



T.C.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**İN VİTRO FERTİLİZASYON (IVF) YAPILAN NORMAL VE
DÜŞÜK OVARYAN YANITLI HASTALARDA SERUM
VE FOLLİKÜLER SIVILARINDA OKSİDATİF STRES
PARAMETRELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Roujin AKBARİHAMED

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Erhan DEMİRDAĞ

ANKARA

MAYIS 2023



T.C.

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**İN VİTRO FERTİLİZASYON (IVF) YAPILAN NORMAL VE
DÜŞÜK OVARYAN YANITLI HASTALARDA SERUM
VE FOLLİKÜLER SIVILARINDA OKSİDATİF STRES
PARAMETRELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Roujin AKBARİHAMED

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Erhan DEMİRDAĞ

ANKARA

MAYIS 2023

TEŞEKKÜRLER

Uzmanlık eğitimim süresince içten ilgi ve yardımlarını gördüğüm, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım ve tezimin tüm aşamalarında desteğini gördüğüm hocam Sayın Doç.Dr. Erhan DEMİRDAĞ'a, bilgi ve deneyimleri ile yetişmemde büyük katkı ve emekleri bulunan tüm hocalarıma, tezimin hazırlanmasındaki katkıları nedeniyle Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Prof Dr. Cengiz Karakaya'ya ve Biyokimya laboratuvarı teknisyenlerine, Asistanlığım süresince gece gündüz demeden, büyük bir keyifle birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nın tüm hemşire ve personellerine, beni büyüten, sabırla destekleyen anne ve babama, her koşulda yanımda olan canım kardeşim Raha'ya ve ablama, Uzmanlık eğitimim sırasında hayatıma giren bana değer katan ve her anlamda destek olan sevgili Sertaç'a

Sevgi ve teşekkürlerimi sunarım...

Dr.Roujin AKBARİHAMED

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜRLER.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR	iv
TABLolar DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER ve GRAFİKLER	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 İnfertilite	3
2.1.1. İnfertilite Sebepleri.....	3
2.1.2. İnfertilite Patofizyolojisi.....	4
2.1.3. İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi.....	7
2.1.4 Overyan Rezerv Testleri.....	12
2.2 İn Vitro Fertilizasyon (İVF)	13
2.2.1 invitrofertilizasyon tanımı	13
2.2.2. Kontrollü Overyan Hiperstimulasyon Protokolleri	14
2.2.3 Yumurta Toplama İşlemi (Oosit Pick Up -OPU).....	14
2.3 Folikül Sıvısı, oosit mikroçevresi ve biyobelirteçler.....	15
2.3.1 Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	16
2.3.2 Fertilizasyonda Oksidatif Stresin Rolü.....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. Hastaların Seçimi.....	27
3.2. Serum elde edilmesi ve hazırlanması	28
3.3. Folikül Sıvısı ve Serumda Araştırılan Parametrelerin Tayini	28
3.4. Çalışma Ölçütleri.....	30

3.4.1. İstatiksel Analiz	30
4. BULGULAR	31
5. TARTIŞMA.....	39
6. SONUÇ	44
7. KAYNAKLAR.....	47
8. ÖZET.....	54
9. SUMMARY	56



KISALTMALAR

AFC	: Antral folikül hücresi
AFS	: Antral folikül sayısı
AMH	: Antimüllerian hormon
ASRM	: American Society for Reproductive Medicine
ART	: Assisted Reproductive Technology
AT2	: Anjiotensin 2
BMP-15	: Kemik morfogenetik protein – 15
CC	: Klomifen sitrat
DOY	: Düşük ovaryan yanıtı
E2	: Estradiol
FKA	: Fetal kalp atımı
FS	: Foliküler sıvı
FSH	: Foliküler stimüle edici hormon
GH	: Growth Hormone, Büyüme Hormonu
GNRH	: Gonadotropin salıcı hormon
H2O2	: Hidrojen peroksid
HCG	: Human chorionic gonadotropin
HCY	: Homosistein
HSG	: Histerosalpingografi
ICSI	: intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu
IGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
İVF	: İnvitro fertilizasyon
KOH	: Kontrollü ovaryen hiperstimülasyon
LH	: Lüteinize hormon
M2	: Metafaz 2
MDA	: Malondialdehit
NADPH	: nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
NO	: Nitrit oksid

NOY	: Normal ovaryan yanıtı
OMI	: Oosit olgunlaşma inhibitörü
OPU	: Oosit pick up , Yumurta Toplanması
OS	: Oksidatif stres
OSİ	: Oksidatif stres indeksi
PİD	: Pelvik inflamatuvar hastalık
PKOS	: polikistik over sendromu
PN	: Pronükleus
PRL	: Prolaktin
ROT	: Reaktif oksijen türevleri
SeGPx	: Selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz
SOD	: Süper oksit dismutaz
TAA	: Total antioksidan kapasite
TAK	: Total Antioksidan kapasite
TAK	: Total antioksidan kapasitesi
TAOP	: Total antioksidan güç
TAS	: Total antioksidan seviyesi
TOS	: Total oksidan seviyesi
TSH	: Tiroid uyarıcı hormon
TVUSG	: Transvajinal ultrasonografi
VKİ	: Vücut kitle indeksi
WHO	: Dünya sağlık örgütü
YÜT	: Yardımcı üreme teknikleri

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Normal Spermiyogram Parametreleri	11
Tablo 2: Çalışmaya Katılan Hastaların Yaş, VKİ, AMH, AFC, Parite Ve İnfertilite Tiplerinin Karşılaştırılması	31
Tablo 3: Her İki Grup Arasında Toplam Oosit Sayısı, Toplam M2 Oosit Sayısı, 2 Pn Sayısı, Matürasyon Oranı, Fertilizasyon Oranı, Embriyo Kalitesi Ve Klinik Gebelik Değerlerinin Karşılaştırılması	32
Tablo 4: Gruplar Arasında Serum Ve Folikül Sıvılarındaki Tas, Tos Ve Osi Düzeylerinin Karşılaştırılması	33
Tablo 5: NOY Hasta Grubunda Embriyo Kalitelerine Göre Folikül Sıvısında Ve Serumda Toplam Oosit Sayısı, Toplam M2 Oosit Sayısı, 2 Pn Sayısı, Tos, Tas, Osi Değerlerinin Karşılaştırılması	34
Tablo 6: DOY Grubunda Embriyo Kalitelerine Göre Folikül Sıvısında Toplam Oosit Sayısı, Toplam M2 Oosit Sayısı, 2 Pn Sayısı, Tos, Tas, Osi Değerlerinin Karşılaştırılması	35
Tablo 7: NOY Grubunun Gebelik Sonuçlarına Göre Folikül Sıvıda Ve Serumda Toplam Oosit Sayısı, Toplam M2 Oosit Sayısı, 2 Pn Sayısı, Tos, Tas, Osi Değerlerinin Karşılaştırılması	35
Tablo 8: DOY Hasta Grubunun Gebelik Sonuçlarına Göre Folikül Sıvısında Ve Serumda Toplam Oosit Sayısı, Toplam M2 Oosit Sayısı, 2 Pn Sayısı, Tos, Tas, Osi Değerlerinin Karşılaştırılması	36
Tablo 9: Gebelik Elde Eden DOY Hastalarda Serum Tas İle Diğer Parametrelerin Korelasyonu	37
Tablo 10: Gebelik Elde Eden DOY Hastalarda Serum Amh İle Diğer Parametrelerin Korelasyonu	38

ŞEKİLLER ve GRAFİKLER

Şekil 1:Fertilizasyonda Oksidatif Stresin Rolü 25

Grafik 1. Serum Tas Ve Osi Korelasyon Grafisi..... 37



1. GİRİŞ

İnfertilite, 1 yıl süre ile herhangi bir korunma yöntemi uygulanmadan ve düzenli cinsel ilişkide bulunulmasına rağmen gebelik olmaması durumudur(1). İnfertilite problemi üreme çağındaki çiftlerin yaklaşık %10-15'ini etkileyen bir problemdir.

İn vitro fertilizasyon (İVF) tedavisinde fertilizasyon, implantasyon ve klinik gebelik başarısını arttıran pek çok parametre tanımlanmıştır. Oosit, gelişimi esnasında granuloza hücreleri ve foliküler sıvı ile çevrilidir. Foliküler sıvıdaki pek çok maddenin düzeyinin oosit gelişimini ve fertilizasyonu etkilediği bulunmuştur. Foliküler sıvıdaki oksidatif stres parametreleri ve bunlara etki eden antioksidan ve oksidan parametreler hem oosit kalitesine hem fertilizasyon başarısına etki ederek İVF (İn vitro fertilizasyon) tedavisinde başarı şansını tahminde yardımcı olarak kullanılabilecek parametrelerdir.

Vücudumuzda gelişen birçok biyokimyasal olayda rol üstlenen ve doku hasarı oluşturan oksidatif strese karşı en önemli savunma mekanizması antioksidan kapasitedir. Vücudun antioksidan kapasitesine en büyük katkıyı plazmadaki antioksidan moleküller sağlamaktadır. Plazma ve serumda bulunan ve antioksidan kapasitesi olan suda çözünen molekülleri yansıtan total antioksidan kapasitenin (TAK) ölçümü tüm antioksidan durumunun değerlendirilmesi için uygun bir biyokimyasal parametre özelliği taşır. Folikülogenez, ovulasyon, korpus luteumun devamı gibi basamaklarda ve sonrasında embriyo gelişimi, implantasyon, gebeliğin devamı ve fetal ve neonatal kayıplara yol açabilecek bazı

anomalilere yol açabilen oksidatif stresle mücadele için TAK (total antioksidan kapasitenin)'nin düzeylerinin yeterli olması gerekmektedir.

Bu çalışmada amaç;

1. İnfertilite nedeniyle İVF tedavisine giden normal ve düşük ovaryan yanıtı hastalardan elde edilen serum ve folikül sıvısında total antioksidan status (TAS) ve total oksidan status (TOS) düzeylerini ölçmek,

2. Normal ve düşük ovaryan yanıtı hasta grupları arasında total oksidan ve antioksidan parametrelerin ilişkisini ortaya koymak,

3. Araştırılan parametreler ile fertilizasyon, oluşturulan embriyonun kalitesi, klinik gebelik gibi İVF başarısı arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmak,

Ovaryan yanıtı normal ve düşük olan hastaların serum ve folikül sıvısındaki TAS, TOS ve OSİ düzeylerinin embriyo kalitesi ve klinik gebelik üzerinde etkisinin tespit edilmesi, bu parametrelerin, İVF tedavisinde başarı şansını önceden belirlemede prediktif belirteç olarak kullanılabilirliği ve infertilite tedavisinde antioksidan ve oksidan destek tedavisine öncülük etme potansiyeli tartışılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 İnfertilite

Korunmasız cinsel ilişkiye rağmen 35 yaşından küçük kadınlarda 1 yıl içinde, 35 yaş üzerindeki kadınlarda ise 6 ay içinde gebeliğin oluşmaması olarak tanımlanan infertilite, çiftlerin %15'ini etkilemektedir. İnfertilite problemi olmayan bir çiftin her ovulatuvar siklus başına gebe kalabilme şansı %25 civarındadır. Daha önce gebeliği olmayan kadınlar primer infertil olup, geçirilmiş gebeliği olan kadınlar da sekonder infertildir. İnfertilite tedavisindeki bilimsel ve teknolojik gelişmeler başarı yüzdelerini gün geçtikçe daha da artırmıştır.

Yardımcı Üreme Teknikleri (YÜT= Assisted Reproductive Technology, ART) insan oositlerinin ve sperm hücrelerinin invitro fertilizasyonu sağlanarak embriyo elde edilmesi süreçlerinin tümünü kapsar. Gelişen bu teknolojiler çiftlerin çocuk sahibi olmasında önemli rol oynamaktadır (1). Otuzlu yaşların sonundaki kadınlarda infertilite görülme oranı % 25'e ulaşırken, 40 yaşından sonra fertilitede azalma daha hızlı olur (2).

2.1.1. İnfertilite Sebepleri

İnfertil çiftlerin yaklaşık % 85'inin tanımlanabilir bir nedeni vardır. İnfertilitenin en sık nedenleri ovulatuvar disfonksiyon, erkek faktörü ve tubal hastalıktır. İnfertil çiftlerin geri kalan% 15'inde "açıklanamayan infertilite" vardır. Obezite, sigara, çevresel faktörler ve yaşam tarzı doğurganlığı olumsuz yönde etkileyebilir (3).

İnfertilite nedenleri:

1. Açıklanamayan infertilite (%12-15)
2. Kadın faktörü (%40-45)
3. Tubal/Peritoneal Faktör (%15-30)
4. Ovulatuvar Bozukluklar(%25-40)
5. Servikal ve İmmünolojik Faktörler (%1-3)
6. Erkek faktörü (%25-40)

2.1.2. İnfertilite Patofizyolojisi

İnfertilite patofizyolojisi multifaktoriyel ve karmaşıktır. İnfertil çiftlerin yaklaşık % 15’inde birden çok neden bir arada saptanmıştır (4).

Yaşın artmasıyla birlikte oosit kalitesi ve rezervindeki azalma, doğurganlık seviyelerinde düşmeye neden olmaktadır. Over rezervindeki azalma folikül stimüle edici hormon (FSH) konsantrasyonunda yükselmeye neden olmaktadır. İnfertil hastalarda FSH yüksek değerleri de kötü prognoz göstergesi olarak kullanılmaktadır (5).

Ovulatuvar Bozukluklar

Kadına bağlı infertilitenin % 30-40’ını oluşturur. Anovulasyon, amenore ve adet düzensizlikleriyle kendini gösterir. İnfertil hastalarda ovulasyonun olup olmadığı mutlaka tespit edilmelidir. Anovulasyon tanısı koyulur ise ayırıcı tanıda hipotalamohipofizer bozukluklar, Polikistik Over Sendromu (PKOS), anoreksiya nervosa, prematür over yetmezliği, hipotiroidizm gibi hastalıklar düşünülmelidir.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), anovulatuvar hastaları aşağıdaki gibi sınıflandırmaktadır:

Hipogonadotropik Hipogonadizm (Grup I): Gonadotropin yetmezliği durumu olup, santral hipogonadizm veya hipotalamik amenore olarak da isimlendirilebilir. Hipotalamustan gonadotropin salıverici hormonda (GnRH) azalma veya GnRH uyarısına hipofizin yanıtsız kalması söz konusudur. Anovulasyon görülen kadınların %5-10' u bu gruba dâhildir.

Normogonadotropik Hipogonadizm (Grup II): Polikistik over sendromu bu gruptaki hastaların çoğunluğunu oluşturmaktadır. Vücut kitle indeksi (VKİ) PKOS hastalarının çoğunda yükselmiştir. Bu artışla beraber anovulasyon meydana gelir. Hastalarda genellikle düzensiz menstruel sikluslar (35-90 gün), obezite, oligo/amenore, hiperandrojenizm bulguları, hirsutismus mevcuttur. Subfertilite ve tekrarlayan gebelik kayıpları mevcuttur. Ultrasonografik değerlendirmede over korteksi altında perifere dizilmiş küçük foliküller (<10 mm) görülür. FSH/LH oranının LH (Luteinizan hormon) lehine döndüğü ve adrenal, prolaktin, tiroid hormonlarında yükselme görülebilir.

Hipergonadotropik hipogonadizm (Grup III): Gonadotropinlerin düzeyi artmış ve over rezervi düşük (primordial folikül sayısı düşük) prematür ovaryen yetmezliği olan hastalarda görülür (5).

Hiperprolaktinematik Anovulasyon: Hiperprolaktinemi oligomenoreik kadınların % 10-20 'sinde görülür. Negatif feedback ile GnRH salgısında azalmaya yol açarak hipogonadizme neden olur. Yaklaşık % 2-5'inde primer

hipotiroidi görüldüğü için ayırıcı tanıda serum tiroid stimulan hormon (TSH) düzeyine bakılmalıdır. Serum prolaktin düzeyinin üst sınırı 35-40 ng /ml dir. Hiperprolaktinematik anovulasyon tedavisinde dopamin agonistleri kullanılır.

Tubaperitoneal Bozukluk

Pelvik inflamatuvar hastalık (PID), ektopik gebelik, endometriozis, tubal cerrahi pelvik adhezyon için risk faktörleri olarak sayılmaktadır. Bir kez akut PID geçirenlerde %10-12, iki epizod sonrası %23-25 ve üç epizod sonrası %54–75 oranında tubal infertilite oluşmaktadır.

Uterin Anomali

Konjenital uterin anomalilerde genellikle ilk ve ikinci trimesterde gebelik kaybı meydana gelmekle birlikte blastokistin implante olduğu bölgede anomali mevcutsa implantasyonu da etkileyebilir. ASRM'nin 2021 Müllerian Anomali Sınıflandırmasına göre;

- Müllerian agenezisi
- Servikal agenezi
- Unikornuat uterus
- Uterus didelfis
- Septat uterus
- Bikornuat uterus
- Longitudinal vajinal septum
- Kompleks anomaliler
- Transvers vajinal septum görülebilir (6).

Servikal Bozukluk

Çiftlerin % 1-2'sinde infertilite nedeni olarak görülür(6).

2.1.3. İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi

İnfertil çiftlerin değerlendirilmesinde temel amaç; detaylı anamnez ve muayene ile tanıya gidilerek tedavi edilebilir sebeplere yönelik tedavilerin uygulanmasıdır (7).

Anamnez

Jinekolojik öyküde menstruasyon düzeni, önceki kontraseptif kullanımı, infertilite süresi, koitus sıklığı hakkında detaylı anamnez alınmalıdır. Ailede infertilite öyküsü, tekrarlayan abort, fetal anomali olması genetik bir temel olabileceğini düşündürür(8).

Tıbbi öyküde hiperprolaktinemi, hipertiroidi, hipotiroidi, hiperandrojenemi varlığı (hirsutizm, akantozis nigrikans, alopesi), polikistik over sendromu (PKOS), konjenital adrenal hiperplazi, özellikle reproduktif potansiyeli etkileyen herhangi bir hastalık olup olmadığı sorgulanmalıdır. Over rezervini ve fertilitiyi önemli ölçüde etkileyen kemoterapi, radyoterapi öyküsü araştırılmalıdır.

Cerrahi öyküsünde pelvik ve abdominal operasyonlar, geçirilmiş uterin cerrahiler sorulmalı; rüptüre apandisit pelvik adezyonlara neden olabileceği için bu konuda hastadan bilgi alınmalıdır.

Alışkanlıklar ve ilaç kullanım öyküsünde hastanın özellikle ovulasyonu kötü yönde etkileyebilecek nonsteroid antiinflamatuvar ilaç ve bitkisel ilaç kullanımı olup olmadığı öğrenilmelidir. Hastanın yaşam şekli, mesleği, çevresel faktörler, sigara ve alkol kullanma alışkanlığı, kafein, esrar, vb. kullanımı sorgulanmalıdır.

Aile öyküsünde infertilite öyküsü, erken menapoz, doğumsal anomaliler, mental retardasyon, fetal anomali sorgulanmalıdır.

Fizik Muayene

İnfertilite nedeni ile başvuran tüm hastalarda kilo, boy, tansiyon ölçümü yapılmalı, hirsutizm, alopesi, akne, akantozis nigrikans varlığına bakılmalı, tiroid ve meme muayenesi mutlaka yapılmalıdır.

Jinekolojik muayenede, serviksin durumu, uterusun şekli ve mobilitesi değerlendirilmelidir. Pelvik veya abdominal hassasiyet varlığına bakılmalıdır. Tüm hastalardan mutlaka servikal smear alınmalıdır.

Ultrasonografi

Transvaginal ultrason (TVUSG) noninvaziv ve kolay uygulanabilir önemli bir tanı aracıdır. Uterin kavite ve endometriumun değerlendirilmesinde, vakaların % 70'inde transabdominal USG'ye göre daha fazla bilgi verir. USG ile Müllerian sisteme ait konjenital anomaliler, intramural ve submüköz myomlar, endometrial polipler, endometriomalar veya dermoid kistler görülebilir (9).

Laboratuvar

İnfertil hastanın değerlendirilmesinde laboratuvar önemli yere sahiptir. Menstrüel siklusun 3. günü bazal serum FSH ve Estradiol (E2) seviyelerinin tüm infertil hastalarda değerlendirilmesi gerekmektedir. FSH ölçümünün, olguların ovulasyon indüksiyonuna vereceği cevabın değerlendirilmesinde etkili, gebelik elde etme oranlarıyla iyi bir uyum gösteren, over rezervini en iyi şekilde ortaya koyan test olduğu kabul edilmektedir.

FSH değerleri <15 mIU/ml olan olgularda gebelik oranlarının, >15 mIU/mL olan olgulara göre 2 kat bildirilmiştir. Bazal E2 seviyelerinin <40 ng/ml olması beklenir. Yüksek E2 seviyelerinin (>80ng/ml) elde edilen oosit sayısında ve gebelik oranlarında azalma ile birlikte olduğu gösterilmiştir (10).

Histerosalpingografi (HSG)

HSG, uterin kavitenin boyutu ve şekli hakkında bilgi vermektedir. Menstrüel kanama bittikten 2 -5 gün sonra yapılır. Serviksten girilerek uterus içine radyoopak maddenin verilmesi şeklinde yapılır. Opak madde buradan fallop tüplerine geçer. Fluoroskopi altında görüntüler kaydedilir(2). HSG ile uterin anomaliler ve intrauterin lezyonlar, distal tubal oklüzyon ve bu olgularda gebelik açısından prognostik önemi olan intratübal mukozal katlantılar değerlendirilebilir. Proksimal ve distal tubal tıkanıklık bulunup bulunmadığını açık biçimde gösterir. Tanısal faydasının yanında tedavi edici etkisi de bulunmaktadır (10).

Laparaskopi ve Histeroskopi

Hem diagnostik hem operatif amaçlı laparaskopi ve/veya histeroskopi yapılabilir. Pahalı ve invaziv yöntemlerdir. Histeroskopi uterin kavite hakkında, laparaskopi batin içi ve tubalar hakkında bilgi edinilmesini sağlar (10).

Erkek İnfertilitesinin Değerlendirilmesi

Dünya çapında yapılan çok merkezli bir çalışmada, infertil çiftlerinin % 30- 40'ında sadece erkek faktörü infertilite nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır (11).

Erkek infertilitesi değerlendirilirken, ilk ve temel tetkik spermiyogramdır. Değerlendirme; anamnez, fizik muayene ve ejakülatın laboratuvarında incelenmesini kapsar.

Klasik Semen Analizi; Erkek fertilizasyon potansiyelinin araştırılmasındaki ilk adım en az 4 hafta ara ile uygun yapılmış 2 semen analizi olmalıdır(12).

Mikroskopik değerlendirme sonucunda spermiyogram WHO (2021) parametrelerine göre yorumlanır (Tablo -1). (13)

Tablo 1: Normal spermiyogram parametreleri (13)

Değişken	Normal Parametre
Semen volümü (ml)	1.5
Total sperm sayısı	39 (milyon)
Sperm konsantrasyonu	15(milyon/ml)
Total motilite	40 (%)
Progressive motilite	32 (%)
Vitalite	58(%)
Sperm morfolojisi	4 (%)
pH	>7.2
Peroksidaz-pozitif lökosit	<1.0 (milyon / ml)
MAR testi	<50 (%)
Immunobead testi	<50 (%)
Seminal çinko	>2.4 (μ mol/ejakülat)
Seminal fruktoz	>13 (μ mol/ejakülat)
Seminal nötral glukozidaz	>20 (mU/ejakülat)

Açıklanamayan İnfertilite

İnfertil çiftlerin yaklaşık % 15'inde etiyolojik bir sebep bulunamamaktadır ve bu grup açıklanamayan infertil olarak tanımlanmaktadır.

2.1.4 Overyan Rezerv Testleri

1. **Bazal Estradiol:** Siklusun 2-5. günü ölçülen yüksek değerleri ($>80\text{ng/ml}$) hem kötü ovaryan yanıt hem de gebelik elde edilmesinde başarısız olunması ile yakından ilişkilidir(14).
2. **Bazal Serum FSH:** Siklusun 2-5. günü ölçülen Bazal FSH değerlerinin 10 IU/L 'un altında olmalıdır (15).
3. **İnhibin B:** $40\text{-}45\text{ pg/mL}$ altındaki ölçümlerde düşük foliküler cevabı gösterir (14).
4. **Klomifen Sitrat (CC) Stimülasyon Testi:** Test menstrual siklusun 3.gününde FSH düzeyleri ölçülmesinin ardından, 5. ile 9. günleri arasında 100 mg CC kullanılmasını takiben 10. günde FSH düzeyinin tekrar ölçülmesiyle yapılmaktadır. Bazal ve stimüle FSH düzeylerinin toplamının 26 IU/ml üzerinde olması olumsuz olarak yorumlanmıştır (14).
5. **Gonadotropin Salgılatıcı Hormon Agonisti Stimülasyon Testi:** Gonadotropin salgılatıcı hormon agonisti (GnRHa) uygulanması sonrasındaki ilk 24 saatte parlama (flare-up) etkisiyle E2 ve inhibin B seviyelerinde artış olmasını esas alan dinamik over rezerv testidir (15).
6. **Antral Folikül Sayısı (AFS):** 10 mm 'den küçük foliküllerin menstrüal siklusun başında sayılmasıyla uygulanan bir testtir. 4-10 arası yeterli, 3-6 arası kötü cevap ve gebelik elde edilmesinde başarısızlık olarak tanımlanmaktadır (16).

7. Over Hacmi: Stimüle olmamış overlerin TV-USG ile hacminin hesaplanmasına dayanmaktadır. Over hacmi $<3 \text{ cm}^3$ olması olumsuz prognostik faktördür.

8. Over Kan Akımı: TV-USG yardımıyla over stroması ve perifoliküler over dokusunun kan akımının doppler ile ölçülmesiyle hesaplanmaktadır. Düşük pulsatilite indeksinin yüksek gebelik oranını predikte ettiğini gösterilmiştir (17).

9. Antimülleryan Hormon (AMH): Başlıca primordial ve preantral foliküllerden salgılanmaktadır. Bazal AMH seviyelerinin 1.1 – 3 (ng/mL) arası olması IVF başarısına katkıda bulunmaktadır(18).

2.2 İn Vitro Fertilizasyon (İVF)

2.2.1 invitrofertilizasyon tanımı

IVF’ de temel prensip overlerin ekzojen olarak verilen gonadotropin ile kontrollü overyan hiperstimülasyonun ardından oositlerin toplanması, toplanan oositlerin laboratuvar ortamında fertilizasyonu ve oluşan embriyoların transservikal olarak transfer edilmesidir. Genel olarak IVF ile başarı oranı %30-40 civarındadır.

Kontrollü overyan stimülasyondaki amaç, iyi kalitede oositler elde etmek ve fazla sayıda folikül gelişimini sağlamaktır. Tedavi protokolleri kişiye özel olmalıdır ve hastanın yaşına, over rezervine, bazal FSH’ sına ve VKI ‘ne göre özelleştirilmelidir (19).

2.2.2. Kontrollü Overyan Hiperstimulasyon Protokolleri

GnRH agonist ya da antagonist protokoller ile overyan foliküller rekombinan gonadotropinler kullanılarak belirli boyuta getirilirler. Gonadotropin başlangıç dozunun belirlenmesinde dikkate alınması gereken ve over cevabını belirleyen başlıca faktörler; kadın yaşı, over rezervi, BMI, sigara ve önceki ovulasyon indüksiyonu ya da kontrollü over hiperstimülasyon (KOH)'a verilen cevaptır. Her ne kadar hem FSH hem de LH normal foliküler estrogen sentezi için gerekse de süperovulatuvar sikluslarda FSH tek başına kullanılsa bile estrogen üretimini sağlayabilmektedir. Rekombinan FSH kullanılarak overyan folikül boyutları 18-20 mm oluncaya kadar TV-USG ile hastalar monitörize edilir. 17-18 mm çapta en az iki folikül oluştuğunda trigger için hCG veya GnRH agonist yapılır. Tetiklemeden yaklaşık 34-36 saat sonrasında yumurta toplama işlemi yapılır (20).

2.2.3 Yumurta Toplama İşlemi (Oosit Pick Up -OPU)

Transvajinal USG eşliğinde lokal anestezi veya hafif genel anestezi altında OPU işlemi yapılmaktadır. 16-17 G'lik iğne ile foliküler sıvı ve oositler aspire edilir. Bu sırada yaklaşık 100-200 mmHg negatif vakum basıncı kullanılır. Her bir folliküle teker teker girilerek içeriği özel bir aspiratör yardımı ile ısıtılmış steril bir tüpe boşaltılır (21).

İntra-sitoplazmik Sperm Enjeksiyonu

İntra-sitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) tek bir spermin matür oosit sitoplazması içine enjekte edildiği bir tekniktir. Bu teknik IVF siklusunun bir parçası olarak uygulanır ve özellikle male faktör infertilitesi olan, konvansiyonel IVF ile sonuç alınamamış çiftlerde etkin bir tedavi yöntemidir.

2.3 Folikül Sıvısı, oosit mikroçevresi ve biyobelirteçler

Folikül sıvısı, teka ve granüloza hücrelerinin salgılarından ve foliküler sıvıya geçen kan plazma bileşenlerinden oluşur (22). Yumurta toplama sırasında folikül sıvısı oosit ile birlikte aspire edilir. Folikül sıvısının içeriğinin araştırılması oosit mikro çevresi hakkında fikir verebileceği için önem taşımaktadır.

Folikül sıvısı içeriği:

- Hormonlar: Gonadotropinler, büyüme hormonu (GH), prolaktin (PRL), östrojen, progesteron
- TGF-Beta ailesinin büyüme faktörleri: AMH, inhibin, aktivin, kemik morfogenetik protein-15 (BMP-15)
- Diğer büyüme faktörleri ve interlökinler: İnsülin benzeri büyüme faktörleri (IGF), amphiregülin, proinflamatuvar sitokinler
- Reaktif oksijen radikalleri ve antioksidan faktörler (melatonin, süperoksit dismutaz (SOD), selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz (SeGPx))
- Anti-apoptotik faktörler: sFAS, sFAS-L

- Proteinler, peptid ve aminoasitler: Alfa-fetoprotein, CEA, CA-125, CD44, alfa1-antitripsin, leptin, endotelin-2, oosit olgunlaşma inhibitörü (OMI), homosistein (HCY), beta-endorfin, laktoferrin, anjiyotensin 2 (AT2), prorenin, D-aspartik asit
- Şekerler: Hyalüronan, miyo- inositol
- Prostanoidler: Prostaglandin E2 ve F2 (PGE2, PGF2)
- Lipitler: HDL, LDL, trigliserit (23)

2.3.1 Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Serbest Radikaller

Dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektronu olan kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük reaktif atom ve moleküllere serbest radikal denir. İnflamasyon, alınan besin maddeleri, normal metabolizma, yaşlanma, hiperoksi, iskemi, radyasyon, kimyasal maddeler, sigara, ozon, azot dioksit ve ilaçlar gibi birçok uyarının etkisiyle oksidan adı verilen serbest radikaller açığa çıkarlar. Serbest radikallerin en önemli özelliği son derece reaktif olmalarıdır. Bu özelliklerinden dolayı karşılaştıkları atom ve moleküllerle kolayca reaksiyona girerek onları kararsız bir yapı haline dönüştürürler (24,25). Yaşam süreleri çok kısa olmasına rağmen oldukça reaktif yapıya sahip olan serbest radikaller, elektronu çiftleyebilmek için tüm hücre bileşenleri ile etkileşime girebilirler. Birçok fizyolojik olayda rol oynayan serbest radikaller, aşırı miktarda üretildiğinde veya antioksidan savunma sistemi yetersiz kaldığında biyomoleküller ve doku komponentlerine zarar verirler. Serbest radikaller hücrenin lipit, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki

ederler. Mitokondrideki aerobik solunum ve kapiller permeabiliteyi bozar, hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu arttırmırlar. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir (26). Oksijenin toksik etkisi yoktur ancak aerobik hücre metabolizması sırasında moleküler oksijen, ROT'ne dönüşür. Normal O₂ metabolizması sonucu oluşan süperoksit radikali (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidroksil radikali (OH⁻) ROT'lara örnektir. Fizyolojik şartlarda serbest oksijen radikalleri hücrede mitokondrial respirasyon, hücrenin sinyal iletim sistemi ve bakteri fagositozu, karaciğerde detoksifikasyon işlemleri gibi vücut için gerekli birçok fonksiyonun gerçekleşmesinde önemli rol oynar(27).

Antioksidanlar

Vücutta eksojen ya da endojen yol ile oluşan reaktif oksijen radikallerini ve bunların meydana getirdiğı hasarı önlemek için antioksidan savunma sistemleri vardır. Antioksidanlar değışik etki mekanizmalarına sahiptirler.

- 1) Onarıcı etki ile lipid, protein ve DNA gibi yapılarda olan biyolojik moleküler hasarı onarır.
- 2) Zincir kırıcı etki ile oksidanları bağlayarak, zincirlerini kırıp işlevlerini engeller, serbest radikal üreten kimyasal reaksiyonları durdurur.
- 3) Baskılayıcı etki ile oksidanlarla etkileşip onlara bir hidrojen aktararak etkinliklerini azaltır veya inaktif şekle dönüştürür; reaksiyon hızını azaltır.
- 4) Temizleme etkisiyle oksidanları enzimler aracılığıyla zayıf bir moleküle dönüştürür (28).

Antioksidanlar, endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilir:

Endojen Antioksidanlar

- a. Enzimatik antioksidanlar:** Aktif merkezlerinde bakır (Cu), çinko (Zn), manganez (Mn), demir (Fe⁺²), selenyum (Se) gibi metalleri içerirler. Düzeyleri genetik kontrol altındadır. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GSH R), glutatyon-S-transferaz enzimatik endojen antioksidanlardır.
- b. Non enzimatik antioksidanlar:** Melatonin, seruloplazmin, transferrin, miyoglobin, hemoglobin, ferritin, bilirubin, glutatyon, sistein, metiyonin, ürat, laktoferrin, albumin non enzimatik endojen antioksidanlara örnektir (29).

Eksojen Antioksidanlar

- a. Vitaminler:** α -tokoferol (vitamin E), β -karoten, askorbik asit (vitamin C), folik asit
- b. İlaçlar:** Ksantin oksidaz inhibitörleri, nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH), rekombinant SOD, nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar, demir redoks döngüsü inhibitörleri, demir şelatörleri, sitokinler, barbituratlar, nötrofil adezyon inhibitörleri
- c. Eser mineraller:** Selenyum

Oksidatif Stres

Organizmada serbest radikal oluştuğu zaman bu radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için antioksidan sistemler vardır. Serbest radikal oluşum hızı ile bunların antioksidan sistemler tarafından kaldırılma hızı bir denge içindedir. Bu denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme dengenin bozulmasına neden olur. Oksidatif stres (OS) olarak adlandırılan bu durum özetle, serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (30). OS proteinlere, membran lipitlerine, nükleik asitlere ve karbonhidratlar üzerine etki ederek organizmada birçok hasara neden olmaktadır.

Oksidatif Stresin Etkileri

- a. Oksidatif stresin proteinlere etkisi:** Proteinler aminoasitlerden oluşmaktadır. Serbest radikallerin özellikle duyarlı aminoasitler ile doğrudan etkileşimi sonucunda proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanmalar ve agregasyon meydana gelerek hasar oluşur. Proteinler oksidasyona uğradıkları zaman sekonder ve tersiyer yapılarında meydana gelen değişiklik sayesinde fonksiyonları etkilenir. Serbest radikaller, protein yapısındaki enzimlerin aktivitelerini değiştirir, membran taşıyıcı proteinlerini ve reseptör etkileşimlerini bozarlar (31).
- b. Oksidatif stresin membran lipitlerine etkisi:** Membran fosfolipidlerindeki çoklu doymamış yağ asitleri OS'e oldukça

duyarlıdır. Lipid peroksidasyonu; serbest radikaller tarafından başlatılan ve membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan böylece membran lipid yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarını bozan kimyasal bir olaydır (32) Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonlar şeklinde oluşur, organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan doymamış yağ asidi zincirlerinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılmasıyla başlar. Bunun sonucunda yağ asidi zinciri bir lipid radikali niteliği kazanır. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. En önemli peroksidasyon ürünü malondialdehittir (MDA). MDA membranlardan kolaylıkla difuze olarak, DNA yapısında yer alan nitrojen bazlarla reaksiyona girer ve mutajen, karsinojen, genotoksik etkiler gösterir. Sonuçta; oluşan yapısal hasarın şiddetine göre, plazma membranının akışkanlığında azalma, membran geçirgenliğinde değişme, membran potansiyelinde ve membrana bağlı enzimlerin aktivitesinde azalma gözlenir. Lizozomal ve mitokondrial membranları ilgilendiren ileri derecede lipid peroksidasyonu ile organel içeriğinin hücre içine salınması sonucunda proteoliz hızlanır ve doku hasarı şiddetlenir. Membran geçirgenliği bozulursa potasyum ve magnezyum iyonlarının konsantrasyonları değişir ve böylece protein sentezinde inhibisyon gerçekleşir (32).

- c. **Oksidatif stresin nükleik asitlere etkisi:** DNA'nın temel yapı taşı olan nükleotidin yapısı içinde yer alan purin ve pirimidin bazları oksijen radikallerinin etkilerini gösterdiği bölgelerdir. Serbest radikaller özellikle bu bazlarda mutasyona neden olurlar. Özellikle guanin bazının bu radikaller aracılığı ile hidroksilasyonu sonucunda DNA molekulunun yapısı değişmekte ve mutasyonlar ortaya çıkmaktadır (33).
- d. **Oksidatif stresin karbonhidratlara etkisi:** Özellikle glikoz, mannoz ve deoksi şekerler fizyolojik şartlarda otooksidasyona uğrayarak O_2 ve H_2O_2 'yi meydana getirirler. Okside glikoz, protein ile reaksiyona girer ve glikolizasyon ve glikasyon ürünleri oluşturur (34).

Total Antioksidan Status

Vücudun antioksidan kapasitesine en büyük katkıyı plazmadaki antioksidan moleküller sağlamaktadır. Plazma farklı kan bileşenlerini oksidatif hasara karşı koruyabildiği gibi, diyetle alınan antioksidanların vücudun diğer kısımlarına dağıtılmasını da sağlayabilir. İn vivo her bir antioksidanın katkısı onun etkinliğine ve biyolojik sıvılardaki konsantrasyonuna bağlıdır (35). Serum ve dokulardaki farklı antioksidan bileşiklerin çeşit olarak fazlalığı, bağımsız olarak her bir antioksidan bileşiğin ölçümünü nispeten zorlaştırmaktadır. İlave olarak ölçüm sırasında farklı antioksidanlar arasında etkileşim olmasından dolayı bu antioksidanların birinin diğerlerini hesaba katmadan ölçülmesi,

antioksidanların toplamının etkilerini doğru olarak yansıtmayabilir. Tek tek ölçüm aynı zamanda hem pahalı hem de zaman alıcıdır. Bundan dolayı tüm parametrelerin tek tek ölçümü yerine plazma ve serumda bulunan ve antioksidan kapasitesi olan suda çözünen molekülleri yansıtan total antioksidan kapasitenin (TAK) ölçümü tüm antioksidan durumunun değerlendirilmesi için uygun bir biyokimyasal parametre özelliği taşır (36,37). Total antioksidan aktivite (TAA), total antioksidan güç (TAOP), TAS terimleri de TAK yerine kullanılan sinonim kelimelerdir (38). Ürik asit, askorbik asit, albumin insan plazmasındaki TAS'a ana katkıyı sağlar. Çünkü bu moleküller kandaki diğer antioksidanlara (bilirubin, α - tokoferol, β -karoten gibi) nispeten yüksek konsantrasyondadır. Plazma ayrıca, transferrin ve seruloplazmin gibi demir tutucu antioksidan proteinlere ve direkt olarak radikalleri toplayabilen zincir kırıcı antioksidanlara da sahiptir Her bir antioksidanın, antioksidan defans sisteminde özel bir yeri olmasına rağmen, in vivo oksidatif hasara karşı organlara sinerjistik bir koruma sağlamak amacıyla birlikte etki etmesi özellikle önemlidir (39).

Total Oksidan Status

Vücutta çeşitli reaksiyonlarla oluşan birçok oksidan madde; singlet oksijen (1O_2), O_2^- , H_2O_2 , OH^- radikali ve nitrik oksit (NO) üretilmektedir. Bu oksidan maddelerin düzeyleri serum ve plazmada tek tek ölçülebilir fakat bunun oldukça maliyetli ve zaman alıcı olmasından dolayı son yıllarda kullanılan TOS, plazma ve vücut sıvılarındaki tüm oksidanların ölçümüne olanak sağlamaktadır. (40)

Oksidatif Stres İndeksi

Oksidatif stres indeksi (OSİ), total plazma TOS'un TAS'a oranıdır (TOS/TAS) ve oksidatif stress indikatörüdür (41). Plazma TAS, TOS, OSİ;

oksidasyon ve antioksidasyon arasındaki redoks balansı yansıtır. TAS, TOS ölçümü oksidatif durumun tahmini için yararlı testlerdir (42).

2.3.2 Fertilizasyonda Oksidatif Stresin Rolü

Vücutta fizyolojik koşullarda üretilen serbest radikaller antioksidan mekanizmalar ile dengelenmektedir. Bu dengenin oksidatif yöne kayması olarak tariflenen OS'nin infertilitede rol oynadığı öne sürülmektedir (42). Fizyolojik şartlarda reaktif oksijen radikalleri ovulasyon sürecinde folikül içerisinde üretilmektedir (43) ve bir miktar oksidatif stimulasyon oosit maturasyonu ve ovulasyon için gereklidir. Çeşitli oksidatif belirteçlerin düzeylerinin FS'da seruma göre daha düşük iken antioksidan belirteçlerin daha yüksek olması FS'nin oositi oksidatif hasardan koruyucu etkisinin olduğunu gösterir (44). Antioksidan bir enzim olan SOD, overde özellikle antral foliküllerin teka interna hücrelerinde bulunur (45). Bu nedenle teka interna hücreleri oosit maturasyonu sırasında oositi OS'den korur. OS durumunun oosit kalitesinde azalmaya sebep olabileceği gösterilmiştir. Açıklanamayan infertilitesi olan kadınların FS'da antioksidan enzim olan glutatyon peroksidaz düzeyinin azalmış olduğu rapor edilmiştir (43). Yang ve arkadaşları nonfragmente embriyolarda yüksek düzeyde oksidan özelliği olan hidrojen peroksit saptamışlardır (46). Yapılan bir çalışmada İVF tedavisine giden hastalarda fertil gruba göre lipid peroksidasyon düzeyleri artmış, serum vitamin A, C ve folikül sıvısı vitamin C ve glutatyon peroksidaz düzeyleri azalmıştır. Multivitamin ve mineral suplementasyonu alan grupta FS ve serumda lipid peroksidasyon düzeyleri azalmış, serum glutatyon peroksidaz, vitamin C ve E konsantrasyonları ve FS glutatyon peroksidaz ve vitamin C konsantrasyonları

artmıştır (47). A, C, E vitaminleri ve folat gibi antioksidan vitaminler, çinko ve bakır gibi mineraller kan ve dokulardaki oksidatif dengeyi korumak ve onarmak için önemlidirler (43,47). Bu antioksidanlar hücreleri, ROT'ların DNA, protein ve hücre membranı gibi yapılara olan zararına karşı korurlar (47). Antioksidanlar içerisinde bulunan demir bağlayan plazma glikoproteini olan transferrinin ROT oluşumunu suprese ettiği ve başarılı folikül gelişimi için önemli bir faktör olduğu bilinmektedir (48). Ayrıca yine antioksidanlardan askorbik asitin eksikliği karakteristik olarak overyan atrofiye, yoğun foliküler atreziye, erken mayotik bölünmeye neden olabilir. Diğer antioksidan enzimler (katalaz vb) ve enzimatik olmayan antioksidanlar (E vitamini vb) ROT yapımını engelleyerek veya nötralize ederek oosit ve embriyoyu OS' den korur (49). Multivitamin ve mineral takviyesinin İVF tedavisi sonuçlarına ve OS'e etkisini araştıran bir çalışmada İVF siklusu öncesinde multivitamin ve mineral takviyesi alan hastaların serum ve FS proteinlerinin oksidatif hasardan korunduğu, TAS düzeylerinin önemli ölçüde arttığı bulunmuştur. Multivitamin ve mineral takviyesinin iyi kalite oosit sayısını önemli ölçüde arttırdığı saptanmıştır (50). Azalmış foliküler TAS düzeyleri fertilizasyon düşüklüğü ile ilişkili olduğu bulunmuştur (51,52,53,54) OS'nin tubal kaynaklı infertilitede de etkisi bulunmaktadır. Tubal sıvıda ROT konsantrasyonunun artması oosit ve sperm viabilitesi, tubada fertilizasyon ve embriyo transportu üzerine olumsuz etki yapabilmektedir. Ayrıca aktif nötrofil, makrofaj ve proinflamatuvar faktörlerin tubal sıvıda bulunması endometriotik odaklar tarafından ROT üretimini ciddi olarak artırabilmektedir. ROT' un endometrial hücrelerin peritoneal kavitede büyümesini ve adezyonunu artırarak endometrioze bağlı adezyonlara ve infertiliteye neden olduğu düşünülmektedir

(55). Ayrıca yapılan çalışmalarda, açıklanamayan infertilitesi olan kadınlarda fertil gruba göre periton sıvılarında anlamlı derecede yüksek ROT düzeyleri saptanmıştır (56).



Şekil 1:Fertilizasyonda Oksidatif Stresin Rolü (57)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Prospektif ve tek merkezli olup, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi (GÜTF) Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı İVF Ünitesi'nde Mart 2022 ve Mart 2023 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir. Çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan, 01/11/2021 tarih ve 56 karar numarasıyla onay alınmıştır. Etik kurul onay belgesi ekte sunulmuştur. Hastalara araştırma hakkında ayrıntılı bilgi veren “bilgilendirme ve onam formları” okutularak, bilgi sahibi olmaları sağlanmıştır.

Hastaların folikül sıvıları ve serum örnekleri GÜTF Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı İVF Ünitesine infertilite nedeniyle başvurup İCSİ-ET siklusu planlanan ve KOS protokolü başlanan hastalardan oosit toplama işlemi esnasında elde edildi. Aynı hasta gruplarından OPU işlemi yapılacağı gün, serum ve foliküler sıvı TOS, TAS düzeylerinin ölçümü için numuneler seperatör jel içeren, 13x100 mm, 5 mL'lik tüplere alınmıştır. Hastalara ait serum numuneleri santrifüj öncesinde en az 30 dk bekletildikten sonra, foliküler sıvı örnekleri bekletilmeden +4 derecede 3500rpm'de 15 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Sandrifüj sonrasında elde edilen serum ve sıvılar ependorf tüplerine aktararak analiz edildikleri güne kadar -80 derecede saklanmıştır.

Serum ve foliküler sıvı TAS, TOS REL Assay Diagnostics kitleri kullanılarak kolorimetrik yöntemle Siemens ADVIA Chemistry XPT otoanalizatöründe ölçülmüştür. TAS kitine ait CV %2.8 olarak verilmiştir. TOS

kitine ait CV değeri çalışma içi (intra-assay) : CV %3.9, çalışmalar arası (inter-assay) CV %3.2 olarak verilmiştir.

3.1. Hastaların Seçimi

Çalışmaya Gazı üniversitesi tıp fakültesi İVF ünitesine başvuran, İCSİ-ET siklusu planlanan 18-35 yaş arası sistemik bir hastalığı bulunmayan normal (n=40) ve düşük (n=40) overyan yanıtı toplam 80 infertil kadın hasta çalışmaya dahil edildi. Hastalar Bologna tanı kriterlerine göre normal veya düşük overyan yanıtı olarak iki grup şeklinde değerlendirildi.

European Society of Reproduction and Embriology (ESHRE) tarafından Bologna kriterleri adı verilen tanımlama sistemi geliştirilmiştir. Bu kriterlere göre ileri maternal yaş (>40 yaş) veya zayıf over yanıtı için diğer risk faktörlerinin bulunması, daha önce zayıf over yanıtı öyküsünün bulunması ve anormal over rezerv testi sonucu olarak belirlenen üç kriterden ikisinin varlığı veya anormal over rezerv testi ve ileri maternal yaş yokluğunda önceki maksimal stimülasyon sonrası iki zayıf over yanıtı epizodu bulunması zayıf over yanıtı tanısı için yeterli görülmektedir.

Antioksidan ve oksidan kapasiteleri etkileyebilecek kronik sistemik hastalık, endokrinopati (hipo/hipertirodi, hiperprolaktinemi vb), endometriozis, otoimmün hastalık, malabsorbsiyon durumu olan hastalar, sigara kullanımı olan, tubal faktörü ve düşük overyan yanıtı olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Hastaların yaş, kilo (kg), boy (m), VKİ ve demografik özellikleri kaydedildi. VKİ, kilonun (kg) boyun (m²) karesine bölünmesiyle elde edildi. Hastaların tubal patensleri siklusun 7-10. günü çekilen HSG ile değerlendirildi.

Hastalar bazal 3. Gün FSH, AFC ve AMH göre değerlendirilerek stimülasyon protokolü belirlendi. Stimülasyon antagonist, kısa agonist protokoller ile yapıldı. Hasta takipleri TV-USG (Voluson 730 Expert marka USG cihazı ve 5-9 MHz'lik vaginal prob) ile yapıldı. OPU işlemi sonrasında 3. Gün embryo transferi yapıldı.

Embryolar tranfer öncesi değerlendirildi. Embriyo kaliteleri Hardarson ve ark. Yaptığı grade sistemine göre derecelendirildi; (Referans verilecek)

Grade 1: Eşit büyüklükte blastomerlere sahip, %10 altında fragmentasyon içeren embriyolar, multinukleasyon yok.

Grade 2: Eşit büyüklükte blastomerlere sahip, % 10-25 oranında fragmentasyon içeren embriyolar, multinukleasyon yok.

Grade 3: Hücre boyutları eşit değil, %25 den fazla fragmentasyon, multinukleasyon var.

3.2. Serum elde edilmesi ve hazırlanması

OPU işleminin yapılacağı gün hastalardan, 12 saat açlık sonrası venöz kan örnekleri alınarak jelli biyokimya tüplerine konuldu. 20 dakika 3000 rpm devirde santrifuj edilerek serum elde edildi. Elde edilen serum yeni eppendorf tüplere konulup analizi yapılınca kadar -80°C'de saklandı.

3.3. Folikül Sıvısı ve Serumda Araştırılan Parametrelerin Tayini

Folikuler Sıvı ve Serumda TAS ve TOS Düzeylerinin Tayini

Numunelerde spektrofotometrik yöntemle Rel Assay Diagnostics Assay Kitleri kullanılarak TAS ve TOS çalışılmıştır.

a. TAS Çalışma Prensibi:

Numunede bulunan antioksidan maddeler, kit içindeki reaktiflerden biri olan koyu mavi-yeşil renkteki ABST radikal solusyonunu renksiz forma redüklemiştir ve reaksiyon karışımının 660 nm deki absorbans değişimi ölçülmüştür. Absorbans değişimi, numunede bulunan TAS düzeyi ile doğru orantılıdır. Yöntem, stabil antioksidan standart solusyonu (E vitamini analogu) Trolox Equivalent ile kalibre edilmiştir (58).

b. TOS Çalışma Prensibi:

Numunede bulunan oksidan maddeler, ferröz iyon şelatör kompleksini ferrik iyon haline okside etmiştir. Ferrik iyon formu, asidik ortamda kromojen ile renkli bir kompleks meydana getirmiştir. Renk oluşumu; numunedeki oksidan moleküllerin miktarı ile doğru orantılı olduğundan, spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve TOS değeri elde edilmiştir. Yöntem, hidrojen peroksit ile kalibre edilmiştir (59).

a. Oksidatif Stres İndeksi:

Elde edilen TAS ve TOS değerleri kullanılarak OSİ değerleri aşağıdaki gibi hesaplanır:

OSİ: TOS/TAS şeklinde bölünerek hesaplanmıştır.

OSI (arbitrary unit) = TOS (µmol H₂O₂ Eq/L) / TAS (µmol Trolox Eq/L) x

100

$$OSI = \frac{TOS, \mu\text{mol } H_2O_2 \text{ equivalent/L}}{TAS, \mu\text{mol Trolox equivalent/L}} \times 100$$

3.4. Çalışma Ölçütleri

Araştırmamızdaki çalışma ölçütlerimiz;

Primer ölçütler: Normal ve düşük ovaryan yanıtli hastalarda serum ve foliküler sıvılarındaki TAS, TOS ve OSI değerlerinin karşılaştırılması.

Secondar ölçütler: Her iki gruptaki oksidatif parametrelerinin, Maturasyon oranı, Fertilizasyon oranı ve Klinik gebelik sonuçları arasındaki ilişki idi.

21. Gün yapılan TVUSG de gestasyonel sac izlenmesi implantasyon, usg de fetal kalp atımı (FKA) + saptanması klinik gebelik olarak tanımlandı. Matürasyon Oranı: Toplam M2 oosit sayısı / Toplam oosit sayısı, Fertilizasyon Oranı: Toplam 2PN sayısı / Toplam M2 oosit sayısı olarak hesaplandı.

3.4.1. İstatiksel Analiz

Veriler SPSS version 15.0 istatistik programı kullanılarak analiz edildi. Devamlı değişkenlerin normal dağılıp dağılımadığını değerlendirmek için vizüel (histogram) ve analitik (Kolmogorov-Smirnov testi) testler kullanıldı. Normal dağılan devamlı değişkenlerin karşılaştırılmasında Student-t test, anormal dağılan devamlı değişkenlerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Devamlı değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak, normal dağılmayan değişkenler ise median (minimum-maksimum) şeklinde prezente edildi. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında Ki-kare testi kullanıldı. Serum ve foliküler sıvıda araştırılan parametrelerin ilişkisini değerlendirmek için kolerasyon analizi kullanıldı.

p değerinin <0.05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Araştırma kapsamında değerlendirilen 80 hastanın 40'ı normal ovaryan yanıtı, 40'ı Bologna kriterine göre düşük ovaryan yanıtı hastalardı.

Her iki hasta grubunun temel karakteristik özellikleri ve infertilite tipleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

Çalışmamıza katılan hastaların AMH değerleri, NOY grubunun 2.8 ± 0.4 ng/mL, DOY grubunun 0.9 ± 0.4 ng/mL) olarak saptanmıştır ve gruplar arasındaki fark anlamlı izlenmiştir ($p < 0.005$)

NOY hastaların antral folikül sayısı 9.7 ± 1.3 iken, DOY 3.9 ± 0.8 hastaların olarak tespit edildi. Antral folikül sayısının NOY hastalarda DOY hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazla sayıda olduğu belirlendi ($p < 0.001$).

Tablo 2: Çalışmaya katılan hastaların yaş, VKİ, AMH, AFC, parite ve infertilite tiplerinin karşılaştırılması

	NOY Grubu (n=40)	DOY Grubu (n=40)	<i>p değeri</i>
Yaş (yıl)	31.2 ± 3.4	32.5 ± 2.5	0.053
VKİ (kg/m^2)	27.8 ± 6.0	27.2 ± 4.6	0.638
AMH	2.8 ± 0.4	0.9 ± 0.4	<0.001
AFC	9.7 ± 1.3	3.9 ± 0.8	<0.001
İnfertilite tipi (n,%)			0.264
Primer interfil	34 (%85)	30 (%75)	
Sekonder infertil	6 (%15)	10 (%25)	
Parite	0 (0-3)	0 (0-2)	

Veriler ortalama $\pm$ SD ve oran ile belirtilmiştir. NOY: Normal ovaryan yanıtı hasta grubu; DOY: Düşük ovaryan yanıtı hasta grubu VKİ: Vücut kitle indeksi; AMH: Antimüllerian hormon; AFC: Antral folikül hücresi. $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Her iki grubun klinik gebelik sonuçları ve embriyo kaliteleri açısından karşılaştırmaları Tablo 3’de belirtilmiştir.

DOY grubunda oosit matürasyon oranının NOY grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu belirlenmiştir ($p = 0.001$).

NOY grubunda klinik gebelik elde etme oranı, DOY grubuna göre anlamlı olarak daha yüksektir ($p = 0.006$).

Tablo 3: Her iki grup arasında toplam oosit sayısı, toplam M2 oosit sayısı, 2 PN sayısı, matürasyon oranı, fertilizasyon oranı, embriyo kalitesi ve klinik gebelik değerlerinin karşılaştırılması

	NOY Grubu (n=40)	DOY Grubu (n=40)	<i>p değeri</i>
Toplam Oosit Sayısı (n)	16.7 ± 2.6	2.2 ± 0.9	< 0.001
M2 Oosit Sayısı (n)	13.3 ± 3.4	1.4 ± 0.7	< 0.001
2PN Oosit Sayısı (n)	10.03 ± 3.06	1.1 ± 0.8	< 0.001
Maturasyon Oranı (%)	79.5	64	<0.001
Fertilizasyon Oranı (%)	75.4	77.2	0.762
Embriyo grade (n,%)			0.570
1-2	84.6	79.3	
3	15.4	20.7	
Embriyo transfer sayısı	1.2 ± 0.6	1.0 ± 0.3	0.066
Klinik gebelik(n , %)	21 (%52.5)	9 (%31)	0.006

Veriler ortalama ± SD, median (min-max) ve yüzde olarak belirtilmiştir. NOR: Normal ovaryan yanıtı hasta grubu; DOY: Düşük ovaryan yanıtı hasta grubu M2: Metafaz 2; PN: Pronükleus. $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Her iki hasta grubunun folikül sıvısı ve serum parametreleri Tablo 4'te gösterilmiştir.

NOY grubunun folikül sıvısı ve serum TOS düzeylerinin, DOY grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir (<0.001).

NOY grubunun folikül sıvısı ve serum TAS düzeylerinin, DOY grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (<0.001).

NOY grubunun folikül sıvı ve serumda hesaplanan OSİ değerinin, DOY grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir (<0.001).

Tablo 4: Gruplar arasında serum ve folikül sıvılarındaki TAS, TOS ve OSİ düzeylerinin karşılaştırılması

	NOY grubu (n=40)	DOY grubu (n=40)	<i>p değeri</i>
TOS (folikül sıvısı)	1.4 (0.4-77.1)	9.3 (1.8-105.7)	<0.001
TOS (serum)	2.6 (0.3-14.3)	9.6 (0.6-147.4)	<0.001
TAS (folikül sıvısı)	1.1 (0.5-1.7)	0.9 (1-1.3)	<0.001
TAS (serum)	1.7 (1.3-3.5)	1.2 (0.8-1.8)	<0.001
OSİ (folikül sıvısı)	1.5 (0.2-10.6)	9.0 (0.5-93.9)	<0.001
OSİ (serum)	1.1 (0.3-45.0)	13.6 (1.9-141.3)	<0.001

Veriler ortalama $\pm$ SD, median (minumum-maksimum) ve oran ile belirtilmiştir. NOY: Normal ovaryan yanıtı hasta grubu; DOY: Düşük ovaryan yanıtı hasta; TOS: total oksidan status; TAS: Total antioksidan status; OSİ: Oksidatif stres indeksi. $p<0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

NOY grubunda embriyo kalitelerine göre karşılaştırılan folikül sıvısı

parametreleri Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5: NOY'lı hasta grubunda embriyo kalitelerine göre folikül sıvısında ve serumda toplam oosit sayısı, toplam M2 oosit sayısı, 2 PN sayısı, TOS, TAS, OSİ değerlerinin karşılaştırılması

	Embriyo Grade 1-2 (n= 34)	Embriyo Grade 3 (n= 6)	<i>p değeri</i>
TOS (folikül sıvısı)	1.2 (0.4-77.05)	2 (1.3-26.3)	0.103
TOS (serum)	3 (0.3-14.3)	2 (1.1-9.3)	0.233
TAS (folikül sıvısı)	1.13 (0.5-1.7)	1 (0.7-1.1)	0.047
TAS (serum)	1.7 (1.3-3.5)	1.7 (1.4-2.07)	0.791
OSİ (folikül sıvısı)	1.6 (0.2-10.5)	1.1 (0.8-4.5)	0.163
OSİ (serum)	1.03 (0.3-45)	1.1 (0.8-4.5)	0.041

Veriler ortalama $\pm$ SD ve median (min-max) olarak belirtilmiştir. NOR: Normal ovaryan yanıtı hasta grubu; DOY: Düşük ovaryan yanıtı hasta grubu M2: Metafaz 2; PN: Pronükleus; TOS: total oksidan status; TAS: Total antioksidan status; OSİ: Oksidatif stres indeksi. $p<0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Normal ovaryan yanıtı hasta grubunda embriyo kalitesi iyi olan hastalarda folikül sıvı TAS (1.13 (0.5-1.7)) ve serum OSİ değerleri istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi ($p = 0.047$, $p=0.041$, sırasıyla).

DOY hasta grubunda embriyo kalitelerine göre karşılaştırılan folikül sıvısı parametreleri tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6:DOY grubunda embriyo kalitelerine göre folikül sıvısında toplam oosit sayısı, toplam M2 oosit sayısı, 2 PN sayısı, TOS, TAS, OSİ değerlerinin karşılaştırılması

	Embriyo Grade 1-2 (n=24)	Embriyo Grade 3 (n= 7)	p değeri
TOS (foliküler sıvı)	10.5 (1.8-105.6)	6.4 (3.7-58.7)	0.887
TOS (serum)	8.7 (0.6-85.7)	10.9 (2.03-147.3)	0.508
TAS (foliküler sıvı)	0.95 (0.43-1.3)	0.85 (0.13-1.23)	0.671
TAS (serum)	1.18 (0.84-1.85)	1.31 (1.02-1.84)	0.357
OSİ (foliküler sıvı)	8.33 (0.45-65.3)	9.2 (1.2-93.8)	0.758
OSİ (serum)	13.5 (1.87-84.5)	28.3 (3.6-62.6)	0.734

Veriler ortalama $\pm$ SD ve median (min-max) olarak belirtilmiştir. NOR: Normal ovaryan yanıtlu hasta grubu; DOY: Düşük ovaryan yanıtlu hasta grubu M2: Metafaz 2; PN: Pronükleus; TOS: total oksidan status; TAS: Total antioksidan status; OSİ: Oksidatif stres indeksi. $p<0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

NOY'lı hasta grubunda, klinik gebelik sonuçlarına göre folikül sıvısı parametreleri Tablo 7'de gösterilmiştir.

Tablo 7: NOY grubunun gebelik sonuçlarına göre folikül sıvıda ve serumda toplam oosit sayısı, toplam M2 oosit sayısı, 2 PN sayısı, TOS, TAS, OSİ değerlerinin karşılaştırılması

	Klinik Gebelik		
	Negatif (n=19)	Pozitif (n= 21)	p değeri
Toplam Oosit Sayısı (n)	16.9 $\pm$ 2.8	16.5 $\pm$ 2.5	0.620
Toplam M2 Oosit Sayısı (n)	13.7 $\pm$ 4.1	13 $\pm$ 2.5	0.458
2 PN sayısı (n)	9.6 $\pm$ 3.6	10.3 $\pm$ 2.5	0.456
TOS (foliküler sıvı)	1.21 (0.48-77.05)	1.6 (0.4-41.7)	0.379
TOS (serum)	2.5 (0.31-13.5)	2.7 (1.2-14.3)	0.409
TAS (foliküler sıvı)	1.01 (0.5-1.7)	1.18 (1-1.5)	0.003
TAS (serum)	1.7 (1.3-3.5)	1.7 (1.36-3.4)	0.766
OSİ (foliküler sıvı)	1.5 (0.17-7.77)	1.64 (0.7-10.5)	0.371
OSİ (serum)	1.04 (0.47-45)	1.26 (0.3-1.54)	0.828

Veriler ortalama $\pm$ SD ve median (min-max) olarak belirtilmiştir. NOR: Normal ovaryan yanıtlu hasta grubu; DOY: Düşük ovaryan yanıtlu hasta grubu M2: Metafaz 2; PN: Pronükleus; TOS: total oksidan status; TAS: Total antioksidan status; OSİ: Oksidatif stres indeksi. $p<0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Düşük ovaryan yanıtlı hasta grubunun klinik gebelik sonuçlarına göre folikül sıvısı parametreleri Tablo 8’de gösterilmiştir.

Tablo 8: DOY hasta grubunun gebelik sonuçlarına göre folikül sıvısında ve serumda toplam oosit sayısı, toplam M2 oosit sayısı, 2 PN sayısı, TOS, TAS, OSİ değerlerinin karşılaştırılması

	Klinik Gebelik		<i>p değeri</i>
	Negatif (n= 31)	Pozitif (n= 9)	
Toplam Oosit Sayısı (n)	1.94 ± 0.7	3.2 ± 0.83	< 0.001
Toplam M2 Oosit Sayısı (n)	1.3 ± 0.74	1.9 ± 0.6	0.032
2 PN sayısı (n)	0.94 ± 0.77	1.8 ± 0.44	0.004
TOS (foliküler sıvı)	7.54 (2.52-105.65)	12.8 (1.8-58.7)	0.379
TOS (serum)	2.54 (0.31-13.5)	2.7 (1.2-14.3)	0.409
TAS (foliküler sıvı)	1.01 (0.5-1.7)	1.18 (1-1.54)	0.003
TAS (serum)	1.74 (1.3-3.4)	1.76 (1.36-3.4)	0.766
OSİ (foliküler sıvı)	1.5 (0.17-7.7)	1.64 (0.7-10.5)	0.371
OSİ (serum)	1.04 (0.5-45)	1.26(0.3-27.1)	0.828

Veriler ortalama ± SD ve median (min-max) olarak belirtilmiştir. NOR: Normal ovaryan yanıtlı hasta grubu; DOY: Düşük ovaryan yanıtlı hasta grubu M2: Metafaz 2; PN: Pronükleus; TOS: total oksidan status; TAS: Total antioksidan status; OSİ: Oksidatif stres indeksi. p<0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir.

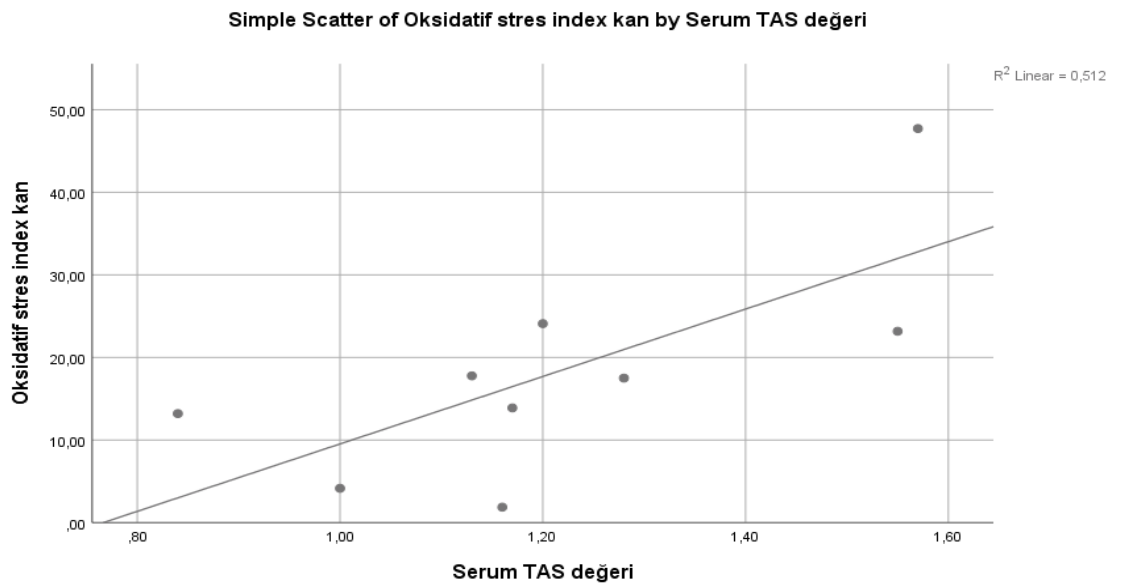
Düşük ovaryan yanıtlı (DOY) hasta grubunda klinik gebelik elde eden hastaların toplam oosit sayısı, oosit maturasyonu ve folikül sıvısı TAS düzeylerinin, klinik gebelik elde edemeyen hastalara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 9: Gebelik elde eden DOY'lı hastalarda serum TAS ile diğer parametrelerin korelasyonu

Gebelik elde eden DOY hastalarında folikül sıvı TAS ile folikül sıvı TOS, OSİ, serum TAS, TOS, OSİ ve serum AMH değerlerinin ilişkisi

TAS (serum)	r*	p
TOS (folikül sıvı)	0.567	0.112
OSİ (folikül sıvı)	-0.33	0.932
TAS (folikül sıvı)	0.25	0.516
TOS (serum)	0.217	0.576
OSİ (serum)	0.733*	0.025
AMH (serum)	-0.593	0.092

*Spearman korelasyon testi, r:Spearman korelasyon katsayısı, p<0.05



Grafik 1. Serum TAS ve OSİ korelasyon grafisi

Tablo 10: Gebelik elde eden DOY hastalarda serum AMH ile diğer parametrelerin korelasyonu

AMH (serum)	r*	p
TOS (folikül sıvı)	-0.458	0.215
OSİ (folikül sıvı)	0.305	0.425
TAS (serum)	-0.593	0.092
TOS (serum)	0.237	0.539
OSİ (serum)	-0.559	0.117
TAS (foliküler sıvı)	-0.51	0.897

*Spearman korelasyon testi, r:Spearman korelasyon katsayısı, $p < 0.05$

Serum TAS ile OSİ değerleri arasında yüksek düzeyde ($r = 0.733$) ve anlamlı ($p < 0.05$) bir pozitif korelasyon bulunmuştur. (Tablo-10)

Aynı hasta grubu için serum AMH düzeyi ile foliküler sıvı TAS ve TOS düzeyleri arasında bir korelasyon saptanmadı. (Tablo-11)

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada IVF tedavisine başvuran normal ve düşük ovaryan yanıtlı hastaların serum ve folikül sıvısındaki oksidatif stres parametreleri olan TAS, TOS ve OSİ düzeylerinin oosit maturasyonu, embriyo kalitesi ve klinik gebelik ile ilgili olan ilişkisini değerlendirilerek ilgili parametrelerin IVF başarısında prediktör olarak kullanılabilişliğini ölçmeyi amaçlandı. Düşük hasta grubunda TOS ve OSİ değerlerinin kontrol grubuna göre yüksek, TAS düzeyinin anlamlı olarak düşük olduğu izlendi. Embriyo kalitesine göre bakıldığında DOY grubunda oksidatif parametreleri arasında anlamlı bir fark izlenmezken, NOY grubunda iyi kalite embriyoya sahip hastalarda serum TAS değeri yüksek, embriyo kalitesi kötü olanlarda ise serum OSİ düzeyi anlamlı olarak yüksek saptandı. Klinik gebelik elde eden her iki grupta ise folikül sıvı TAS değeri istatistiksel olarak yüksek izlendi.

Yardımcı üreme tekniklerinde DOY tanısı alan hastaların tedavisi halen tüm yaş gruplarında önemli bir sorun olmaya devam etmektedir. Bu hastalar için en iyi tedavi protokolü, tercihen maksimum sayıda matür ve iyi kalitede oositin elde edildiğı, en uygun tedavi süresi ve en az sayıda istenmeyen sonuçların görüldüğü, en iyi klinik gebelik ve sağlıklı doğum oranlarına sahip olan tedavi seçeneğini tercih etmektir. Son yıllarda, radikal türlerin ve oksidatif stresin kadın fertilitesi üzerindeki etkileri büyük ilgi görmektedir. Çok sayıda araştırma, foliküler sıvıdaki reaktif oksijen parametrelerinin folikül fonksiyonlarına ve dolayısıyla oosit kalitesi üzerine etkisini göstermiştir (60).

Amsiejene ve arkadaşları çalışmalarında yaş arttıkça gebelik oranının azaldığı yönünde veri elde etmişler ve maternal yaştan gebelik ile negatif korele olduğunu bulmuşlardır (61). Bizim çalışmamıza bakıldığında NOY hasta grubunun yaş ortalaması, DOY hasta grubunu ile benzer idi. Yaştan gebelik üzerine etkileri düşünüldüğünde her iki grupta da benzer yaşların olmasının çalışmamızdaki sonuçlar için olumlu bir faktör olduğunu düşünmekteyiz.

C. Boots ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada infertil obez ve normal-VKİ'ne sahip kadınlar arasında Serum CoQ10 düzeylerinin obez kadınlarda anlamlı olarak daha yüksek olduğunu ve VKİ ile anlamlı olarak pozitif korelasyon gösterdiğini bulmuştur. Kilo artışıyla beraber artan vücuttaki yağ miktarına bağlı olarak hipotalamo-hipofizer-ovaryan aksın çalışmasının bozulduğu ve artan obeziteye bağlı olarak ovulasyon bozuklukların arttığını belirtmişlerdir (62). Bizim çalışmamızda ise gruplar arasında VKİ açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Gruplar arasındaki VKİ açısından fark olmamasının bakılan oksidatif stress parametrelerinin değerini artıran bir faktör olduğu düşünülmektedir.

Muttukrishna ve arkadaşlarının toplam 69 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada, yüksek serum AMH seviyeleri olan hastalarda IVF sikluslarında toplanan oosit sayısının daha fazla olduğunu göstermiştir (63). Bizim çalışmamızda da beklendiği gibi AMH düzeyi ve toplanan oosit sayısı normal ovaryan yanıtı hasta grubunda, düşük ovaryan yanıtı hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı.

Appasmy ve arkadaşları yaptıkları çalışmada IVF hastalarında oksidatif stresle, infertilite nedeni, preovaryen hormon düzeyleri ve ovaryen cevap arasındaki ilişkiyi değerlendirmişlerdir. Toplam 36 düşük ovaryan yanıtı hasta ile kontrol grubunun (erkek faktörü olan hastalar) karşılaştırıldığı bu çalışmada serum ve foliküler sıvıdaki oksidatif stres parametreleri ölçülmüştür. Bu çalışmada ise kontrol grubu olarak açıklanamayan infertilite grubu seçilmiştir. Her iki grupta serum ve foliküler sıvı TAS düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark olduğu izlenmiş (64). Bizim çalışmamızda da benzer olarak düşük ovaryan yanıtı hasta grubunun folikül sıvısı ve serum TOS ve OSI düzeylerinin anlamlı derecede yüksek olduğu ve TAS düzeylerinin de anlamlı düşük olduğu tespit edilmiştir. Fakat farklı olarak bizim çalışmamızda kontrol grubu olarak açıklanamayan infertilitesi olan normal ovaryan yanıtı hastalar seçilmiştir. Bu seçim ile infertilite sebebi olabilecek diğer faktörlerin katkısının azaltılarak sadece oksidatif stres markerlerinin olası etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu seçimin çalışmamızın değerini artıran bir faktör olduğu düşünülmektedir.

Pasqualotto ve ark IVF uygulanan 41 hastadan aldıkları 115 follikül sıvısı ve oosit üzerinde yaptıkları bir çalışmada; folliküler sıvı lipit peroksidasyonunu düzeyi ve total antioksidan kapasite ile oosit maturasyonu arasında ilişki bulamamışlardır (65). Bizim çalışmamızda ise farklı olarak foliküler sıvı TAS değeri yüksek olan normal ovaryan yanıtı hasta grubunda oosit maturasyon oranı düşük ovaryan yanıtı hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Bu sonuç oksidatif stresin düşük ovaryan yanıtı hastalarda diğer faktörler elemine edildiğinde oosit maturasyonu üzerine olumsuz bir etkisi olabileceğini düşündürmektedir.

Paszkowski ve arkadaşlarının açıklanamayan infertil hastalar ve erkek yada tubal faktörü olan iki grup arasında yapmış olduğu çalışmada düşük TAS seviyelerinin azalmış fertilizasyon potansiyelinin bir öngöstergesi olduğunu bulmuşlardır (66) Bizim çalışmamızda ise normal ovaryan yanıtı hasta grubunda oksidatif stres değerleri düşük ovaryan yanıtı hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasına rağmen fertilizasyon oranında anlamlı bir fark saptanmadı. Bu da fertilizasyonun kompleks bir süreç olması nedeni ile tek başına oksidatif stresin fertilizasyon için olumsuz bir etkisinin olmadığını düşündürmüştür.

Vignini ve arkadaşları 15 IVF hastasından follikül aspire edip, elde edilen oositlerden gelişen embriyoların kaliteleri ile ait oldukları folliküllerin oksidatif strese yol açabilecek NO (nitrik oksit) konsantrasyonlarını analiz ettikleri çalışmalarında; folliküler sıvı NO ile embriyo dereceleri arasında direkt ilişki tespit etmişlerdir. Sonuç olarak folliküldeki yüksek seviyedeki NO'nun oluşacak embriyo kalitesini olumsuz yönde etkilediğini öne sürmüşlerdir (67). Bizim çalışmamızda ise benzer şekilde DOY grubunda anlamlı fark olmasa da NOY grubunda embriyo kalitesi iyi olan hastalarda folikül sıvı TAS ve serum OSİ değerleri istatistiksel olarak yüksek tespit edildi.

Velthut ve arkadaşları yaptıkları çalışmada over stimülasyonu ve ICSI sonuçlarında intrafolliküler ve sistemik oksidatif stresin ve antioksidan yanıtın rollünü araştırmışlardır. Çalışmaları sonucunda daha yüksek sistemik kan TAS değerleri ile klinik gebelik elde etmek arasında olumlu yönde anlamlı bir ilişki bulunmuştur (67). Bizim çalışmamızda ise NOY grubunda, gebelik elde edenlerde folikül sıvısı TAS değeri anlamı olarak yüksek saptanmıştır.

Düşük ovaryan yanıtı hasta grubunda ise klinik gebelik elde hastalarda toplam oosit sayısı, oosit maturasyonu ve folikül sıvısı TAS düzeyleri klinik gebelik elde edemeyen hastalara göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu da IVF sürecine giden hastalarda folikül sıvısı antioksidan düzeyinin yüksek olmasının klinik gebelik elde etme olasılığını artıran bir faktör olabileceğini düşündürmektedir.

Özetle, kötü ovaryen yanıtı hastalarda normal yanıtı hastalara göre TAS düzeyleri daha az, TOS düzeyleri daha yüksek saptanmıştır. Buna göre antioksidan düzeyleri azaldıkça, oksidatif stress düzeyleri arttıkça elde edilen oosit sayıları ve maturasyon oranları negatif olarak etkilenmektedir. Bununla birlikte fertilizasyon oranları ve transfer başına gebelik oranları etkilenmemektedir. Bu da kötü ovaryen yanıtı hastalarda fertilizasyon ve gebelik oluşumunun daha kompleks bir süreç olduğunu, sadece oksidatif stresin etkili olmadığını düşündürmektedir. Eğer oosit oksidatif stresin kötü etkilerinden kurtulup matür hale gelebilirse, yaş, erkek faktörü gibi etkenlerin benzer olduğu şartlarda kötü ovaryen yanıtı hastalarda, normal yanıtı hastalar gibi fertilize olabilmektedir

6. SONUÇ

IVF tedavisi gören normal ve düşük ovaryan yanıtı hasta grubundan yumurta toplama günü alınan serum ve folikül sıvılarında, IVF sikluslarında elde edilebilecek oosit, embriyo kalitesi ve gebelik sonuçlarının öngörülebilmesinde kullanılabilecek belirteçler bulunmaktadır. Normal ve düşük ovaryan yanıtı hastalarda serum ve folikül sıvıda çalıştığımız TAS, TOS ve OSİ parametrelerinin oosit, embriyo kalitesi ve klinik gebelik sonuçlarıyla ilişkisini araştırdığımız çalışmamızda elde edilen sonuçlar:

- 1) Normal ovaryan yanıtı hastalarda serum ve foliküler sıvıdaki TAS seviyeleri DOY hasta grubuna göre daha yüksektir.
- 2) Düşük ovaryan yanıtı hastalarda serum ve foliküler sıvıdaki TOS seviyeleri ve OSİ değerleri, NOY hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı.
- 3) Normal ovaryan yanıtı hasta grubunda embriyo kalitesi iyi (grade 1-2) olan hastalarda folikül sıvısında TAS seviyeleri yüksek olarak bulunmuştur, bu da NOY hastalarında folikül sıvısındaki yüksek TAS seviyelerinin embriyo kalitesi ile ilişkili olduğunu göstermektedir.
- 4) Normal ovaryan yanıtı hasta grubunda embriyo kalitesi kötü (grade-3) olan hastalarda serum OSİ seviyeleri yüksek olarak bulunmuştur, bu da NOY olan hastalarda serumdaki yüksek OSİ seviyelerinin embriyo kalitesi ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

- 5) Düşük ovaryan yanıtı hasta grubunda embriyo kalitesi açısından serum ve foliküler sıvısında, oksidatif stres parametrelerinde anlamlı fark saptanmadı.
- 6) IVF tedavisi sonucu klinik gebelik elde edebilen NOY hastalarda, folikül sıvısındaki TAS değeri klinik gebelik elde edemeyen gruptan anlamlı olarak daha yüksek olarak izlendi.
- 7) Klinik gebelik elde eden DOY hasta grubunda oosit maturasyonu ve foliküler sıvı TAS değeri anlamlı olarak yüksek olduğu izlendi.
- 8) Gebelik elde eden DOY hastalarda bakılan serum ve foliküler parametrelerinde, Serum TAS ile OSI değerleri arasında yüksek düzeyde ($r= 0.733$) ve anlamlı ($p<0.05$) bir pozitif korelasyon izlendi.

Özetle, kötü ovaryen yanıtı hastalarda normal yanıtı hastalara göre TAS düzeyleri daha az, TOS düzeyleri daha yüksek saptanmıştır. Buna göre antioksidan düzeyleri azaldıkça, oksidatif stress düzeyleri arttıkça elde edilen oosit sayıları ve maturasyon oranları negatif olarak etkilenmektedir. Bununla birlikte fertilizasyon oranları ve transfer başına gebelik oranları etkilenmemektedir. Bu da kötü ovaryen yanıtı hastalarda fertilizasyon ve gebelik oluşumunun daha kompleks bir süreç olduğunu, sadece oksidatif stresin etkili olmadığını düşündürmektedir. Eğer oosit oksidatif stresin kötü etkilerinden kurtulup matür hale gelebilirse, yaş, erkek faktörü

gibi etkenlerin benzer olduğu şartlarda kötü ovaryen yanıtı hastalarda, normal yanıtı hastalar gibi fertilize olabilmektedir.

Antioksidanlar insan üremesi ile ilgili rolü belirsizliğini korumaktadır. Bu karışıklık, kullanılan farklı materyallerden (foliküler sıvı, serum, embriyolar ve kültür ortamı), tahlil yöntemlerinden (TAS, antioksidanlar ve antioksidan enzimler) ve etki beklenen sonuç

Parametrelerinden (oosit varlığı, döllenme, embriyo canlılığı ve gebelik) kaynaklanmaktadır.

Antioksidanların fizyolojik ve patolojik rollerini ve kadın üremesiyle ilişkilerini açıklığa kavuşturmak için daha ileri çalışmalar yapılmalıdır, çünkü bunlar infertil hastalarda fertilite düzenlenmesi için yeni stratejilerin geliştirilmesine yol açabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Benyamini Y, Gozlan M, Kokia E. Variability in the difficulties experienced by women undergoing infertility treatments. *Fertil Steril* 2005; 83:275–283.
2. Speroff L, Fritz MA, İnfertilite. İç: Erk A, Günalp S, editörler; Klinik Jinekolojik Endokrinoloji Ve İnfertilite. Ankara-İstanbul: Güneş Tıp Kitapevleri; 2007.s.1013-1274.
3. Vayena E, Rowe PJ, Griffin PD. Geneva: World Health Organization; Current practices and controversies in assisted reproduction: Report of a meeting on “Medical, Ethical and Social Aspects of Assisted Reproduction” held at WHO; 2002; 369-70.
4. Snick H, Snick T, Evers J, Collins J. The spontaneous pregnancy prognosis in untreated subfertile couples: the Walcheren primary care study. *Human Reproduction*. 1997;12(7):1582-1588.
5. Scott R, Opsahl M, Leonardi M, Neall G, Illions E, Navot D. Infertility: Life table analysis of pregnancy rates in a general infertility population relative to ovarian reserve and patient age. *Human Reproduction*. 1995;10(7):1706-10
6. Pfeifer SM, Attaran M, Goldstein J, et al. ASRM müllerian anomalies classification 2021. *Fertil Steril*. 2021;116(5):1238-1252. doi: 10.1016/j.fertnstert.2021. 09.025.
7. Swerdloff RS, Wang C, Kandeel FR. Evaluation of the infertile couple. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 1988 Jun;17(2):301-37. 14. Pansky M, Feingold M, Sagi R, Herman A, Schneider D, Halperin R. Diagnostic hysteroscopy as a primary tool in a basic infertility workup. *JSLs*. 2006 Apr-Jun;10(2):231-5.
8. Speroff L, Fritz MA, İnfertilite. İç: Erk A, Günalp S, editörler; Klinik Jinekolojik Endokrinoloji Ve İnfertilite. Ankara-İstanbul: Güneş Tıp Kitapevleri; 2007.s.1013-1274.
9. Vayena E, Rowe PJ, Griffin PD. Geneva: World Health Organization; Current practices and controversies in assisted reproduction: Report of a

- meeting on “Medical, Ethical and Social Aspects of Assisted Reproduction” held at WHO; 2002; 369-70.
10. World Health Organization: WHO manual for the standardized investigation and diagnosis of the infertile couple. P:7, Cambridge University Press 1993, Cambridge.
 11. FH, C., et al., Toward more objectivity in diagnosis and management of male infertility. 7(Suppl), ed. I.J. Androl. 1987.
 12. World Health, O., WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 2010, World Health Organization: Geneva
 13. Cooper, T.G., et al., World Health Organization reference values for human semen characteristics. Hum Reprod Update, 2010. 16(3): p. 231-45.
 14. World Health Organization: WHO manual for the standardized investigation and diagnosis of the infertile couple. P:7, Cambridge University Press 1993, Cambridge.
 15. Anthony V Hirsh. The investigation and therapeutic options for infertile men presenting in assisted reproduction: the Bourn Hall guide the clinical and laboratory practice. Second ed, Brinsden PR, ED. New York: Parthenon Publishing. 1999; 27-52.
 16. Gindoff PR, Jewelewicz R. Reproductive potential in the older woman. Fertil Steril. 1986 Dec;46(6):989-1001.
 17. Shrestha SM, Costello MF, Sjoblom P, McNally G, Bennett M, Steigrad SJ, et al. Power Doppler ultrasound assessment of follicular vascularity in the early follicular phase and its relationship with outcome of in vitro fertilization. J Assist Reprod Genet. 2006 Apr;23(4):161-169.
 18. Kim SH, Ku SY, Jee BC, Suh CS, Moon SY, Lee JY. Clinical significance of transvaginal color Doppler ultrasonography of the ovarian artery as a predictor of ovarian response in controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and embryo transfer. J Assist Reprod Genet. 2002 Mar;19(3):103-112.
 19. Balasch J. Investigation of the infertile couple, Human Reproduction. 2000;15(11):2251-7.

20. Kowalik A, Barmat L, Damario M, Liu HC, Davis O, Rosenwaks Z. Ovarian estradiol production in vivo. Inhibitory effect of leuprolide acetate. J Reprod Med. 1998 May;43(5):413-7.
21. Fortune J. Ovarian follicular growth and development in mammals. Biology of reproduction. 1994;50(2):225-32.
22. Fortune J. Ovarian follicular growth and development in mammals. Biology of reproduction. 1994;50(2):225-32.
23. Revelli A, Piane LD, Casano S, Molinari E, Massobrio M, Rinaudo P. Follicular fluid content and oocyte quality: from single biochemical markers to metabolomics. Reproductive biology and endocrinology. 2009;7(1):1-13.
24. Wang B, Li J, Yang Q, Zhang F, Hao M, Guo Y. Decreased levels of sRAGE in follicular fluid from patients with PCOS. Reproduction. 2017;153(3):285-92
25. Aruoma OI. Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidant, Food Chem Toxic. 1994; 32:671-683.
26. Dündar Y ve Aslan R. Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller-antioksidanlar. Cerrahi Tıp Bilim Dergisi. 1999;2:134-142.
27. Seifried HE, Anderson DE, Fisher EI, Milner JA. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. J Nutr Biochem. 2007 Sep;18(9):567-79.
28. Karihtala P, Soini Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. APMIS. 2007 Feb;115(2):81- 103.
29. Erdal N, Altunkaynak Y, Altunkaynak E, Öztürk M, Mutluay B, Köksal A, ve ark. Migrenli Hastalarda Oksidatif Stresin Göstergesi Olarak Lipid Peroksidasyonunun İncelenmesi. Düşünen Adam 2005; 18(3):129-35.
30. Akkoç H. Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon Hasarı. Dicle Tıp Dergisi, 2008; 35(3):211-5.
31. Dündar Y ve Aslan R. Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller-antioksidanlar. Cerrahi Tıp Bilim Dergisi. 1999;2:134-142.

32. Seifried HE, Anderson DE, Fisher EI, Milner JA. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *J Nutr Biochem*. 2007 Sep;18(9):567-79.
33. Karihtala P, Soini Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *APMIS*. 2007 Feb;115(2):81- 103.
34. Erdal N, Altunkaynak Y, Altunkaynak E, Öztürk M, Mutluay B, Köksal A, ve ark. Migrenli Hastalarda Oksidatif Stresin Göstergesi Olarak Lipid Peroksidasyonunun İncelenmesi. *Düşünen Adam* 2005; 18(3):129-35.
35. Halliwell B. Oxygen radicals: a commonsense look at their nature and medical importance. *Med Biol*. 1984;62(2):71-7.
36. Vural H, Demir CV, Yılmaz N, Eren İ. Alzheimer hastalığında total antioksidan kapasitenin araştırılması. *TAD* 2007; 5(2): 63-66.
37. Gürsoy Ş. Düzenli Spor Yapan Öğrenci Gruplarında Egzersizin Total antioksidan Kapasite ve Serum Lipit Profilleri Üzerine Etkisi. Doktora Tezi. Malatya: İnönü Üniversitesi, 2008.
38. Morera-Fumero AL, Díaz-Mesa E, Abreu-Gonzalez P, Fernandez-Lopez L, Guillen-Pino F. A three-month longitudinal study of changes in day/night serum total antioxidant capacity in paranoid schizophrenia. *PLoS One*. 2017 Dec 8;12(12):e0189348.
39. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004; 37: 277–85.
40. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical biochemistry* 38.12 (2005): 1103-1111.
41. Rabus, M., Demirbag, R., Sezen, Y., Konukoglu, O., Yildiz, A., ve ark., Plasma and tissue oxidative stress index in patients with rheumatic and degenerative heart valve disease. *Turk Kardiyol Dern Ars*, 2008, 36(8), 536-540.
42. Rabus, M., Demirbag, R., Sezen, Y., Konukoglu, O., Yildiz, A., ve ark., Plasma and tissue oxidative stress index in patients with rheumatic and degenerative heart valve disease. *Turk Kardiyol Dern Ars*, 2008, 36(8), 536-540.

43. Sugino, N. 2005. "Reactive oxygen species in ovarian physiology", *Reproductive medicine and biology*, 4(1), 31-44.
44. Paszkowski, T., Traub, A., Robinson, S. Y., McMaster, D. 1995. "Selenium dependent glutathione peroxidase activity in human follicular fluid", *Clinica Chimica Acta*, 236(2), 173-180.
45. Jozwic M, Wolczynski S, Szamatowich M. Oxidative stress markers in preovulatory follicular fluid in humans. *Mol Hum Reprod* 1999;5(5):409-13.
46. Sugino N, Takiguchi S, Kashida S, Karube A, Nakamura Y, Kato H. Superoxide dismutase expression in the human corpus luteum during the menstrual cycle and in early pregnancy. *Mol Hum Reprod* 2000;6(1):19-25.
47. Yang, H. W., Hwang, K. J., Kwon, H. C., Kim, H. S., Choi, K. W., Oh, K. S. 1998. "Detection of reactive oxygen species (ROS) and apoptosis in human fragmented embryos", *Human reproduction*, 13(4), 998-1002.
48. Özkaya, M. O., Nazıroğlu, M. 2010. "Multivitamin and mineral supplementation modulates oxidative stress and antioxidant vitamin levels in serum and follicular fluid of women undergoing in vitro fertilization", *Fertility and sterility*, 94(6), 2465-2466.
49. Briggs DA, Sharp DJ, Miller D, Gosden RG. Transferrin in the developing ovarian follicle: evidence for de-nova expression by granulosa cells. *Mol Hum Reprod* 1999;5(12):1107-14.
50. Attaran M, Pasqualotto E, Falcone T, et al. The effect of follicular fluid reactive oxygen species on the outcome of in vitro fertilization. *Int J Fertil Womens Med* 2000;45(5):314-20.
51. Luddi, A., Capaldo, A., Focarelli, R., Gori, M., Morgante, G., Piomboni, P., De Leo, V. 2016. "Antioxidants reduce oxidative stress in follicular fluid of aged women undergoing IVF", *Reproductive Biology and Endocrinology*, 14(1), 57.
52. Agarwal, A., Gupta, S., Sharma, R. K. 2005. "Role of oxidative stress in female reproduction", *Reproductive biology and endocrinology*, 3(1), 28.
53. Oyawoye, O., Abdel Gadir, A., Garner, A., Constantinovici, N., Perrett, C., Hardiman, P. 2003. "Antioxidants and reactive oxygen species in

- follicular fluid of women undergoing IVF: relationship to outcome", *Human reproduction*, 18(11), 2270-2274.
54. Bedaiwy, M. A., Elnashar, S. A., Goldberg, J. M., Sharma, R., Mascha, E. J., Arrigain, S., Agarwal, A., Falcone, T. 2012. "Effect of follicular fluid oxidative stress parameters on intracytoplasmic sperm injection outcome", *Gynecological Endocrinology*, 28(1), 51-55.
 55. Palini, S., Benedetti, S., Tagliamonte, M. C., De Stefani, S., Primiterra, M., Polli, V., Rocchi, P., Catalani, S., Battistelli, S., Canestrari, F., Bulletti, C. 2014. "Influence of ovarian stimulation for IVF/ICSI on the antioxidant defence system and relationship to outcome", *Reproductive biomedicine online*, 29(1), 65-71.
 56. Alpay Z, Saed GM, Diamond MP. Female infertility and free radicals: potential role in adhesions and endometriosis. *J Soc Gynecol Investig* 2006;13(6):390-8.
 57. Wang Y, Sharma RK, Falcone T, Goldberg J, Agarwal A. Importance of reactive oxygen species in the peritoneal fluid of women with endometriosis or idiopathic infertility. *Fertil Steril* 1997;68(5):826-30.
 58. .Combelles CM, Gupta S, Agarwal A. Could oxidative stress influence the in-vitro maturation of oocytes? *Reproductive biomedicine online*. 2009;18(6):864-80.
 59. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005;38:1103-11).
 60. - Kelly AC, Jewelewicz R. Alternate regimens for ovulation induction in polycystic 114
 61. Amsiejene, Andre, et al. "The influence of age, body mass index, waist-to-hip ratio and anti-Mullerian hormone level on clinical pregnancy rates in ART." *Gynecological Endocrinology* 33.sup1 (2017): 41-43.
 62. Hughes SM, Huang ZH, Morris ID, Matson PL, Buck P, Lieberman BA. A double blind, crossover, controlled study to evaluate the effect of human biosynthetic growth hormone on ovarian stimulation in previous poor responders to in vitro fertilization 1994;9(1):3-8.
 63. Muttukrishna S, Suharjono H, McGarrigle H, Sathanandan M. Inhibin B and antiMullerian hormone: markers of ovarian response in IVF/ICSI patients? *BJOG*. 2004 Nov; 111(11): 1248 –

64. Blacker CM. Ovulation stimulation and induction. In: Moghissi KS. Ed, Endocrinology and metabolism clinics of north America: Reproductive Endocrinology. WB Saunders,1992;
65. Pasqualotto EB, Agarwal A, Sharma RK, Izzo VM, Pinotti JA, Joshi NJ, and Rose BI. Effect of oxidative stress in follicular fluid on the outcome of assisted reproductive procedures. *Fertil Steril* 2004;81:973–97
66. Paszkowski, T. and Clarke, R.N. Antioxidant capacity of preimplantation embryo culture medium declines following the incubation of poor quality embryos. *Hum. Reprod.* 1996;11;2493-2495.
67. Vignini A, Turi A, Giannubilo SR, Pescosolido D ve ark. Follicular fluid nitric oxide (NO) concentrations in stimulated cycles: the relationship to embryo grading. *Arch Gynecol Obstet.* 2008;277:229–32.

8. ÖZET

İN VİTRO FERTİLİZASYON (IVF) YAPILAN NORMAL VE DÜŞÜK OVARYAN YANITLI HASTALARDA SERUM VE FOLLİKÜLER SIVILARINDA OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Çalışmamızın amacı IVF tedavisi gören normal ve düşük ovaryan yanıtli hastalarda, yumurta toplama günü alınan serum ve folikül sıvılarında, TAS, TOS ve OSİ düzeylerinin oosit maturasyonu, embriyo kalitesi ve klinik gebelik sonuçları ile ilişkisinin ortaya konmasıdır. Prospektif ve tek merkezli olarak planlanan bu çalışmaya, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yardımcı Üreme Teknikleri Merkezi'nde Mart 2022 ve Mart 2023 tarihleri arasında IVF tedavisi gören 18-35 yaş arası, 40 adet normal, 40 adet düşük ovaryan yanıtli toplam 80 infertil kadın hasta dahil edildi. Erkek faktörü, Hipo-hipertiroidi, hiperprolaktinemi, adrenal disfonksiyon gibi diğer infertilite sebeplerine sahip hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Hastalar Bologna tanı kriterlerine göre normal veya düşük ovaryan yanıtli olarak sınıflandırılarak, yaş, VKİ, infertilite tipi gibi demografik verilerin yanında yumurta toplama günü alınan serum ve folikül sıvılarından çalışılan AMH, TAS, TOS ve OSİ parametreleri kullanıldı. Ardından bu parametrelerle oosit kalitesi, embriyo kalitesi ve klinik gebelik sonuçları arasındaki ilişki incelendi.

Normal ve düşük ovaryan yanıtli hasta grupları arasında yaş ve VKİ açısından anlamlı fark izlenmedi ancak AMH ve AFC değerleri anlamlı olarak normal ovaryan yanıtli hastalarda yüksek saptandı.

Normal ovaryan yanıtli hasta grubunda elde edilen toplam oosit, toplam M2 oosit, toplam 2PN oosit sayıları ve maturasyon oranı düşük ovaryan yanıtli hasta grubuna göre anlamlı derecede daha yüksekti.

Normal ovaryan yanıtli hastalarda serum ve foliküler sıvıdaki TAS seviyeleri düşük ovaryan yanıtli hasta grubuna göre daha yüksektir.

Düşük ovaryan yanıtı hastalarda serum ve foliküler sıvıdaki TOS seviyeleri ve OSİ değerleri, normal ovaryan yanıtı hasta grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı.

Normal ovaryan yanıtı hasta grubunda embriyo kalitesi iyi (garde 1-2) olan hastalarda folikül sıvısında TAS seviyeleri yüksek olarak bulunmuştur, bu da normal ovaryan yanıtı hastalarda folikül sıvısındaki yüksek TAS seviyelerinin embriyo kalitesi ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

Normal ovaryan yanıtı hasta grubunda embriyo kalitesi kötü (grade-3) olan hastalarda serum OSİ seviyeleri yüksek olarak bulunmuştur, bu da normal ovaryan yanıtı hastalarda serumdaki yüksek OSİ seviyelerinin embriyo kalitesi ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

Düşük ovaryan yanıtı hasta grubunda embriyo kalitesi açısından serum ve foliküler sıvıda, oksidatif stres parametrelerinde anlamlı fark saptanmadı.

IVF tedavisi sonucu klinik gebelik elde edebilen normal ovaryan yanıtı hastalarda, folikül sıvısındaki TAS değeri klinik gebelik elde edemeyen gruptan anlamlı olarak daha yüksek olarak izlendi.

Klinik gebelik elde eden düşük ovaryan yanıtı hasta grubunda oosit maturasyonu ve foliküler sıvı TAS değeri anlamlı olarak yüksek olduğu izlendi.

Anahtar Kelimeler: IVF, Normal ovaryan yanıtı, Düşük ovaryan yanıtı, folikül sıvısı, serum, AMH, TAS, TOS, OSİ, oosit kalitesi, embriyo kalitesi, Klinik gebelik

9. SUMMARY

COMPARISON OF OXIDATIVE STRESS PARAMETERS IN SERUM AND FOLLICULAR FLUID OF NORMAL AND LOW OVARIAN RESPONDER PATIENTS UNDERGOING IN VITRO FERTILIZATION (IVF)

The aim of our study was to determine the relationship between IVF outcomes and serum and follicular fluids TAS, TOS and OSI levels in normal and low ovarian responsive patients undergoing IVF treatment. In this prospective, single-center study, a total of 80 infertile women aged 18-35 years, 40 with normal ovarian response and 40 with low ovarian response, who underwent IVF treatment at Gazi University Medical Faculty Assisted Reproductive Techniques Center between March 2022 and March 2023, were included. Patients with other causes of infertility such as male factor, hypo-hyperthyroidism, hyperprolactinemia, adrenal dysfunction were excluded. Patients were classified as normal or low ovarian responder according to the Bologna diagnostic criteria. Demographic data including, BMI, infertility type and AMH, TAS, TOS and OSI parameters obtained from follicular fluids collected during oocyte pick-up and serum were evaluated. The relationship between these parameters and oocyte quality, embryo quality and clinical pregnancy outcomes was then analyzed.

There was no significant difference in age and BMI between normal and low ovarian responsive patient groups, but AMH and AFC values were significantly higher in normo-responder patients.

The total number of oocytes, total M2 oocytes, total 2PN oocytes and maturation rate were significantly higher in the normal ovarian responder patients compared to the low ovarian responder patients.

TAS levels in serum and follicular fluid were higher in patients with normal ovarian response than in low ovarian responders.

TOS levels in serum and follicular fluid and OSI values were significantly higher in patients with low ovarian response than in patients with normal ovarian response.

In the normal ovarian response group, TAS levels in follicular fluid were found to be high in patients with good embryo quality (grade 1-2), suggesting that high TAS levels in FF of patients with normal ovarian response are associated with embryo quality.

In the normal ovarian response patient group, serum OSI levels were high in patients with poor embryo quality (grade-3), suggesting that high OSI levels in serum are associated with embryo quality in patients with normal ovarian response.

There was no significant difference in oxidative stress parameters in serum and follicular fluid in terms of embryo quality in the low ovarian response patient group.

In patients with normal ovarian response achieving clinical pregnancy, TAS value in follicular fluid was significantly higher than the group who could not get pregnant.

Oocyte maturation and follicular fluid TAS values were significantly higher in the low ovarian responder patients who achieved clinical pregnancy.

Keywords: IVF, normo responder, poor responder, follicular fluid AMH, TAS, TOS, OSI, oocyte and embryo quality, clinical pregnancy