebelikte seri hCG ölçümleri yapılmalı, beşinci ve altıncı haftada intrauterin gebeliğin gösterilmesi ve gebelik kesesi sayısının değerlendirilmesi için TVUSG yapılmalıdır.

## MATERYAL-METOD

Bu çalışma IVF/ICSI uygulanan hastalarda, over rezervini değerlendirmek amacıyla kullanılan AMH değerleri ile oosit kalitesi ve gebelik sonuçları arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi için yapılmıştır.

Belirlenen kriterlere göre seçilen, kontrollü ovarian hiperstimülasyon için r-FSH veya hMG kullanılarak uzun protokol agonist tedavi protokolleri uygulanmış; ICSI yöntemi ile ovum fertilizasyonu sağlanmış ve elde edilen embriyolarla transfer yapılmış hastalarda bazal AMH düzeyi ile oosit kalitesi ve gebelik sonuçları arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışma Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tüp Bebek Merkezine Mayıs 2009- Aralık 2009 tarihleri arasında başvuran ve IVF/ICSI programına alınan 50 olgu ile yapılmıştır.

Çalışmaya 24-39 yaşları arasında, tubal ve peritoneal nedenler, erkek faktörü veya açıklanamayan infertilite nedeniyle başvuran bazal FSH değeri <15IU/l olan, ilk ICSI denemesi olan TSH ve PRL değerleri normal sınırlar içinde olan hastalar dahil edilmiştir. Daha önce over cerrahisi geçirmiş hastalar ve sistemik hastalığı olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Seçilen hastaların ilk muayenelerinde yaş tespiti yapıldı, obstetrik ve jinekolojik özgeçmişleri, menstruel siklus düzenleri sorgulandı. Fizik muayenelerinde boy, ağırlık ve vücut kitle indeksleri (ağırlık/boy<sup>2</sup>) hesaplandı. Hastaların genel fizik muayene ve jinekolojik muayeneleri yapıldıktan sonra, bazal değerlendirme için gerekli olan testler istendi. Bu tetkikler; spermiogram, menstrüasyonun 3. günü yapılan ultrasonografik ve hormonal değerlendirme, histerosalpingografi, serolojik testler (HbsAg, anti-HBC, anti-HIV), servikovaginal smear, servikal kültür, kan grubu ve tam kan sayımından oluşuyordu.

Bazal hormonal değerlendirme amacıyla menstrüel siklusün 3. günü immunoenzimatik yöntemle kan FSH, E<sub>2</sub>, LH, PRL, TSH düzeyleri ölçüldü. Aynı gün yapılan ultrasonografik değerlendirme sırasında over boyutları ve antral folikül sayısı General Elektrik Alfa Logic 200 marka 5 mHz ultrason probu kullanılarak yapıldı.



AMH düzeyinin ölçülmesi için hastalardan menstrüasyonun 3. günü 5 ml tam kan alınarak 3500 devir hızında 10 dakika santrifüj yapıldı. Elde edilen serumlar 1.5 ml.lik polipropilen tüplerde -80 C sıcaklığındaki buzdolabında saklandı. Aralık 2009' da saklanan tüm serumlar, ELİSA yöntemiyle Diagnostic Systems Laboratories(Texas, USA) firmasına ait, ACTIVE MIS/AMH ELİSA DSL-10-14400 adlı kit kullanılarak çalışıldı.

Menstrüel siklusun supresyonu amacıyla uzun protokol uygulandı. Siklusun 21. günü 0.5 mg Leuprolide asetat ve Triptorelin asetat subkutan uygulanmaya başlandı. Menstrüasyonun 2. günü ölçülen serum E<sub>2</sub> düzeyinin 50 pg/ml altında olması ve USG de endometrium kalınlığının < 4 mm olması down-regülasyon olarak kabul edildi. Bundan sonra gonadotropin tedavisine geçildi. Tedavide kullanılacak gonadotropin dozu, hastanın yaşı, bazal FSH değeri, vücut kitle indeksi dikkate alınarak bireysel olarak belirlendi. Bu amaçla 150-450 IU/gün arasında değişen dozlarda r-FSH veya human menopozal gonadotropinler (hMG) ile tedaviye başlandı. 5. gün USG ile yapılan değerlendirmede folikül sayısı 3' ten az ve serum E<sub>2</sub> düzeyi <100 pg/ ml olan hastalarda ilaç dozu artırıldı (step-up protokol). Bundan sonraki USG kontrollerine göre step-up veya step-down şeklinde tedaviye devam edildi.

3 adet > 18 mm' lik folikül oluşumu sağlandıktan sonra 10000 IU hCG im. veya 250 mikrogram rekombinant hCG subkutan yapıldı. Bundan 36 saat sonra anestezi altında steril şartlarda litotomi pozisyonunda, üzerine çift lümenli 17 mm ve 30 cm boyutlarında oosit aspirasyon iğnesi yerleştirilmiş transvaginal USG probu vaginaya uygulanarak folikül aspirasyonu gerçekleştirildi. Folikül aspirasyonunda 125 mmHg lık negatif basınç uygulandı. Elde edilen folikül sıvısından matür ve immatür oositler tespit edilip matür oositler tespit edilip matür oositler ayrıştırılarak (G-1TM version 3; Vitrolife, Goteborg,Sweden, G-2 TM versiyon 3;VitrolifePlus) kültür mediumlarına alındı.

ICSI işleminden iki gün sonra yapılan mikroskopik incelemede 2h-grade 1, 3h-grade 1, 4h-grade 1 embriyolar ile 3.gün yapılan incelemede 6h-grade 1, 7h-grade1, 8h-grade1 embriyolar ve 5. gün yapılan incelemede blastokist ve geç dönem blastokist aşamasındaki embriyolar iyi kalitede embriyolar olarak değerlendirildi.

Embriyo transferleri 48 ile 120 saat sonra yapıldı. Transfer öncesi yapılan mikroskopik inceleme sonrası 6 ile 8 hücreli grade1 ve 2 ile blastokist aşamasındaki

embriyolar transfer edildi. Transferden 12 ile 14 gün sonra gebeliğin varlığını değerlendirmek için serum  $\beta$ -hCG ölçümü yapıldı.

Çalışmamızda amacımız over rezervini değerlendirmek amacıyla kullanılan bazal AMH ile oosit kalitesi ve gebelik sonuçları arasındaki ilişkiyi değerlendirmektir. Literatüre uygun olarak tedavinin başarısını toplanan oosit sayısına göre değerlendirdik. Tedavi sonunda toplanan oosit sayısının 5 ve üzerinde olduğu 32 hastanın tedaviye yanıtı iyi, <5 olan 12 hastanın cevabı kötü olarak değerlendirildi. Oosit sayısı temel alınarak AMH için bir cut-off belirledi ve hastalar bu AMH değerine göre iki gruba ayrılarak değerlendirildi.

25 hastaya erkek faktörü nedeniyle, 14 hastaya açıklanamayan infertilite nedeniyle, 3 hastaya tubal nedenlerle ve 2 hastaya tubal ve erkek faktörü nedeniyle ICSI uygulandı. Tedaviye alınan 3 hastada gonadotropin agonistleri ile tedaviye başlandıktan sonra, menstruasyonun 2. günü yapılan TVUSG' de >20 mm kist saptandığı için tedavi bırakıldı. 1 hastada endometrial polip ve 1 hastada adneksiyel kitle saptanması üzerine tedavileri ertelendi. 1 hastada ise ekonomik nedenlerle tedavisi iptal edildi.

#### İSTATİKSEL İNCELEMELER

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için NCSS 2007&PASS 2008 Statistical Software (Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Student t test kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi ve Fisher's Exact Ki-Kare test kullanıldı. Cut off noktası saptamada ROC analizi ve tanı tarama testleri kullanıldı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirildi.

## BULGULAR

Çalışma Mayıs 2009-Aralık 2009 tarihleri arasında Zeynep Kamil Eğitim ve Araştırma Hastanesinde toplam 44 olgu üzerinde yapıldı.

Olguların yaşları 24 ile 39 arasında değişmekte olup ortalama yaş  $32,07 \pm 3,90$  olarak saptanmıştır. Kiloları 50 ile 83 arasında değişmekte olup, VKI ise 20 ile 34 arasında değişmekte olup ortalaması  $24,58 \pm 3,31$  olarak bulundu.

**Tablo 1: Klinik Özelliklerin Dağılımı (n=44)**

|                                 | Min-Max     | Ort $\pm$ SD (Medyan)     |
|---------------------------------|-------------|---------------------------|
| <b>İnfertilite süresi (yıl)</b> | 2-18        | 8,34 $\pm$ 3,77           |
| <b>Bazal E<sub>2</sub></b>      | 20-139      | 48,32 $\pm$ 21,03         |
| <b>Bazal FSH</b>                | 4-11        | 6.9 $\pm$ 2.38            |
| <b>AMH</b>                      | 0,51-11,60  | 2,81 $\pm$ 1,90           |
| <b>Antral folikül sayısı</b>    | 4-22        | 13.3 $\pm$ 4.14           |
| <b>TPMSS</b>                    | 0-189000000 | 26233909 $\pm$ 47109448,4 |
| <b>5.gün E<sub>2</sub></b>      | 10-2058     | 425,64 $\pm$ 368,67       |
| <b>HCG günü E<sub>2</sub></b>   | 491-3958    | 2196,4 $\pm$ 981,1        |

n= olgu sayısı

İnfertilite süreleri 2 ile 18 yıl arasında değişmekte olan hastalarımızın bazal FSH değerleri 4-11 mIU/ml , bazal E<sub>2</sub> değerleri 20-139 pg/ml , bazal AMH değerleri 0.51-11.6 pg/ml , antral folikül sayıları ise 4-22 arasında tespit edildi.

Olguların eşlerinin tetkiklerinde total motil sperm sayısı 0-189000000 aralığında bulundu. Tedavi sürecinde 5. Gün E<sub>2</sub> değerleri 10-2058 pg/ml, hCG günü E<sub>2</sub> değerleri 491-3958 pg/ml arasında ölçüldü.

**Tablo 2: Endikasyonların Dağılımı (n=44)**

|                                                          | n  | %    |
|----------------------------------------------------------|----|------|
| <b>Endikasyon</b>                                        |    |      |
| <i>Açıklanamayan<br/>infertilite ve tubal<br/>faktör</i> | 17 | 38,6 |
| <i>Male faktör</i>                                       | 27 | 61,4 |

n=olgu sayısı

Çalışmaya alınan olguların endikasyonlarını incelediğimizde; % 38.6' sında (n=17) açıklanamayan infertilite ve tubal faktör, %61.4' ünün (n=27) ise male faktör olduğu görüldü.

**Tablo 3: Oosit özelliklerinin Dağılımı (n=44)**

|                                        | n  | Toplam oosit sayısı |
|----------------------------------------|----|---------------------|
| <b>Toplanan oosit sayısı</b>           | 44 | 341                 |
| <b>Matür oosit sayısı</b>              | 44 | 278                 |
| <b>GV (Germinal vezikül)</b>           | 15 | 28                  |
| <b>EZ (Empty zona)</b>                 | 3  | 7                   |
| <b>İmmatür oosit</b>                   | 15 | 20                  |
| <b>Dejenere oosit</b>                  | 6  | 8                   |
| <b>PVD (Yoğun Perivitellin debris)</b> | 11 | 46                  |
| <b>SER (Düz endoplazmik retikulum)</b> | 2  | 2                   |
| <b>İC</b>                              | 5  | 32                  |
| <b>GPVS</b>                            | 6  | 19                  |
| <b>PPB</b>                             | 8  | 31                  |
| <b>Kalın Zona</b>                      | 15 | 106                 |
| <b>Santral granülasyon</b>             | 15 | 74                  |
| <b>Küçük PV</b>                        | 1  | 5                   |
| <b>Vakuolizasyon</b>                   | 2  | 2                   |
| <b>Çift Polar</b>                      | 1  | 1                   |

n=olgu sayısı

Çalışmaya alınan 44 olguda toplam 341 oosit toplandı, bunlardan 278' inin matür oosit olduğu görüldü. 7 empty zona (3 olguda) ve 28 germinal vezikül(15 olguda) izlendi. 15 olgunun 20 oositi immatür ve 6 olgunun 8 oositi ise dejenere olarak değerlendirildi.

Matür oositlerin özelliklerinin dağılımına bakıldığında, 46 oositte yoğun perivitellin debris (PVD), 2 oositte düz endoplazmik retikulum (SER), 32 oositte IC, 19 oositte

GPVS, 31 oositte PPB, 106 oositte kalın zona, 74 oositte santral granülasyon, 5 oositte küçük PV, 2 oositte vakuolizasyon ve 1 oositte çift polar body izlendi.

Olgularımızı toplanan oosit sayısına göre (  $<5$  ve  $\geq 5$  ) iki grupta inceledik.

5'den az oosit toplanan grupta 12 olgu(%27,3) ; 5'den fazla oosit bulunan grupta 32 olgu ( %72,7) vardır.

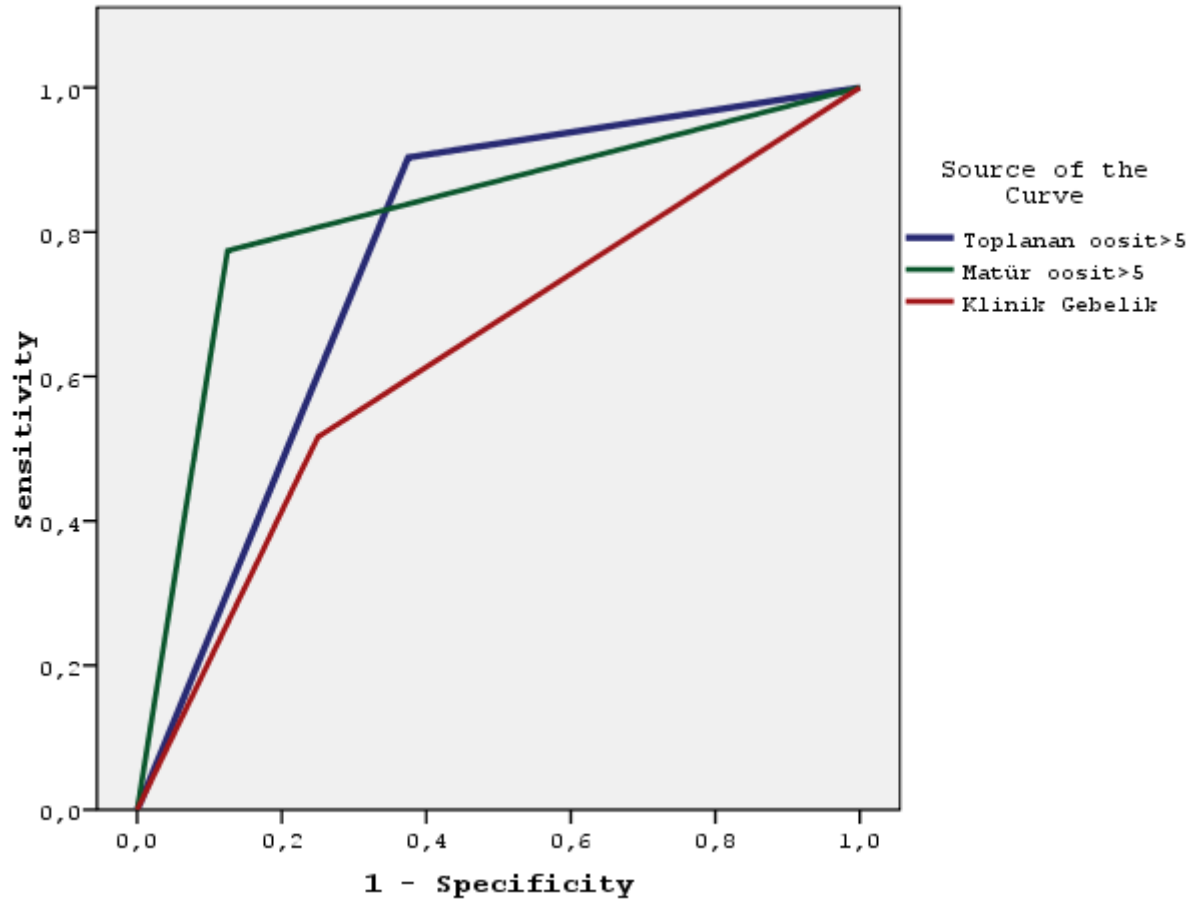
**Tablo 4: Toplanan oosit sayısı sınıflamasına göre AMH değerlendirilmesi**

| Toplanan oosit                   | AMH             |        | p              |
|----------------------------------|-----------------|--------|----------------|
|                                  | Ort $\pm$ SD    | Medyan |                |
| <b>&lt; 5 oosit</b>              | 1,87 $\pm$ 1,40 | 1,56   | <b>0,005**</b> |
| <b><math>\geq 5</math> oosit</b> | 3,17 $\pm$ 1,90 | 2,70   |                |
| Mann Whitney U test              | **p<0,01        |        |                |

Toplanan oosit sayısı sınıflamasına göre AMH ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmektedir ( $p<0,01$ ). Oositi sayısı 5 ve üzerinde olan grubun AMH düzeyleri anlamlı olarak daha yüksektir.

Bu anlamlılıktan yola çıkarak AMH için cut-off noktası hesaplanması düşünüldü. AMH için cut-off noktası saptamada ROC analizi ve tanı tarama testleri kullanılmıştır.

AMH düzeyi 1,90 ve üzerinde olan olgularda 5 ve üzeri oosit yakalamada duyarlılık % 87,50; özgüllük % 66,67; pozitif kestirim değeri %87,50 ve negatif kestirim değeri %66,67 olarak saptanmıştır. (AUC =0.777,  $p< 0.01$ )



**Şekil 1: Toplanan oosit, matür oosit ve biyokimyasal gebeliğe göre AMH için elde edilen ROC eğrisi**

|                             |                   |                  |
|-----------------------------|-------------------|------------------|
| <b>Toplanan oosit</b>       | <b>AUC: 0.777</b> | <b>p&lt;0.01</b> |
| <b>Matür oosit</b>          | <b>AUC: 0.780</b> | <b>p&lt;0.01</b> |
| <b>Biyokimyasal gebelik</b> | <b>AUC: 0.683</b> | <b>p: AD</b>     |

AMH 'nın biyokimyasal gebelik, toplanan oosit sayısı ve matür oosit sayısı açısından belirleyiciliğini karşılaştırdığımızda , en güçlü olarak matür oosit sayısını öngördüğünü bulduk. Biyokimyasal gebelik açısından ise belirleme gücünün anlamlı olmadığını gördük.

**Tablo 5: AMH sınıflamasına göre değerlendirmeler**

|                                      | AMH                   |                       | p              |
|--------------------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------|
|                                      | <1,90 (n=12)          | ≥1,90 (n=32)          |                |
|                                      | Ort±SD<br>(medyan)    | Ort±SD<br>(medyan)    |                |
| <b>*Yaş</b>                          | 33,67±3,93            | 31,47±3,77            | <b>0,097</b>   |
| <b>**İnfertilite süresi</b>          | 8,42±4,16<br>(8,50)   | 8,31±3,68<br>(7,0)    | <b>0,770</b>   |
| <b>**Bazal FSH</b>                   | 8,34±3,17 (8)         | 6,43±1,77 (6)         | <b>0,045*</b>  |
| <b>**Antral Folikül Sayısı</b>       | 10,08±4,14<br>(9,5)   | 14,94±4,73<br>(14)    | <b>0,002**</b> |
| <b>**Bazal E<sub>2</sub></b>         | 57,19±30,73<br>(52,6) | 45,00±15,38<br>(39,5) | <b>0,170</b>   |
| <b>**Fertilize olan oosit sayısı</b> | 1,67±1,72 (1)         | 4,66±2,98 (4)         | <b>0,002**</b> |
| <b>**İyi kalitede embriyo</b>        | 1,25±1,21 (1)         | 2,03±1,47 (2)         | <b>0,117</b>   |
| <b>Toplanan oosit sayısı</b>         | 3,58±2,42 (3)         | 9,31±4,08 (9)         | <b>0,001**</b> |
| <b>Matür oosit sayısı</b>            | 2,83±2,12(2,5)        | 7,63±3,80(7,5)        | <b>0,001**</b> |
| <b>•Biyokimyasal gebelik</b>         | <b>n (%)</b>          | <b>n (%)</b>          |                |
| <b>Gebelik var</b>                   | 2 (%25,0)             | 16 (%51,6)            | <b>0,247</b>   |
| <b>Gebelik yok</b>                   | 6 (%75,0)             | 15 (%48,4)            |                |

\* Student t test

\*\* Mann Whitney U test

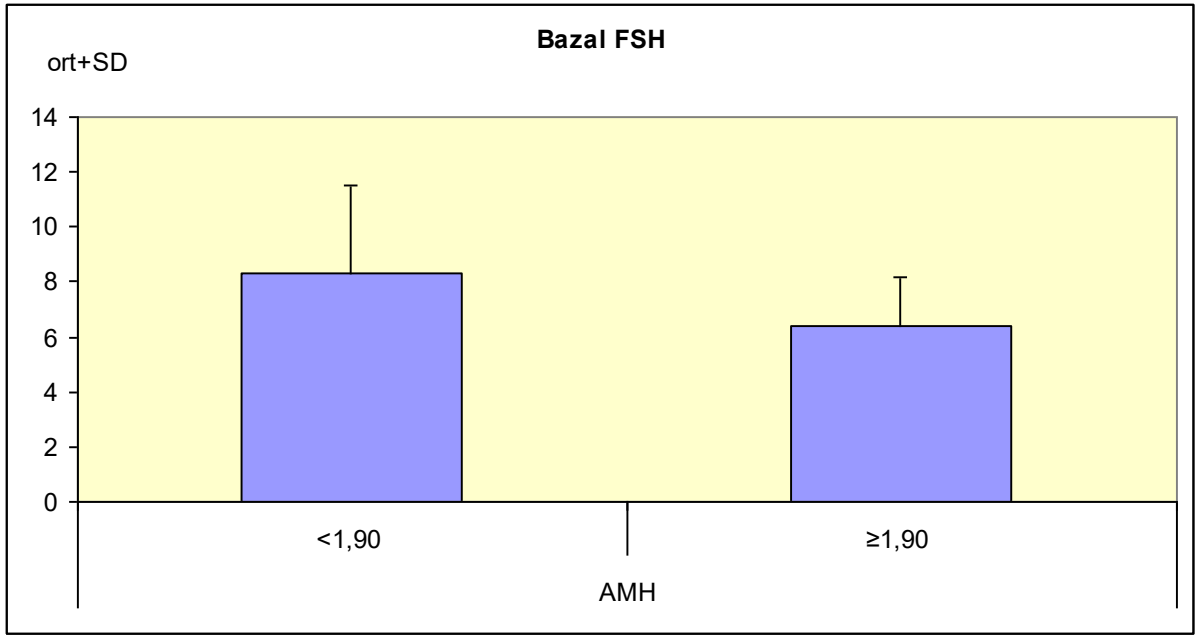
• Ki kare test

\*p<0,05

\*\*p<0,01

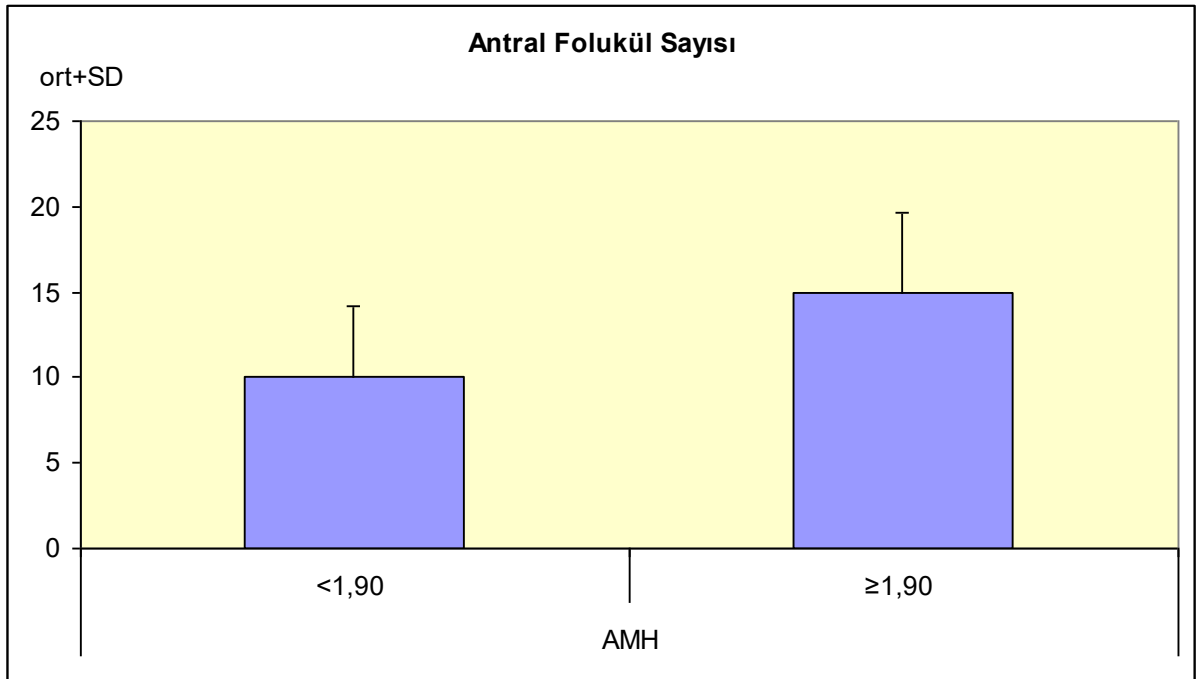
Belirlediğimiz AMH cut-off değerine göre olgularımızı incelediğimizde AMH değeri yüksek olan grupta, bazal FSH değerlerinin daha düşük olduğunu (şekil 2), antral folikül sayılarının, toplanan toplam ve matür oosit sayıları ile fertilize olan oosit sayılarının ise anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü(şekil 3,4). Elde edilen iyi kalitede embriyo oranı ile biyokimyasal gebelik oranı açısından ise anlamlı fark görülmedi.





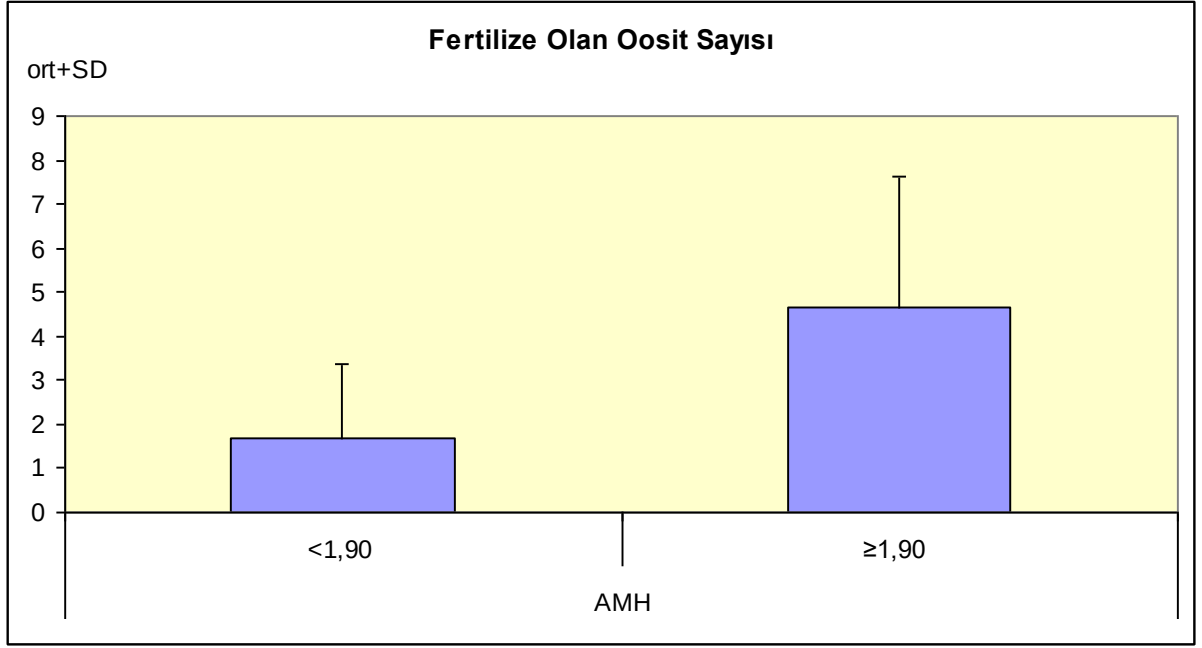
**Şekil 2: Bazal FSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı**

Bazal FSH düzeyleri AMH  $\geq 1.90$  olan olgularda anlamlı düzeyde düşük olarak saptandı ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 3: Antral folükül sayısının gruplara göre dağılımı**

Antral folikül sayıları AMH 1,90 ve üzerinde olan olgularda anlamlı düzeyde yüksek olarak saptanmıştır ( $p<0,01$ ).



**Şekil 4: Fertilize olan oosit sayılarının gruplara göre dağılımı**

Fertilize olan oosit sayısı AMH 1,90 ve üzerinde olan olgularda anlamlı düzeyde yüksek olarak saptanmıştır ( $p<0,01$ ).

**Tablo 6: Gruplara göre oosit özelliklerinin dağılımı**

|                       | AMH          |              | p             |
|-----------------------|--------------|--------------|---------------|
|                       | <1,90 (n=12) | ≥1,90 (n=32) |               |
| <b>Toplanan oosit</b> | <b>43</b>    | <b>298</b>   |               |
| <b>Matür oosit</b>    | 34 (%79,0)   | 244 (%81,8)  | <b>0,657</b>  |
| <i>Normal oosit</i>   | 4 (%11,8)    | 50 (%20,5)   | <b>0,228</b>  |
| <i>Anormal oosit</i>  | 30 (%88,2)   | 194 (%79,5)  |               |
| <b>Yoğun PVD</b>      | 8 (%26,7)    | 38 (%19,6)   | <b>0,372</b>  |
| ●●SER                 | 1 (%3,3)     | 1 (%0,5)     | <b>0,250</b>  |
| İC                    | 7 (%23,3)    | 25 (%12,9)   | <b>0,128</b>  |
| GPVS                  | 6 (%20,0)    | 13 (%6,7)    | <b>0,015*</b> |
| PPB                   | 4 (%13,3)    | 27 (%13,9)   | <b>0,931</b>  |
| Kalın Zona            | 12 (%40,0)   | 94 (%48,5)   | <b>0,388</b>  |
| Santral granülasyon   | 11 (%36,7)   | 63 (%32,5)   | <b>0,650</b>  |
| ●●Küçük PV            | 0            | 5 (%2,6)     | <b>1,000</b>  |
| ●●Vakuolizasyon       | 0            | 2 (%1)       | <b>1,000</b>  |
| ●●Çift Polar          | 0            | 1 (%0,5)     | <b>1,000</b>  |

*Ki kare test*●●*Fisher's exact test*\**p<0,05*

Toplanan matür oositlerin morfolojik özellikleri incelendiğinde GPVS hariç her iki grup arasında anlamlı fark görülmedi.

## TARTIŞMA-SONUÇ

İnfertilite üreme dönemindeki toplumun %10-15' ini ilgilendiren bir durumdur (1). Evlilik yaşının ilerlemesi, geç çocuk sahibi olma isteği, toplumda kadınların rolünün değişmesi, çevresel ve sosyo-ekonomik faktörler fertilitiyi etkileyen nedenlerdir. Fertilitenin otuzlu yaşlardan sonra azalmaya başlaması nedeniyle bazı kadınlar azalmış over rezervi nedeniyle gebe kalmada problemlerle karşılaşacaklardır.

Günümüzde infertil hastaların tedavisinde önemli gelişmeler elde edilmiştir. Özellikle yardımcı üreme tekniklerinin gelişmesiyle infertilite tedavisindeki başarı oranları artmış ve daha çok infertil çiftin sağlıklı bir bebeğe sahip olabilmesi sağlanmıştır.

Yardımcı üreme teknikleri tedavisi pahalı, zaman gerektiren ve hastalar için stresli bir tedavi şeklidir. İnfertil hastaların doğru değerlendirilmesi ve uygun tedavi tekniklerinin seçilmesi yardımcı üreme tekniklerinin başarısı için şarttır. Bu nedenle tedavi öncesi over rezervinin değerlendirilmesi gereklidir.

Over rezervi kadının reproduktif potansiyelini gösterir, primordial folikül sayısı ve oosit kalitesini yansıtır. Overlerin gonadotropinlere yanıt olarak folikül gelişimi over rezervi olarak tanımlanabilir. Bu rezervin azalması, yaşla ilişkili olmasına rağmen başlangıç zamanı çok değişken olabilmektedir (104). Her ne kadar over rezervi yaşla azalsa da, bu kronolojik değil biyolojik bir fonksiyondur.

Over rezervini değerlendirmede kullanılacak ideal belirteç ucuz, kolay ölçülebilen, minimal invazif ve prediktif değeri iyi olmalıdır. Over rezervinin değerlendirilmesi için birçok test geliştirilmiştir. Bu amaçla serum bazal FSH, E<sub>2</sub>, inhibin B değerleri ile tedavi öncesi over volümü ve antral folikül sayısı gibi parametreler değerlendirilmiştir (105).

Bununla beraber, normal bazal değerler bir endokrin organın normal çalıştığını garanti etmez (106). Bu nedenle klomifen sitrate challenge test, GnRH agonist stimülasyon testi gibi provakatif testler geliştirilmiştir (107). Fakat bunların da sonuçlarının değeri tartışmalıdır ve over rezervini direkt yansıtmazlar (108). Ne bazal hormon değerleri ne de dinamik testler, yardımcı üreme tekniklerinde eksojen

gonadotropinlere overin vereceği cevap hakkında direkt bilgi vermez. Normal over rezerv testlerine rağmen hangi hastaların kötü yanıt vereceği belirlenememektedir.

Son yıllarda antimüllerian hormonun over rezervini belirlemedeki önemi gittikçe daha fazla anlaşılmaya başlanmıştır (58,109,110,111,112,132).

AMH, dimerik bir glikoprotein olup transforming growth faktör- $\beta$  ailesine mensuptur. AMH, preantral ve küçük antral foliküllerden salınır (113). Foliküller, primordial aşamadan primer folikül aşamasına geçince AMH yapımı başlar ve antral folikül aşamasına kadar devam eder (114,115,116). Küçük antral foliküllerin sayısı primordial folikül havuzu ile korelasyon gösterir (117,118). Yaşla birlikte antral folikül sayısında azalma olur ve AMH düzeyi azalır (109,110,119). AMH FSH, E<sub>2</sub> ve inhibin B' den farklı olarak siklus bağımsız bir marker olarak kullanılabilir (120,121).

Annemarie de Vet ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ilerleyen yaşla birlikte küçük gelişen folikül sayısının azaldığını, azalmış primordial folikül stoğu ile küçük gelişen folikül sayısı arasında bir ilişki olduğunu gösterdiler. Over yaşlanması ile ilişkili olarak FSH, inhibin B düzeyleri ve antral folikül sayısında bir değişiklik bulamadılar. Ancak ilerleyen yaşla AMH yapımında azalma olduğunu tespit ettiler. Böylece AMH' nun primordial folikül hacmini gösterdiğini ve erken evrelerde folikül gelişimini sağladığını ortaya koydular (119).

AMH düzeyi ile yaş ve folikül sayısı arasında güçlü bir ilişki olduğunu gördüler. Antral folikül sayısı küçük gelişen folikül sayısını yansıtır. Yaş ile primordial folikül sayısının azalması USG' de overde antral folikül sayısının azalması şeklinde görülür. Bu çalışma sonucunda AMH ile antral folikül sayısı arasında ilişki olduğunu ve AMH' nun over yaşlanmasını gösteren iyi bir belirteç olduğunu buldular (119).

Fıçıoğlu ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada AMH ile antral folikül sayısı ve toplanan oosit sayısı arasında ilişki olduğunu saptadılar. Serum AMH seviyelerinin antral folikül havuzunun boyutunu yansıttığını ve böylece kontrollü ovarian stimülasyon ile toplanacak oosit sayısını belirlemede bir marker olarak kullanılabileceğini gösterdiler. Yine aynı çalışmada beşten az oosit toplanan grupta bazal AMH düzeyi, antral folikül sayısı ve hCG günü E<sub>2</sub> düzeyini daha düşük olarak saptadılar (122).

Biz de çalışmamızda hastaları AMH düzeyine göre grpladığımızda, tedavi öncesi siklusun 2. veya 3. günü yapılan TVUSG' de antral folikül sayısı ile AMH arasında ilişki saptadık. AMH değeri yüksek olan grupta antral folikül sayısının anlamlı olarak daha yüksek olduğunu gördük . Yine over rezervini değerlendirmede kullanılan bazal FSH değerlerini AMH düzeyi yüksek olan grupta daha düşük saptarken bazal E<sub>2</sub> değerleri arasında ise fark göremedik. Over rezervini değerlendirmek açısından önemli bir parametre olan yaş dağılımları açısından ise iki grup arasında anlamlı farklılık yoktu.

Yardımcı üreme tekniklerinde ovarian hiperstimülasyona overin verdiği cevap over rezervini değerlendirmede önemlidir. Simone ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kötü over yanıtı tanımlanması için sınırlı sayıda yada hiç folikül gelişmemesi nedeniyle siklus iptali, toplanan oosit veya matür oosit sayısı gibi parametreler kullandılar (123).

Her ne kadar kötü yanıt alınması over rezervinin azalmış olduğunu düşündürse de, obezite veya FSH reseptör polimorfizmi gibi faktörler de etkilidir (124). Kötü over yanıtının tam olarak değerlendirilmesi hastanın doğru yönlendirilmesi içinde önemlidir (125,126,127).

Seifer ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, erken foliküler faz serum AMH düzeyleri ile ovulasyon indüksiyonu sonucu elde edilen oosit sayısı arasında ilişki buldular. Özellikle yüksek serum AMH düzeylerinde daha çok sayıda oosit toplanmış ve matür oosit elde edilmiştir. Primordial folikül havuzunun hacmi serum AMH düzeylerini yansıtır. AMH serum düzeyinin IVF sırasında yapılan kontrollü hiperstimülasyonu sonrasında elde edilecek oosit sayısının tahmininde yol gösterici olduğunu buldular (112).

Hazout ve Muttukrishna ile arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda AMH' nun, inhibin B ve FSH' ya oranla toplanan oosit ve antral folikül sayısı ile daha iyi bir korelasyon gösterdiği bulunmuştur (128,129).

Biz ise çalışmamızda hastaları, tedavi sırasında toplanan oosit sayısına göre iki gruba ayırdık. Beş veya daha fazla oosit toplanmış hastalar iyi yanıt veren, beşten az oosit toplanan hastalar ise kötü yanıt veren grubu oluşturdu. Toplanan oosit sayısı beş veya daha fazla olan grupta AMH değeri anlamlı olarak daha yüksek bulduk. Tedaviye iyi yada kötü yanıt veren hastalar karşılaştırıldığında; iyi yanıt veren grupta tedavi sırasında toplanan toplam oosit sayısı ve matür oosit sayısı anlamlı olarak daha yüksek bulduk.

AMH, inhibin B, FSH düzeyleri ve antral folikül sayısı gebeliğin oluşmasının tahmininde kullanılan parametrelerdir. Serum FSH düzeyleri ile yardımcı üreme teknikleri sonuçları arasında ilişkili bulunamamıştır . Van Rooij ve arkadaşları yaptıkları çalışmada FSH, E<sub>2</sub> ve inhibin B seviyeleri ile gebelik oluşumu arasında ilişki bulamadılar (130,131). Bancsi ve arkadaşları ise bazal FSH' nın IVF sonuçlarını değerlendirmede uygun bir test olmadığını buldular (132).

Wunder ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada serum ve folikül sıvısı AMH ve inhibin B değerleri, tedavi ile gebelik elde edilen grupta anlamlı olarak daha yüksek buldular. Ayrıca serum ve folikül sıvısı AMH ve inhibin B değerleri ile oosit sayısı arasında pozitif bir ilişki saptanırken 3. gün FSH değerleri ile negatif bir ilişki saptadılar ( 133).

Fıçıoğlu, Wunder, Laven, Lekamge ve arkadaşları bazal AMH seviyeleri ile gebelik prediksyonu arasında bir bağlantı bulmazken ( 122,133,,134,135), Chuang, Smeenk, Eldar-geva ve arkadaşları ise yüksek AMH seviyeleri ile gebelik oluşma oranları arasında anlamlı bir ilişki buldular (130,136,137).

Hazout ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada IVF yapılan hastalarda gebeliğin oluşmasının tahmininde AMH' nun yaş, serum FSH, inhibin B ve E<sub>2</sub>' den daha fazla prognostik değeri olduğunu gördüler. Gebelik oluşan ve oluşmayan gruplar arasında yaş, serum FSH, inhibin B ve E<sub>2</sub> düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptamadılar. Yüksek AMH düzeyleri ile belirgin oranda daha yüksek gebelik oranları saptadılar. AMH ile oosit ve embriyo sayıları ile siklus uzunluğu arasında ilişki olduğunu buldular (138).

Smeenk ve arkadaşları AMH düzeyleri ile over yanıtı arasında ilişki saptarken, embriyo kalitesi ve gebelik oluşumu arasında ilişki saptamadılar. Diğer over rezerv

testleri ile oosit sayısı, embriyo sayısı, embriyo kalitesi ve gebelik oluşumu arasında zayıf bir ilişki olduğunu buldular (136).

Bazı çalışmalarda AMH seviyeleri ile embriyo skorlaması arasında pozitif bir korelasyon saptanırken (139), aksini bulan çalışmalarda mevcuttur (135).

Takahashi ve arkadaşları folikül sıvısındaki inhibin B, E<sub>2</sub> ve progesteron seviyelerini embriyo kalitesi için duyarlı markerler olmadığını saptadılar. Ayrıca OPU günü AMH düzeyi ile iyi kalitede embriyo sayısı ve fertilizasyon oranları arasında istatistiksel bir ilişki saptamadılar (140).

Biz de çalışmamızda AMH düzeyi yüksek ve düşük olan grupları karşılaştırdığımızda, elde edilen gebelik oranları açısından anlamlı bir fark göremedik. Fertilize olan oosit sayısını AMH düzeyi yüksek olan grupta daha yüksek saptarken gebelik oluşumu üzerine etkili olan iyi kalitede embriyo oluşumu açısından ise iki grup arasında fark göremedik.

Over rezervi over folikül havuzunun hem miktarı hem de kalitesi ile ilişkilidir. Her ne kadar primordial folikül havuzunun direkt olarak ölçümü mümkün değilse de, antral folikül sayısı primordial folikül havuzunun boyutu ile orantılıdır. Bu nedenle antral folikül sayısının yaşlanmayla beraber overdeki niceliksel değişiklikleri yansıttığına inanılmaktadır. Maalesef oosit kalitesini direkt olarak değerlendirebilecek markerler şu anda bulunmamaktadır (123).

Gebelik oluşumu oosit kalitesine de bağlıdır. Normal over rezervi olan hastalarda da gebelik oluşmayabilir. Kötü cevaplı hastalar düşük olasılıkla da olsa gebe kalabilirler. Bu hastalarda başlangıç gonadotropin dozunu artırarak gebelik hızını artırıp artırmayacağı araştırılmaktadır. Bu konuda daha geniş ve daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır ( 141,142,143,144,145,146).

AMH erken foliküler aşamada granülosa hücreleri tarafından salgınır. AMH düzeylerinin düşük olması granülosa hücrelerinden salgınımında yetersizlikle ilişkili olabilir ve gametin geri dönüşümsüz bir şekilde hasarına neden olabilir.



Ebner ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, tedavi sırasında gerek düşük ve gerekse de aşırı ovarian yanıt veren olguların azalmış oosit kalitesi ile ilişkili olabileceğini ileri sürdüler. Düşük AMH düzeyine sahip olan olgularda, oosit matürasyonunun erken aşamalarında meydana geldiği düşünülen koyu santral granülasyon anomalisinin daha fazla görüldü. AMH düzeyi normal saptanan grupta ise daha ileri oosit gelişimini etkilemeyen sitoplazmik inklüzyonlar daha sık görüldü. AMH düzeyi yüksek olan grupta ise düz endoplazmik retikulum sayısında artış saptadılar (147).

Çalışmamızda tedavi sırasında elde edilen matür oositlerin morfolojik özelliklerini de değerlendirdik. Gebelik oluşumu üzerine de etkili olduğunu düşündüğümüz oosit kalitesiyle AMH düzeyi arasında ilişkiyi değerlendirdik. AMH düzeyi düşük ve yüksek olan gruplar arasında GPVS anomalisi dışında oosit morfolojileri arasında bir fark görmedik.

Sonuç olarak IVF tedavi siklusu sırasında over cevabını belirlemede bazal AMH düzeylerinin yol gösterici olduğunu gördük. AMH'nun tedavi sırasında elde edilecek oosit sayısı, matür oosit sayısı, fertilize olacak oosit sayısını öngörmeye yararlı olduğunu, ancak oosit kalitesi ve gebelik oluşumunu değerlendirmede yararlı olmadığını gördük. Bunun nedeni olarak ise gebelik oluşumunun oosit kalitesi yanında embriyo kalitesi, transfer tekniği ve endometrial reseptivite gibi faktörlerden de etkilenmesi olabilir (148). Ayrıca erkek faktörü nedeniyle tedaviye alınan hastalarda sperm özellikleri de başarıyı etkilemektedir. Bu nedenle bu alanda daha fazla olgu içeren ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Halen yardımcı üreme tekniklerinin başarısının artırılması için çalışmalar devam etmektedir. Gebelik oluşumunda etkili olan faktörlerin saptanması tedavinin başarı şansını daha da artıracaktır.

## KAYNAKLAR

1. Speroff L, Glass N. H, Kase R.G. Clinical Gynaecologic Endocrinology and Infertility. 7 th edition. 2005: 1013,1024
2. Chandra A, Mosher W.D. The demography of infertility and the use of medical care for infertility, Infert Reprod Med Clin North Am. 5: 283-296
3. Maroulis G.B. Effect of aging on fertility and pregnancy, Seminars Reprod Endocrinol. 1991; 9: 165.
4. Hull M.G, Fleming C.F. 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; 65:783
5. Ziebe S, Loft A. Embryo quality and developmental potential is compromised by age, Acta Obstet Gynecol Scand . 2001; 80:169
6. Centers for Disease Control and Prevention, American Society for Reproductive Medicine, Society for Assisted Reproductive Technology, RESOLVE, 2001 assisted reproductive technology success rates, Centers for Disease Control and prevention, 2003 , Atlanta, GA.
7. Hull M. G, Glazener C.M. Population study of causes, treatment and outcome of infertility, Br Med J. 1985; 291:1693
8. Bostofte E, Bagger P, Michael A. Fertility prognosis for infertile couples, Fertil Steril. 1993; 59: 102
9. Collins J.A, Burrows E.A. The prognosis for live birth among untreated infertile couples, Fertil Steril .1995;64 :22
10. Stillman R.J, Rosenberg M.J. Smoking and reproduction, Fertil Steril. 1986; 46:545
11. Bolumar F, Olsen J. Smoking reduces fecundity: a European multicenter study on infertility and subfecundity. The European Study Group on Infertility and Subfecundity, Am J Epidemiol .1996; 143:578

12. Berek J.S. Berek & Novak's Gynecology. Fourteenth Edition. 2007: 1191
13. World Health Organization, Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus interaction. Fourth edition.1999
14. Kruger T.F, Acosta A.A. Predictive value of abnormal sperm morphology in in vitro fertilization, Fertil Steril .1988; 46: 1118-1123
15. Luciano A.A ,Peluso J. Temporal relationship and reliability of the clinical, hormonal and ultrasonographic indices of ovulation in infertile women, Obstet Gynecol .1990; 75:412-416
16. Guida M, Tommaselli G.A. Efficacy of methods for determining ovulation in a natural family planning program, Fertil Steril. 1999; 72: 900-904
17. Miller P.B., Soules M.R. The usefulness of a urinary LH kit for ovulation prediction during menstrual cycles of normal women, Obstet Gynecol .1996; 87:13
18. Martinez A.R, Bernardus R.E. Time schedules of intrauterine insemination after urinary luteinizing hormone surge detection and pregnancy results, Gynecol Endocrinol. 1994; 8:1
19. de Crespigny L.C, O'Herlihy C. Ultrasonic observation of the mechanism of human ovulation, Am J Obstet Gynecol.1981;139:636
20. Echochard R, Marret H. Sensitivity and specificity of ultrasound indices of ovulation in spontaneous cycles, Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2000;91:59
21. Eggert Kruse W, Reimann Andersen J. Clinical relevance of sperm morphology assessment using strict criteria and relationship with sperm-mucus interaction in vivo and in vitro, Fertil Steril.1995;63:612
22. Katz DF, Slade DA. Analysis of preovulatory changes in cervical mucus hydration and sperm penetrability, Adv Contracept. 1997;13:143
23. Brown SE, Coddington CC. Evaluation of outpatient hysteroscopy, saline infusion hysterosonography and hysterosalpingography in infertile women:a prospective, randomized study, Fertil Steril. 2000;74:1029-1034
24. Mooney SB, Milki AA. Effect of hysteroscopy performed in the cycle preceding controlled ovarian hyperstimulation on the outcome of in vitro fertilization, Fertil Steril. 2003;79:637-638
25. Kupesic S, Kurjak A. Screening for uterine abnormalities by three-dimensional ultrasound improves perinatal outcome, J Perinat Med. 2002;30:9-17
26. Norayan R.Rojat, Goswomy K. Treatment of submucous fibroids, and outcome of assisted conception, J Am Assoc Gynecol Laparosc. 1994;1:307-311

27. Krynicki E, Kominski P. Comprasion of hysterosalpingography with laparoscopy and chromopertubation, J Am Assoc Gynecol Laparosc. 1996;3:22-23
28. Reis MM, Soares SR. Hysterosalpingo contrast sonography with SHU454(Echovist) for the assesment of tubal patency, Hum Reprod. 1998;13:3049-3052
29. Soares SR, Barbosa dos Reis MM. Diagnostic accuracy of sonohysterography, transvaginal sonography and hysterosalpingography in patients with uterine cavity diseases, Fertil Steril. 2000;73:406-411
30. Alataş C, Aksoy E. Evaluation of intrauterine abnormalities in infertile patients by sonohysterography, Hum Rep. 1997;12:487-490
31. Fedele L. Transvaginal ultrasonography versus hysteroscopy in the diagnosis of uterine submucous myomas, Obstet Gynecol; 1991;77:745
32. Raga F, Bauset C. Reproductive impact of congenital Mullerian anomalies, Hum Reprod .1997;12:2277-2281
33. Homer HA, Li TC. The septateuterus: a review of management and reproductive outome, Fertil Steril. 2000;73:1-14
34. Goldenberg JM, Falcone T. Effect of diethylstilbestrol on reproductive function, Fertil Steril. 1999;72:1-7
35. Kaufman RH, Adam E. Upper genital tract changes and pregnancy outcome in offspring exposed i utero to diethylstilbestrol , Am J Obstet Gynecol. 1980;137:299-308
36. Outcome of IVF in DES-exposed daughters: experience in the 90s, J Assist Reprod Genet. 1997;14:513-517
37. Vollenhoven BJ, Lawrence AS. Uterine fibroids: a clinical review, Br J Obstet Gynecol. 1990;97:285
38. Eldar –Geva T, Meagher S. Effect of intramural, subserosal and submucosal uterine fibroids on the outcome of assisted reproductive technology treatment, Fertil Steril. 1998;70:687
39. Surrey ES, Lietz AK.İmpact of intramural leiomyomata in patients with a normal endometrial cavity on in vitro fertilization embryo transfer cycle outcome, Fertil Steril. 2001;75:405
40. Check JH, Choe JK. The effect on IVF outcome of small intramural fibroids not compressing the uterine cavity as determined by a prospective matched control study, Hum Reprod. 2002;17:1244

41. Hinckley MD, Milki AA. 1000 office-based hysteroscopies prior to IVF: Feasibility and findings, *JSLs*. 2004;8:103-107
42. Shalev J, Meizner I. Predictive value of transvaginal sonography performed before routine diagnostic hysteroscopy for evaluation of infertility, *Fertil Steril*. 2000;73:412-417
43. Lass A, Williams G. The effect of endometrial polyps on outcomes of IVF cycles, *J Assist Reprod Genet*. 1999;16:410-415
44. Al-Inany H. Intrauterine adhesions: An update, *Acta Obstet Gynecol Scand* . 2001;80:986
45. Ismajovich B, Lidar A. Treatment of minimal and moderate intrauterine adhesions, *J Reprod Med*. 1985;30:769-772
46. Rousseau S, Lord J. The expectancy of pregnancy for 'normal' infertile couples, *Fertil Steril*. 1983;40:768-772
47. Rosenfeld DL, Seidman SM. Unsuspected chronic pelvic inflammatory disease in the infertile female, *Fertil Steril*. 1983;39:44-48
48. 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
49. Toth A, Lesser ML. Subsequent pregnancies among 161 couples treated for mycoplasma genital tract infection, *N Engl J Med*. 1983;308:505-507
50. Crosignani PG, Collins J, Cooke ID. Recommendations of the ESHRE workshop on 'unexplained infertility', *Hum Reprod*. 1993;8:977
51. Marcoux S, Maheux R, and the Canadian Collaborative Group on Endometriosis. Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis, *New Engl J Med*. 1997;337:217
52. Guzick DS, Sullivan MW, Adamson GD. Efficacy of treatment for unexplained infertility, *Fertil Steril*. 1998;48:441-445
53. Corson SL, Cheng A, Gutmann JN. Laparoscopy in the 'normal' infertile patient: a question revisited, *J Am Assoc Gynecol Laparosc*. 2000;7:317-324
54. Teixeira J, Maheswaran S, Donahoe PK. MIH: an instructive developmental hormone with diagnostic and possible therapeutic applications, *Endocr.Rev*. 2001;22(5):657-674

55. Picard J.Y., Josso N. Purification of testicular AMH allowing direct visualization of the pure glycoprotein and determination of yield and purification factor, *Mol Cell Endocrinol.* 1984;34(1):23-29
56. Picard J.Y., Benarous R, Guerrier D, Josso N, Kahn A. Cloning and expression of cDNA for anti-müllerian hormone, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1986;83(15):5464-5468
57. Picon R. Action of the fetal testis on the development in vitro of the Müllerian ducts in the rat, *Arch Anat Microsc. Morphol.* 1969;58(1):1-19
58. I.A.J. van Rooij, F.J.M. Broekmans, E.R.te Velde, B.C.J.M. Fauser. Serum AMH levels: a novel measure of ovarian reserve, *Hum Reprod.* 2002;17(12):3065-3071
59. Paulson RJ, Sauer MV, Francis MM. IVF in unstimulated cycles; the University of Southern California experience, *Fertil Steril.* 1992;57:290
60. Claman P, Domingo M, Garner P. Natural cycle in vitro fertilization-embryo transfer at the University of Ottawa: an inefficient therapy for tubal infertility, *Fertil Steril.* 1993;60:298
61. Fahy M, Cahill DJ, Wardle PG. IVF in completely natural cycles, *Hum Reprod.* 1995;10:572
62. Ng EH, Chui DK, Tang OS. IVF and embryo transfer during natural cycles, *J Reprod Med.* 2001;46:95
63. Clark JH, Markaverich BM. The agonistic-antagonistic properties of clomiphene: a review, *Pharmacol Ther.* 1982;15:467
64. Dickey RP, Taylor SN, Rye PH. Future use of clomiphene in ovarian stimulation. A role for clomiphene in the 21st century? , *Hum Reprod.* 1998;13:2361
65. Messinis IE, Milingos SD. Future use of clomiphene in ovarian stimulation. Clomiphene in the 21st century, *Hum Reprod* 1998;13:2362
66. Ingerslev HJ, Hojgaard A. A randomized study comparing IVF in the unstimulated cycle with IVF following clomiphene citrate, *Hum Reprod.* 2001;16:696
67. Imani B, Eijkemans MJC, de Velde ER. Predictors of patients remaining anovulatory during clomiphene citrate induction of ovulation in normogonadotropic oligoamenorrheic infertility, *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:2361
68. Imani B, Eijkemans MJC, de Velde ER. A nomogram to predict the probability of live birth after clomiphene citrate induction of ovulation in normogonadotropic oligoamenorrheic infertility, *Fertil Steril.* 2002;77:91

69. Williams SC, Gibbons WE, Mausher SJ. Minimal ovarian hyperstimulation for IVF using sequential clomiphene citrate and gonadotropin with or without the addition GnRH- antagonist, *Fertil Steril*. 2002;78:1068
70. Toner JP, Brzyski RG, Oenninger S. Combined impact of the number of preovulatory oocytes and cryopreservation on IVF outcome, *Hum Reprod*.1991;6:284
71. Engel JB, Ludwig M, Felberbaum R. Use of cetorelix in combination with clomiphene citrate and gonadotrophins: a suitable approach to 'friendly IVF'? , *Hum Reprod*. 2002;17:2022
72. Schwartz M, Jewelewicz R, Dyrenfurth I, Tropper P. The use of human menopausal and chorionic gonadotropins for induction of ovulation. Sixteen years' experience at the Sloan Hospital for Women, *Am J Obstet Gynecol* .1980;138:801
73. Ho Yuen B, Pride S. Induction of ovulation with exogenous gonadotropins in anovulatory infertile women, *Seminars Reprod Endocrinol*. 1990;8:1861
74. Fluker MR, Urman B, MacKinnon M, Barrow SR. Exogenous gonadotropin therapy in World Health Organization Groups I and II ovulatory disorders. 1994;83:189
75. Dor J, Itzkowich DJ, Mashiach S. Cumulative conception rates following gonadotropin therapy, *Am J Obstet Gynecol*. 1980;136:102
76. Balen AH, Braat DDM, West C. Cumulative conception and live birth rates after the treatment of anovulatory infertility: safety and efficacy of ovulation induction in 200 patients, *Hum Reprod*. 1994;9:1563
77. Meldrum DR, Wisot A, Hamilton F. Timing of initiation and dose schedule of leuprolide influence the time course of ovarian suppression, *Fertil Steril*.1988;50:400
78. Urbancsek J, Witthaus E. Midluteal buserelin is superior to early follicular phase buserelin in combined gonadotropin-releasing hormone analog and gonadotropin stimulation in IVF, *Fertil Steril*.1996;65:966
79. Olivennes F, Cunha-Filho JS, Fanchin R. The use of GnRH antagonist in ovarian stimulation, *Hum Reprod*.2002;8:279
80. Albano C, Felberbaum RE, Smits J. Ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone releasing hormone-antagonist cetorelix and the LHRH-agonist buserelin. European Cetorelix Study Group, *Hum Reprod*. 2000;15:526
81. Albano C, Felberbaum RE, Ludwig M. Ovarian stimulation for assisted reproduction with HMG and concomittant midcycle administration of the GnRH

antagonist cetrorelix according to the multiple dose protocol: a prospective uncontrolled phase III study, *Hum Reprod.* 2000;15:1015

82. Ludwig M, Katalinic A, Diedrich K. Use of GnRH antagonists in ovarian stimulation for assisted reproductive technologies compared to the long protocol, *Arch Gynecol Obstet.* 2001;265:175

83. The Ganirelix Dose-Finding Study Group, A double-blind, randomized, dose-finding study to assess the efficacy of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist-ganirelix to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone, *Hum Reprod.* 1998;13:3023

84. Albano C, J, Camus M, Riethmüller-Winzen H. Comparison of different doses of gonadotropin-releasing hormone antagonist cetrorelix during controlled ovarian hyperstimulation, *Fertil Steril.* 1997;67:917

85. Diedrich K, Diedrich C, Santos E. Suppression of the endogenous luteinizing hormone surge by the GnRH antagonist cetrorelix during ovarian stimulation, *Hum Reprod.* 1994;9:788

86. Olivennes F, Belaisch-Allart J, Emperaire JC. Prospective, randomized, controlled study of IVF- embryo transfer with a single dose of a LHRH antagonist or a depot formula of an LHRH agonist, *Fertil Steril.* 2000;73:314

87. Born G, Mannaerts B. Treatment with the GnRH antagonist ganirelix in women undergoing ovarian stimulation with r-FSH is safe, effective and convenient : results of a controlled, randomized, multicentre trial. The European Orgalutran Study Group, *Hum Reprod.* 2000;15:1490

88. Fluker M, Grifo J, Leader A. Efficacy and safety of ganirelix acetate versus leuprolide acetate in women undergoing COH, *Fertil Steril.* 2001;75:38

89. Padilla SL, Dugan K, Maruschak V. Use of the flare-up protocol with high dose human follicle stimulating hormone and human menopausal gonadotropins for IVF in poor responders, *Fertil Steril.* 1996;65:796

90. Garcia JE, Padilla SL, Bayati J. Follicular phase gonadotropin-releasing hormone agonist and human gonadotropins: a better alternative for ovulation induction in IVF, *Fertil Steril.* 1990;53:302

91. Karande V, Morris R, Rinehart J. Limited success using the 'flare' protocol in poor responders in cycles with low basal FSH levels during IVF, *Fertil Steril.* 1997;67:900



92. Karacan M, Erkan H, Karabulut O. Clinical pregnancy rates in an IVF program. Use of flare-up protocol after failure with long regimens of GnRH-a, *J Repr Med.* 2001;46:485
93. Ron-El R, Herman A, Golan A. Ultrashort gonadotropin-releasing hormone agonist protocol in comparison with the long-acting GnRH-a protocol and menotropin alone, *Fertil Steril.*1992;58:1164
94. Tan SL, Maconochie N, Doyle P. Cumulative conception and live-birth rates after IVF with and without the use of long, short and ultra-short regimens of the GnRH-a buserelin, *Am J Obstet Gynecol.*1994;171:513
95. Del Marek MA, Langley M, Gardner DK. Introduction of blastocyst culture and transfer for all patients in an in vitro fertilization program, *Fertil Steril.* 1999;72:1035-1040
96. Gardner KD, Lane M, Stevens J. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer, *Fertil Steril.* 2000;73:1155-1158
97. Mansour RT, Aboulghar MA, Serour GI. Dummy embryo transfer using methylene blue dye, *Hum Reprod.* 1994;9:1257-1259
98. Wood EG, Batzer FR, Go KJ. Ultrasound-guided soft catheter embryo transfers will improve pregnancy rates in IVF, *Hum Reprod.* 2000;15:107-112
99. Wisanto A, Janssens R, Deschacht J. Performance of different embryo transfer catheters in a human IVF program, *Fertil Steril.* 1989;52:79-84
100. Moore DE, Soules MR, Klein NA. Bacteria in the transfer catheter tip influence the live-birth rate after IVF, *Fertil Steril.* 2000;74:1118-1124
101. Egbase PE, al-Sharhan M, al-Othman S. Incidence of microbial growth from the tip of the embryo transfer catheter after embryo transfer in relation to clinical pregnancy rate following IVF and embryo transfer, *Hum Reprod.* 1996;11:1687-1689
102. Society for Assisted Reproductive Technology; American Society for Reproductive Medicine. Assisted reproductive technology in the United States :2000 results generated from the American Society for Reproductive Medicine/ Society for Assisted Reproductive Technology Registry, *Fertil Steril.* 2004;81:1207-1220
103. Homan G, Brown S, Moran J. Human chorionic gonadotropin as a predictor of outcome in ART pregnancies, *Fertil Steril.*2000;73:270-274
104. Scott RT and Hofmann GE. Prognostic assessment of ovarian reserve, *Fertil Steril.* 1995;63:1-11

105. Bukman A and Heineman MJ. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility, *Hum Reprod Update*.2001;7:581-590
106. Wallach EE. Pitfalls in evaluating ovarian reserve, *Fertil Steril*.1995;63:13-14
107. D.J.Hendriks, F.J.Broekmans, L.F.Bancsi. Single and repeated GnRH agonist stimulation tests compared with basal markers of ovarian response in the prediction of outcome in IVF, *J Assist Reprod Genet* .2005;22:65-73
108. T.Jain, M.R.Soules and J.A.Collins. Comprasion of basal FSH versus the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening , *Fertil Steril*.2004;82:180-185
109. I.A.Van Rooij, I.Tonkelaar, F.J.Broekmans.AMH is a promising predictor for the occurence of the menopausal transition, *Menopause*. 2004;11:601-606
110. I.A.Van Rooij, F.J.Broekmans, G.J.Scheffer .Serum AMH levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study, *Fertil Steril*.2005;83:979-987
111. R.Fanchin, L.M. Schonauer , C.Righini. Serum AMH dynamics during controlled ovarian hyperstimulation, *Hum Reprod*.2003;18:328-332
112. D.B.Seifer, D.T.MacLaughlin , B.P.Christian. Early follicular serum MIS levels are associated with ovarian response during ART cycles, *Fertil Steril*.2002;77:468-471
113. B.Vigier , D.Tran, L.Legeai. Origin of AMH in bovine freemartin fetuses, *J Reprod Fertil*. 1984;70:473-479
114. A.L. Durlinger, P. Kramer, B. Karels. Control of primordial follicle recruitment by anti-Mullerian hormone in the mouse ovary, *Endocrinology*.1999;140:5789-96
115. A.L. Durlinger, J.A.Visser and A.P.Themmen. Regulation of ovarian function: the role anti-Mullerian hormone, *Reproduction*.2002;124:601-609
116. C.Weenen, J.S Laven, A.R von Bergh. AMH expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment, *Mol Hum Reprod*.2004;10:77-83
117. M.E. Kevenaar, M.F. Meerasahib, P. Kramer. Serum AMH levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice, *Endocrinology*.2006;147:3228-3234
118. A.Gougeon . Caracteres qualitatifs et quantitatifs de la population folliculaire dans l'ovaire humaine adulte, *Contracept Fertil Sex*. 1994;12:527-535
119. A de Vet, J.S Laven, F.H. de Jong. AMH serum levels: a putative marker for ovarian aging, *Fertil Steril*. 2002;77:357-362

120. J.K. Hekenkamp, C.W.N. Loomans, A.P.N. Themmen. AMH levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation, *J Clin Endocrinol Metab.*2006;10:4057-4063
121. A.La Marca, G.Stabile, A.C. Arteniso and A.Volpe. Serum AMH throughout the human menstrual cycle, *Hum Reprod.*2006;21:3103-3107
122. C.Fıçıcıoğlu, T.Kutlu, Z.Bakacak. Early follicular AMH hormone as an indicator of ovarian reserve, *Fertil Steril.* 2006;85:592-596
123. Simone L.Broer B.Sc., Ben Willem J.Mol M.D., Dave Hendriks M.D. The role of AMH in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count, *Fertil Steril.*2009;91(3):705-14
124. C.H. de Koning, T.Benjamins, P.Harms. The distribution of FSH receptor isoforms is related to basal FSH levels in subfertile women with normal menstrual cycles, *Hum Reprod.* 2006;21:443-446
125. E.R. Klinkert , F.J. Brokmans, C.W.Looman. A poor response in the first IVF cycle is not necessarily related to a poor prognosis in subsequent cycles, *Fertil Steril.* 2004; 81:1247-1253
126. H. Lashen, W.Ledger, A.Lopez-Bernal and D.Barlow. Poor responders to ovulation induction: is proceeding to IVF worthwhile?, *Hum Reprod.* 1999;(14):964-969
127. J. Van Disseldorp , M.J. Eijkemans, E.R. Klinkert. Cumulative live birth rates following IVF in 41-to 43 year old women presenting with favourable ovarian reserve characteristics, *Reprod Biomed Online* .2007;14:455-463
128. S. Muttukrishna , H. McGarrigle, R.Wakin. Antral follicle count , AMH and inhibin B: predictors of ovarian response in ART? , *Brit J Obstet Gynaecol.* 2005;112:1384-1390
129. A. Hazout , P. Bouchard, D.B. Seifer. Serum AMH appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than FSH, inhibin B, or estradiol, *Fertil Steril.* 2004;82:1323-1329
130. Chuang CC, Chen CD, Chao KH. Age is a better predictor of pregnancy potential than basal FSH levels in women undergoing IVF, *Fertil Steril.* 2003;79:63-8
131. Van Rooij IAJ, Broekmans FJM, te Velde ER, Fauser BCJM, Bancsi LFJMM, de Jong FH. Serum AMH levels: a novel measure of ovarian reserve, *Hum Reprod.*2002;17:3065-71

132. L.F.Bancsi, F.J. Broekmans,B.W. Mol. Performance of basal follicle stimulating hormone in the prediction of poor ovarian response and failure to become pregnant after IVF: a meta-analysis, *Fertil Steril*.2003;79:1091-1100
133. Dorothea M.Wunder M.D, Jean Guibourdenche Ph.D., Nick A.Bersinger Ph.D. AMH and inhibin B as predictors of pregnancy after treatment by IVF/ ICSI, *Fertil Steril*. 2008;90(6):2203-10
134. J.S.Laven, A.G.Mulders, J.A. Visser. AMH serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age, *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:318-323
135. D.N. Lekamge, M.Barry, M.Kolo. AMH as a predictor for IVF outcome, *Reprod Biomed Online*.2007;14:602-610
136. J.M Smeenk, F.C. Sweep,G.A Zielhuis. AMH predicts ovarian responsiveness, but not embryo quality or pregnancy, after IVF or ICSI, *Fertil Steril*.2007;87:223-226
137. T.Eldar-Geva, A.Ben-Chetrit, I.M.Spitz. Dynamic assays of inhibin B, AMH and estradiol following FSH stimulation and ovarian ultrasonography as predictors of IVF outcome, *Hum Reprod*. 2005;20.3178-3183
138. Andre Hazout, M.D., Philippe Bouchard , M.D., David B. Seifer, M.D.Serum AMH appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than FSH, inhibin B, or estradiol, *Fertil and Steril*. 2004;82(5):1323-1329
139. T.Silberstein, D.T. MacLaughlin, I. Shai. MIS levels at the time of HCG administration in IVF cycles predict both ovarian reserve and embryo morphology, *Hum Reprod*. 2006;21:159-163
140. Chie Takahashi M.D., Atsuya Fujito M.D., Masahiro Kazuka M.D. AMH substance from follicular fluid is positively associated with success in oocyte fertilization during IVF, *Fertil Steril*. 2008;89(3):586-591.
141. Seifer D.B, Lambert –Messerlian G, Hogan J.W. Day 3 serum inhibin B is predictive of assisted reproductive technologies outcome, *Fertil Steril*.1997;67(1):110-114
142. Banesi L.F., Broekmans F.J., Eijkemans M.J. Predictors of poor ovarian response in IVF: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve, *Fertil Steril*.2002;77:328-336.

143. Hall J.E., Welt C.K and Cramer D.W. Inhibin A and inhibin B reflect ovarian function in assisted reproduction but are less useful predicting outcome, Hum Reprod. 1999;14:409-415
144. Sharif K.,Elgendy M., Lashen H. Age and basal follicle stimulating hormone as predictors of IVF outcome, Br. J.Obstet. Gynaecol.1998;105:107-112
145. Bancsi L.F., Huijs A.M. den Quden, C.T. Broekmans. Basal FSH hormone levels are of limited value in predicting ongoing pregnancy rates after IVF, Fertil Steril.2000;73:552-557
146. Land J.A., Yarmolinskaya M.L.,Dumoulin J.C. High dose human menopausal gonadotropin stimulation in poor responders does not improve IVF outcome, Fertil Steril.1996;65:961-965
147. T. Ebner, M. Sommergruber, M. Moser. Basal level of anti-Müllerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles, Hum Reprod. 2006;21(8):2022-2026
148. C.M. Boomsma and N.S Macklon. What can the clinician do to improve implantation?, Reprod Biomed Online. 2006;13:845-855

