

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM
ANABİLİM DALI

**‘In Vitro Fertilizasyon (IVF) Yapılacak Olan Poor Responder
(Zayıf Cevap Gösteren) Hasta Grubuna Uygulanacak Tedavi
Modalitelerinin Başarısının Karşılaştırılması’**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Harika YUMRU ÇELİKSOY

TEZ DANIŞMANI: Prof.Dr. Faruk BUYRU

İSTANBUL

2016

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM
ANABİLİM DALI

**‘In Vitro Fertilizasyon (IVF) Yapılacak Olan Poor Responder
(Zayıf Cevap Gösteren) Hasta Grubuna Uygulanacak Tedavi
Modalitelerinin Başarısının Karşılaştırılması’**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Harika YUMRU ÇELİKSOY

TEZ DANIŞMANI: Prof.Dr. Faruk BUYRU

İSTANBUL

2016

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışım olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da referanslar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Dr. Harika YUMRU ÇELİKSOY



İÇİNDEKİLER

Önsöz.....	IV
Kısaltmalar.....	V
Şekil, grafik ve tablolar dizini.....	VII
Özet.....	1
Abstract.....	3
Giriş.....	4
Genel bilgiler.....	6
I. İnfertilite.....	6
I.A. İnfertilite nedenleri	6
I.A.1. Overyan faktör.....	6
I.A.2. Ovulatuvar bozukluklar.....	6
I.A.3.Over rezervinin azalması ve yaş.....	7
I.B. İnfertilitede tanı ve tetkik.....	8
I.B.1 Bazal FSH ve E ₂	9
I.B.2. Klomifen sitrat uyarma testi.....	10
I.B.3. İnhibin B.....	10
I.B.4. Antimülleryen hormon.....	10
I.B.5. Antral folikül sayısı(AFS).....	11
I.B.6. Over hacmi.....	11
I.C. İnfertilite tedavisi.....	11
I.C.1. İn vitro fertilizasyon.....	12
II. Kontrollü over hiperstimulasyonu.....	13

II.A. Poor responder hastalar için KOH protokolleri.....	14
II.A.1. GnRH agonist uzun protokol.....	14
II.A.2. GnRH agonist flare(kısa) protokol.....	15
II.A.3. Mikrod doz GnRH flare protokol.....	15
II.A.4. GnRH antagonist protokol (kısa).....	15
II.A.5. Diğer protokoller ve adjuvan tedavi.....	16
Amaç.....	20
Gereç –yöntem.....	20
Bulgular.....	22
Tartışma.....	26
Sonuç.....	28
Kaynaklar.....	29

ÖNSÖZ

Asistanlık hayatıma başladığımdan beri, her zaman desteğini gördüğüm, bilgi ve deneyimlerinden çok fazla yararlandığım, kendime örnek aldığım, saygı değer hocalarım İstanbul Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı eski başkanı Prof. Dr. Sinan Berkman ve İstanbul Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Önay Yalçın'a;

Tezimin hazırlanması ve yürütülmesi süresinde katkılarını esirgemeyen, bilgisiyle beni aydınlatan sayın hocam Prof.Dr. Faruk Buyru'ya,

Tezimin her aşamasında ve asistanlığım boyunca her konuda desteğini esirgemeyen Doç.Dr. Ercan Baştu'ya,

Birlikte çalıştığım için kendimi çok şanslı hissettiğim, her zaman örnek alacağım Doç. Dr. Funda Güngör Uğurlucan ve başasistanlarım Op. Dr. Cenk Yaşa ve Op. Dr. Özlem Dural'a,

Eğitimime katkıları nedeniyle her zaman minnettar olacağım Prof. Dr. Recep Has, Prof. Dr. Halil Saygılı, Doç. Dr. Samet Topuz, Doç. Dr. Cem İyiboşkurt, Doç. Dr. İbrahim Kalelioğlu ve tüm hocalarıma saygıyı bir borç bilirim.

Yaklaşık beş yıl boyunca birlikte güzel ve neşe dolu, zaman zaman da yorucu ve zor anları paylaştığım tüm asistan arkadaşlarıma;

Kliniğimizde çalışan ve her zaman iyi hatırlayacağım hemşire ve personellere;

Bugüne kadar her zaman yanımda olan eşim ve aileme;

Dünyama geldiği andan itibaren mutluluk, huzur ve motivasyon kaynağım kızım Hayal'e...

TEŞEKKÜR EDERİM.

KISALTMALAR

IVF: İn vitro fertilizasyon

KOH: Kontrollü over hiperstimulasyonu

E2: Estradiol

FSH: Folikül stimulan hormon

KS: Klomifen sitrat

hMG: İnsan menopozal gonadotropini

GnRH: Gonadotropin salıverici hormon(GnRH)

GnRHa: GnRH agonisti

GH: Büyüme hormonu

Gn: Gonadotropin

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

PKOS: Polikistik over sendromu

POY: Prematür over yetersizliği

YÜT: Yardımcı üreme teknikleri

AOR: Azalmış over rezervi

ASRM: Amerika üreme tıbbı derneği

VKİ: Vücut kitle indeksi

TVUSG: Transvaginal ultrasonografi

HSG: Histerosalpingografi

TSH: Tiroid stimulan hormon

PrL: Prolaktin

AMH: Antimüllerian hormon

AFS: Antral folikül sayısı

IU/L: İnternasyonal ünite/ Litre

Pg: Pikogram

ml: Mililitre

TGF- β : Transforme edici büyüme faktörü-beta

Ng: Nanogram

OHSS: Over hiperstimulasyon sendromu

Kg/m²: Kilogram/metrekaare

IUI: İntrauterin inseminasyon

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

LH: Luteinizan hormon

hCG: İnsan koryonik gonadotropini

OKS: Oral kontraseptif

IGF-1: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1

DHEA: Dihidroepiandrostenedion

FDA: Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi

OPU: Oosit pick up

ŞEKİL, GRAFİK VE TABLOLAR DİZİNİ

Şekil 1: Donör ya da hastanın kendi yumurtaları ile taze embriyo kullanılarak yapılan YÜT siklusunda hastanın yaşı ile transfer başına düşen canlı doğum oranının ilişkisi.....	8
Tablo 1 : İstatistiksel analizler.....	21
Tablo 2: İnfertilite nedenlerinin dağılımı	22
Tablo 3: İnfertilite tiplerinin dağılımı	22
Tablo 4: Uygulanan protokollerin hasta dağılımı	22
Tablo 5: Gonadotropin çeşitlerinin dağılımı	23
Tablo 6: Grupların istatistiksel verileri 1.....	23
Tablo 7: Grupların istatistiksel verileri 2.....	24
Tablo 8: Gebelik sonuçları 1.....	24
Tablo 9: Gebelik sonuçları 2.....	24
Grafik 1: Gebelik oranları.....	25

ÖZET

GİRİŞ: In vitro fertilizasyon(IVF), diğer adıyla tüp bebek infertil hastalarda oldukça etkin bir tedavi yöntemidir. Ancak IVF siklusunda yapılan kontrollü over hiperstimulasyona (KOH), overlerin normalden daha az yanıt vererek yetersiz folikül gelişimi ile sonuçlandığı “poor responder” denilen hasta grubu önemli bir sorun teşkil etmeye devam etmektedir. Bu hastalarda optimal KOH protokolü konusu belirsizliğini korumaktadır. Çok çeşitli protokoller ve ilaçlar kullanılmış ancak kesin bir kanıya varılamamıştır.

AMAÇ: Çalışmamızın amacı poor responder hasta grubunun tedavisinin geliştirilebilmesine katkıda bulunmak ve bu hasta grubunda kullanılan çok yüksek dozlardaki gonadotropin miktarını azaltmak için letrozol ekleyerek tedavi sonuçlarını karşılaştırmaktır.

GEREÇ - YÖNTEM: Çalışmamız prospektif, randomize, kontrollü olacak şekilde dizayn edilmiş olup, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, İnfertilite Polikliniğine Mayıs 2014 - Haziran 2015 tarihleri arasında başvuran ve kriterlere uyan 33 hasta Letrozol + 150 IU Gonadotropin grubu ve 27 hasta 300 IU Gonadotropin olmak üzere toplam 60 kişi alındı. Bilinen uterin patolojisi olan hastalar dışlandı. Her iki hasta grubundan tedavi ile ilgili ayrıntılı bilgi vererek tedavilerin yapılmasını kabul ettiklerine dair aydınlatılmış onamları alındı. Siklusun 3. günü birinci gruba Letrozol (2x2,5mg, 5gün süreyle) ve düşük doz (150IU/gün) Gonadotropin, ikinci gruba sadece yüksek doz (300IU/gün) Gonadotropin başlandı. Her iki gruba da standart GnRH antagonist protokol ile birlikte IVF/ICSI uygulandı. KOH verileri ve IVF sonuçları karşılaştırıldı.

BULGULAR: Letrozol grubunda kullanılan toplam Gn dozu anlamlı olarak düşük bulunmuştur (1354 ± 468 IU ‘e karşı 2555 ± 725 IU, $p < 0,05$). Elde edilen oosit sayısı her iki grupta benzer çıkmıştır (ortalama 1,30’e karşı 1,81, $p > 0,05$). Transfer edilen embriyo sayısı her iki grupta da ortalama 0,52 bulunmuştur. Yüksek doz Gn grubunda sayısal olarak fazla gebelik olmasına rağmen (Letrozol grubunda 1 klinik gebelik, diğer grupta 1 biyokimyasal, 2 klinik gebelik) istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($0,06$ ‘e karşı $0,19$, $p > 0,05$). Folikül gelişmemesine bağlı siklus iptal oranları her iki grupta da yüksek olmakla birlikte benzer olmuştur ($\%60,6$ ’e karşı $\%62,9$, $p > 0,05$).

SONUÇ: Bu sonuçlara göre Letrozol ile düşük doz Gn vererek oosit eldesi, gebelik ve implantasyon oranları yüksek doz verilen protokole göre farksız olup, poor responderlarda beklenen siklus iptalleri benzer olarak görülmüştür. Ovaryen rezervi az olan hastalarda bilinen

konvansiyonel yöntem (yüksek doz gonadotropin) yerine daha mild protokoller (Letrozol + düşük doz gonadotropin) seçilmesi avantajlı olabilmektedir. Bu grupta daha sık görülen siklus iptalleri göz önüne alınarak bu konu ile ilgili daha çok hasta ile çalışmaların yapılması gerekmektedir.



ABSTRACT

BACKGROUND: Poor ovarian response to controlled ovarian stimulation is one of the major problem in the treatment of in vitro fertilization. Although several stimulation protocols have been used for treatment of poor responders, optimal strategy for these women still remains controversial issue.

OBJECTIVE: The aim of the present study is to evaluate the outcomes of using the aromatase inhibitor letrozole with low gonadotropin dose and high gonadotropin dose without letrozole for ovarian stimulation in poor responders who are scheduled for in vitro fertilization.

DESIGN: Prospective randomized clinical trial study in an University Hospital setting.

MATERIALS AND METHODS: This study consisted of 60 poor responder women. They were randomly subdivided into two groups: group 1 (n=33), women who underwent the Letrozole/low gonadotropin dose (starting with 150 IU) treatment of ovarian stimulation and group 2 (n=27) women who underwent only high dose gonadotropin (starting with 300IU) treatment. We performed GnRH antagonist protocol in each group. Main outcome measure was pregnancy rate.

RESULTS: The mean total dose of Gn was significantly lower in Letrozole-treated group compared with another group (1354 +/- 468 IU versus 2555 +/- 725 IU, $p < 0,05$). There were no significant differences in the mean number of oocytes retrieved between two groups (1,30 vs 1,81, $p > 0,05$). The mean number of embryo transfer is same (0,52) in each group. Despite the pregnancy rate was higher in the high dose Gn- treated group (letrozole-treated group-1 clinical pregnancy, high dose Gn group- 1 chemical and 2 clinical pregnancy), it's not statistically significant (0,06 vs 0,19, $p > 0,05$). The rate of cycle cancellation due to poor ovarian response was very high and similar in the two groups (% 60,6 vs % 62,9, $p > 0,05$)

CONCLUSION: The Letrozole incorporated in low dose gonadotropin for poor responders did not improve the pregnancy outcomes of IVF cycles. Total number of patient was our limitation. Furthermore, large, prospective randomized studies are needed to evaluate the impact of Letrozole as adjuvant treatment in poor responders.

‘IN VITRO FERTİLİZASYON (IVF) YAPILACAK OLAN POOR RESPONDER (ZAYIF CEVAP GÖSTEREN) HASTA GRUBUNA UYGULANACAK TEDAVİ MODALİTELERİNİN BAŞARISININ KARŞILAŞTIRILMASI’

GİRİŞ

İnfertilite terim olarak çiftin kontrasepsiyon yöntemi kullanmaksızın 12 aylık düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebe kalamaması olarak ifade edilir. Bu süre 35 yaş ve üstü kadınlarda 6 ay olarak kabul görmektedir (1). Bazı klinisyenler ise çiftin steril olduğu kanıtlanana kadar “subfertilite” terimini kullanmayı uygun görür. Hasta daha önce hiç gebelik yaşamadıysa ‘primer’, yaşadı ise ‘sekonder’ infertilite olarak adlandırılır.

In vitro fertilizasyon (IVF), diğer adıyla “tüp bebek” infertil hastalarda oldukça etkin bir tedavi yöntemidir. Bir IVF siklusunda başarıyı etkileyen birçok prognostik faktör bulunmaktadır. Bunlar içinde over rezervi başta gelir (2). Over stimülasyonu infertilite tedavisinde, dolayısıyla IVF’de büyük yer tutar. Kontrollü over hiperstimülasyonuna (KOH) overlerin normalden daha az yanıt vererek yetersiz folikül gelişimi ile sonuçlanması IVF’de önemli bir sorun teşkil etmektedir. Böyle hastaları tarif eden “poor responder” (zayıf cevap gösteren) terimi ilk kez 1983 yılında kullanılmıştır (3). Azalmış foliküler yanıt ve düşük östradiol (E₂) seviyeleri yetersiz sayıda oosit toplanması ve embriyo transferine yol açmaktadır. Poor responder hasta grubunda siklus iptali oranı yüksek iken, gebelik oranları düşüktür (4,5). Bu hastalarda optimal KOH protokolü konusu belirsizliğini korumaktadır. Çok çeşitli protokoller ve ilaçlar kullanılmış ancak kesin bir kanıya varılamamıştır. Bunlar içinde yüksek doz folikül stimulan hormon (FSH) (6), klomifen sitrat (KS) ve insan menopozal gonadotropin (hMG) kombinasyonu (7), mikrod doz gonadotropin salıverici hormon (GnRH) agonist flare protokolü (8), GnRH agonist (GnRHa) stop protokolü (9), büyüme hormonu (GH) eklenmesi (10), GnRH antagonist protokolü (11), doğal sikluslar (12) ve daha başka yöntemler denenmiştir. Foliküler yanıtı arttırmak için en yaygın uygulanan strateji ise yüksek doz gonadotropinlerin kullanımıdır. Randomize kontrollü, prospektif ve retrospektif çalışmalarda yüksek doz FSH etkinliği değerlendirilmiş ve yararı az olmakla birlikte maliyeti çok arttırmıştır (13-15). Diğer çalışmalarda ise poor responder kadınların tedavisine Letrozol eklenmesi ile hem KOH için gerekli gonadotropin dozunun azaldığı, hem de FSH’a over yanıtının güçlendiği ve toplanan oosit sayısının arttığı gösterilmiştir (16,17). Letrozol potent ve yüksek spesifikiteye sahip nonsteroidal bir aromataz inhibitörü olup, asıl kullanım alanı meme kanseri tanılı postmenopozal kadınlarda östrojen üretimini baskılamak içindir (18).

Östrojen sentezinde görevli aromataz enzimini inhibe etmesiyle östrojen azalır ve gonadotropin sentezi üzerindeki negatif feedback etki kalkar, endojen gonadotropin artar (19). Ayrıca Letrozol over dokusundaki androjeni artırır ki androjen granüloza hücrelerinde FSH reseptör ekspresyonunu arttırarak poor responder kadınlarda FSH'a overlerin yanıtını güçlendirmektedir (20). Bu gibi etkileri ile son zamanlarda infertilitede ve özellikle poor responder hasta grubunda kullanımı popüler hale gelmiştir.

Biz de bu prospektif ve randomize kontrollü çalışmamızda IVF planlanan poor responder hastaları iki gruba ayırdık ve GnRH antagonist protokolü uygulayarak KOH için bir grupta Letrozol ve düşük doz gonadotropin ile, diğer grupta Letrozol olmaksızın yüksek doz gonadotropin kullanımını karşılaştırmayı hedefledik. Böylece poor responder hasta grubunun tedavisinin geliştirilebilmesine katkıda bulunmak ve bu hasta grubunda kullanılan çok yüksek dozlardaki gonadotropin miktarını azaltmak için Letrozol ekleyerek tedavi sonuçlarını karşılaştırmaktır.

GENEL BİLGİLER

I. İnfertilite

Çocuk istemi olan çiftlerden % 85-90'ı bir sene içerisinde gebelik elde etmektedir (21). Prospektif bir çalışmada kümülatif verilere göre çiftler 1, 3, 6 ve 12. aylarda sırasıyla %38, 68, 81 ve 92 oranında gebelik elde etmiştir. Yani 6. aydan sonra kalan çiftlerin yarısı infertil ya da subfertildir (22).

I.A. İnfertilite nedenleri

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün gelişmiş ülkelerde 8500 infertil çiftte yaptığı çalışma sonucunda % 37 kadın faktörü, % 8 erkek faktörü, %3 5 hem erkek, hem de kadın faktörü olduğu bildirilmiştir. % 5 çiftte açıklanamayan infertilite mevcut iken, % 15'i çalışma esnasında gebe kalmıştır. Yine aynı çalışmada tanınabilen en yaygın kadın faktörleri arasında % 25 ovulatuvar bozukluklar, % 15 endometriozis, % 12 pelvik adezyonlar, % 11 tubal tıkanıklıklar, % 11 diğer tubal bozukluklar, % 7 hiperprolaktinemi yer almaktadır (23). Bu nedenlerin dağılımı ve sıklığı primer veya sekonder infertilitede benzerdir ve yıllar içinde anlamlı bir değişiklik olmamıştır (24). Diğer nadir nedenler arasında uterin myom, polip ve adezyonlar, servikal faktörler, koital problemler, immunolojik ve genetik faktörler vardır.

Tezimle ilişkili esas konu olduğundan ovaryen faktör ve özellikle azalmış over rezervine değinmek istiyorum.

I.A.1. Ovaryen faktör

I.A.2. Ovulatuvar bozukluklar

Düzenli adet gören ve memelerde hassasiyet, dismenore, şişkinlik gibi adet ile ilgili semptomları olan kadınlar genellikle ovulatuvar olarak düşünülebilir. Aksi halde anovulasyon söz konusu olabilir. DSÖ anovulasyonu üç ana kategoride değerlendirmektedir:

- 1- DSÖ sınıf 1: Hipogonadotropik hipogonadal anovulasyon (hipotalamik amenore) % 5-10,
- 2- DSÖ sınıf 2: Normogonadotropik normoöstrojenik anovulasyon (en sık polikistik over sendromu (PKOS)) % 70-85,
- 3- DSÖ sınıf 3: Hipergonadotropik hipoöstrojenik anovulasyon (Prematür over yetersizliği (POY) gibi) % 10-30 oranındadır.

~DSÖ hiperprolaktinemi bu bunlardan ayrı olarak ele almıştır. Hiperprolaktinemi, gonadotropin ve dolayısıyla östrojen sentezini inhibe ederek anovulasyona neden olmaktadır. Ancak gonadotropin seviyeleri genellikle normal sınırlardadır.

I.A.3. Over rezervinin azalması ve yaş

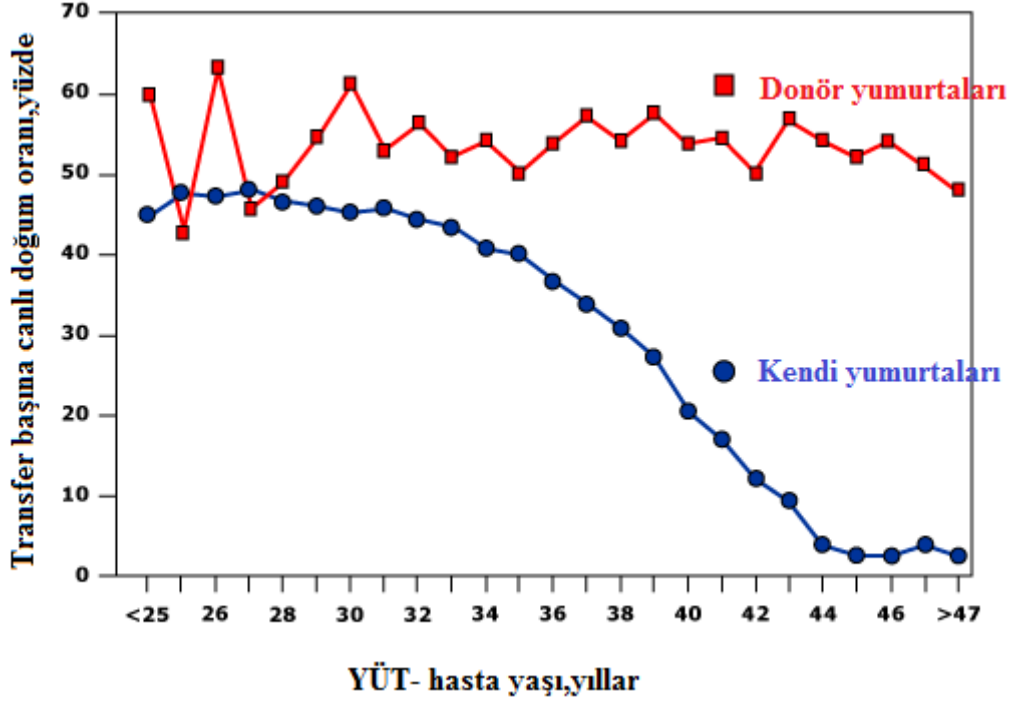
Foliküler havuzun büyüklüğü ve kalitesi “over rezervi” olarak tanımlanabilir. Gebeliğin 20. haftasında fetusun overlerindeki toplam primordiyal folikül sayısı maksimum değer olan 6-7 milyon civarındadır. Bundan sonra mitoz durur ve atrezi başlar; doğum zamanı geldiğinde folikül sayısı 1-2 milyona düşer. Pubertede 300 bin kalan foliküllerden tüm reproduktif çağ boyunca ancak 400-500 tanesi ovüle olur. Menopoz ile bu havuzda ancak 1000’in altında oosit kalır (25).

Yaş, kadın fertilitesinde rol alan en önemli faktördür. Bir istatistiğe göre evli kadınlar içinde primer infertilite sıklığı 15-35 yaş arasında %7,3-9,1 iken, 35-39 yaş arasında % 25 olup, 40-44 yaş arasında % 30’a kadar çıkmaktadır (26). Günümüzde kadınların eğitim ve kariyerinin ön plana çıkması, evliliklerin geç olması ve aile planlamasındaki gelişmeler ile çocuk isteklerinin ertelenmesi sonucunda ilk canlı doğumdaki ortalama yaş giderek artmıştır (ilk doğumu 30 yaşın üzerinde yapanların sayısı 1970 yılından 2002 yılına altı kat artmıştır) (27). Bu da yardımcı üreme tekniklerinin (YÜT) daha popüler hale gelmesine neden olmuştur. Ancak YÜT başarısı da öncelikle yaşa bağlıdır (Şekil 1).

Reproduktif çağın sona gidişatını tanımlayan azalmış over rezervi (AOR) terimi ilk defa 1987’de Navot ve ark. tarafınca kullanılmıştır (28). Over rezervinin azalması ve yaşlanma ile foliküllerin gonadotropinlere yanıtı azalmakta ve stimülasyon için daha çok gonadotropin dozu ve süresi gelmektedir (29). Azalmış over rezervi ve yaşlanma zayıf cevabın nedeni olduğu gibi, poor responder hasta grubunun da menopoza daha erken girmeye eğilimli olduğu görülmüştür (30-33). Yani normalden önce hem folikülerin yaşlandığını, hem de tüketimin hızının arttığını bildirerek erken sonun habercisi olmaktadır (30).

Fekundite, bir siklus başına canlı doğum oranını ifade ederken, fekundabilite siklus başına gebelik oranıdır. Şekil 1’de donör yumurtası kullanıldığında canlı doğum oranının yaş ile değişmediğini, yani esas olan alıcı değil vericinin yaşı olduğunu görüyoruz; bu da yaşa bağlı fekunditenin azalmasında esas olarak overlerin etkili olduğunu, endometriumun etkisi olmadığını düşündürmektedir. Yaş ile fekunditenin azalması oositlerin hem sayı, hem de kalitesinin azalmasına bağlıdır. Azalan sayı ile düzenli ovulasyon belki devam edebilir, fakat

kalitedeki bozulma infertilite nedeni olacaktır. Kalitedeki azalmanın mayotik ayrılmamadaki artıştan olduğu bilinmektedir (34). Bu da oosit ve embriyolarda anöploidi olması demektir. Bu artan yaş ile abortusların artışını da açıklayabilir.



Şekil 1: Donör ya da hastanın kendi yumurtaları ile taze embryo kullanılarak yapılan YÜT siklusunda hastanın yaşı ile transfer başına düşen canlı doğum oranının ilişkisi, 2006 (Centers for Disease Control and Prevention, American Society for Reproductive Medicine, Society for Assisted Reproductive Technology. 2006 Assisted Reproductive Technology Success Rates: National Summary and Fertility Clinic Reports, Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention, 2008)

Azalmış over rezervine yaş dışında sigara, radyasyon gibi çevresel faktörler; kemoterapi, geçirilmiş over cerrahisi, endometriozis, pelvik enfeksiyonlar, otoimmün hastalıklar ve genetik bozukluklar da neden olabilir (35-37).

I.B. İnfertilitede tanı ve tetkik

Toplumda çok sık karşılaşılan bu durum ruhsal, sosyal, medikal ve ekonomik olarak ciddi sorunlar yaratır. Tanı, değerlendirme ve tedavi süreci çoğu çiftte stresli geçer. İnfertilite değerlendirmesi tanı ve tedavide uzmanlaşmış kişilerce gerekirse psikolojik destek altında yönetilmelidir. Genel kanı 12 aylık düzenli ve korunmasız ilişkiye rağmen gebelik elde edilemiyorsa değerlendirme şarttır. Ancak Amerika Üreme Tıbbı Derneği (ASRM) 35 yaş

üstü hastalarda 6 aydan sonra, hatta bilinen endometriozis, amenore, uterin/tubal hastalık veya erkek faktörü gibi bir sorun mevcut ise daha erken değerlendirme önermektedir (38).

Primer veya sekonder infertilite için benzer yaklaşım kullanılmaktadır. Ayrıntılı anamnez ve fizik muayene sonrasında tanıya yönelik gerekli tetkikler istenmelidir. Anamnezde infertilite süresi, önceki tedaviler, menstrüel öykü, seksüel aktivite, medikal ve cerrahi öykü, aile anamnezi, sigara ve alkol kullanımı sorgulanmalıdır. Fizik muayenede vücut kitle indeksi (VKİ), sekonder seks karakterleri, vajinal tuşe ile uterin cesamet, adneksiyel hassasiyet, Douglas hassasiyeti ve nodülerite varlığı, servikal valf muayenesi ile patoloji varlığı değerlendirilmelidir. Ülkemiz şartlarında transvajinal ultrasonografi (TVUSG) muayene esnasında her hastaya yapılmaktadır. Ayrıca hormonal fonksiyon değerlendirmesi için siklusun 3. günü FSH, E2, uterin ve tubal anatomi için histerosalpingografi (HSG) ve erkek faktörü için semen analizi istenmelidir. Gerekli durumlarda tiroid stimulan hormon (TSH), prolaktin (PRL) bakılır. Endikasyon halinde pelvik patoloji varlığı, tubal açıklık ve uterin anomali değerlendirmesi için laparoskopi ve histeroskopi yapılmalıdır.

Over rezervini değerlendirmek infertilitede çok önemli olmasına rağmen ideal bir test mevcut değildir. Hiçbir test azalmış over rezervi tanısını koydurmaz ya da kesinleştirmez. Sadece IVF siklusunda KOH'a vereceği yanıtı (poor responder öngörüsü) ve gebelik başarısını öngörmemize yardımcı olur. Over rezerv testleri, foliküler havuzun hem sayı, hem kalitesi hakkında fikir veren biyokimyasal ve ultrasonografik (USG) değerlendirmeleri içerir. Bazal olarak FSH, E2, inhibin B ve son dönemde Antimülleryen Hormon (AMH) bakılabilirken, provokatif test için klomifen sitrat kullanılabilir. USG ile antral folikül sayısı (AFS) ve over hacmi değerlendirilir. Over rezerv testlerinden en doğru sonucu alabilmek için AOR için yüksek risk taşıyan hastalara test yapmalıyız. Çünkü sıklığı az popülasyonda pozitif prediktif değer azalacağından, yanlış pozitiflik ihtimali artacak ve bu durum yanlış tanı koymamıza neden olacaktır (39).

I.B.1. Bazal FSH ve E2

Siklus içerisinde değişkenlik gösterdiğinden, siklusun 3. günü bakılan bazal FSH değeri günümüzde en yaygın kullanılan oldukça basit bir over rezerv testidir. Foliküllerin azalmasıyla birlikte düşen inhibin seviyelerine bağlı FSH artış gösterir. Oosit kalitesinden ziyade sayısı ile ilgili bir fikir verir (40). Güncel testlerle 10 IU/L'den daha yüksek FSH değerlerinde gonadotropin ile stimulasyona zayıf yanıt beklenir ve özgüllüğü yüksektir (%80-100) (41). Tek bir ölçüm yeterli olmayabilir. Bazı genç kadınlar FSH normal çıksa bile

stimulasyona her seferinde zayıf yanıt verebilir. Tam tersi anormal sonuçlarda da hasta gebe kalabilir ancak test anormal ise güvenilirliği daha yüksektir (42). Mutlaka 3. gün E2 değeri ile birlikte değerlendirilmelidir.

Bazal E₂ değeri 80pg/ml üstünde olması halinde over rezervinin azaldığından, yüksek siklus iptali ve düşük gebelik oranından bahsedebiliriz. Ancak tek başına kullanmak yerine FSH ile birlikte değerlendirilmelidir. Yüksek E₂ değerleri FSH'ı inhibe ederek yanlış negatif sonuçlara yol açabilir. Hem FSH, hem de E₂ yüksek ise stimulasyona kötü yanıt olasılığı artmaktadır (43).

I.B.2. Kломifen sitrat uyarma testi

Siklusun 5-9. günlerinde 100 mg/gün kломifen sitrat verilmesi ile yapılan dinamik bir testtir. Siklusun 3. günü FSH ve E₂ bakılırken, 10. gün FSH bakılır (40). FSH ile prediktif değeri benzerdir. Normal olması fertilité hakkında çok fikir vermezken, anormal olması önemlidir. Üçüncü ve 10. günlerdeki FSH değerlerinden ikisi de 15 mIU/mL'in altında ise normal kabul edilirken, herhangi birindeki yükseklik AOR için anlamlıdır (44). Günümüzde pratikte kullanılmamaktadır.

I.B.3. İnhibin B

Esas olarak foliküler faz esnasında antral foliküllerin granüloza hücrelerinden salınan transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- β) süperalesine mensup dimerik bir polipeptittir. Eksojen GnRH ve FSH stimulasyonu ile yükselmektedir. Siklusiçi ve sikluslar arasında dalgalanmalar gösterir. Düşük düzeyleri ile zayıf yanıt arasında ilişki olduğu söylene de pozitif prediktif değeri düşüktür ve kullanımı önerilmemektedir (45,46).

I.B.4. Antimülleryen hormon (AMH)

İnhibin B gibi TGF- β süperalesine ait bir dimerik glikoproteindir. AMH'nın serum düzeyleri siklus boyunca sabit seyretmektedir. Preantral ve küçük antral foliküllerin granüloza hücrelerinden salgılanır ve erken folikül gelişiminde önemli rol oynar. Overlerin foliküler durumu ile sıkı ilişki içerisinde, over fonksiyonlarının erken ve güvenilir bir belirteçidir. Doğumdan sonra salgılanmaya başlar ve en yüksek seviyeye puberteden sonra ulaşır. Foliküler havuzun boşalması ile azalır ve menopozda ölçülemez seviyededir (47-49). KOH'a yanıt ve IVF'de gebelik oranı için prognostik marker olarak kabul görmüştür (50). Cut-off değeri hakkında fikir birliği sağlanamamıştır. Laboratuvarlar arası da farklılık mevcuttur. 0,5-

1,25 ng/mL arasında değişse de kabaca 1ng/mL değerinin altı poor responder ihtimalini artırmaktadır. 1-3,5 ng/mL arasında ise stimulusya iyi cevap verecek denilebilir. 3,5 ng/mL üstünde ise dikkatli olmak gerekir, çünkü aşırı yanıt sonucu over hiperstimulusyon sendromu (OHSS) gelişme riski artmaktadır (51).

I.B.5. Antral folikül sayısı (AFS)

Folikülogenez güncel siklusun aylar öncesinde başlar ve gelişen foliküller bir önceki siklusun luteal fazının sonunda göreve başlar. TVUSG ile ölçülebilen ve FSH'a duyarlı hale gelen, 2-10 mm boyutundaki antral foliküllerin her iki overde toplam sayısı, genel primordiyal folikül sayısı ile ilgili bilgi sağlar (52). Genelde erken foliküler fazda ölçüm yapılsa da, retrospektif bir kohort çalışma ile siklusun farklı fazlarında bakılan AFS ile zayıf over yanıtı arasındaki ilişkinin değişmediği gösterilmiştir (53). AFS ile IVF siklusunda toplanan oosit sayısı arasında paralellik mevcuttur (54). AFS için cut-off değer <5-7 olarak kabul edilmiştir (55). Over rezerv değerlendirmesinde en güvenilir ve doğru markerlar AMH ve AFS ikilisidir (56,57). AFS over rezervi ve yanıtı hakkında iyi bir belirteç olsa bile oosit kalitesi, IVF başarısı ve gebelik sonuçlarında öngörüsü daha azdır (58).

I.B.6. Over hacmi

Foliküllerin azalması ile beraber over hacmi de azalmaktadır, ancak ölçüm sikluslar arası ve değerlendirene göre değişiklik göstermesi nedeniyle pek kullanılmaz. Zaten tek başına fertilitte tedavisi sonuçlarını öngörmekte zayıf olması, rutin dışı kalmasına neden olmuştur (59-60).

Genel olarak, IVF planlanan çiftlerde rutin hale gelen over rezerv testlerinin hiçbir cut-off değeri aşırı uçlarda (kötü prognozlu kişileri saptamada yetersiz duyarlılığa neden olur) kullanılmadığı sürece IVF başarısını kesin olarak öngörmezler (61). Bu nedenle aşıkâr olan kötü değerler dışında elde edilen sonuçlar tedaviden vazgeçme nedeni olmamalı, tedavi seçeneği konusunda yönlendirici olmalıdır.

I.C. İnfertilite tedavisi

Gerekli tetkikler ile değerlendirilen hasta, infertilite nedenine yönelik en doğru strateji ile tedavi edilmelidir. Tedavinin kapsamı, etkinliği, güvenliği ve ekonomik yükü hakkında hasta ve eşi ile ayrıntılı konuşulmalıdır. Öncelikle hastalara fertilitesi normal çiftlerde dahi aylık gebe kalma olasılığının %20 civarında olduğunu ve zamanlanmış koitus ile bile %35'i

geçemediğinin bilgisi verilmelidir, ki tedavi ile % 100'lük bir beklenti içine girilmesin. Tedavi için kontrendike durumlar hastanın gebe kalmasının veya infertilite tedavisinde kullanılacak ilaçların kontrendike olmasıdır.

Tedaviye ilk olarak basit yaşam tarzı değişiklikleri ile başlanır. Sigara bırakılmalı, alkol ve kafein tüketimi sınırlandırılmalı ve VKİ normal değerler (20-25 kg/m²) arasında tutulmalıdır. Bu konuda randomize kontrollü çalışmalar olmasa da yararına dair fikir birliği mevcuttur (62-63). Sonrasında duruma göre medikal, cerrahi tedavi veya intrauterin inseminasyon (IUI) ve IVF gibi yardımcı üreme teknikleri tercih edilebilir. Gebeliğe kesin engel olacak bilinen bir patoloji yok ise, IVF öncesi çiftlerde 3-6 siklus ovulasyon indüksiyonu ile IUI denenmelidir.

Tezim ile ilgili olarak IVF hakkında ayrıntılı bilgi vereceğim.

I.C.1. In vitro fertilizasyon

İnsanda ilk IVF denemesi 1973 yılında Avustralya'da Carl Wood ve John Leeton tarafından yapılmış, ancak erken embriyo ölümü ile sonuçlanmıştır (64). 1976'da IVF ile ilk gebelik elde edilmiş olup, o da ektopik gebeliktir (65). Nihayet 1978'de IVF sonucunda ilk sağlıklı gebelik ve canlı doğum gerçekleşmiştir (66). Yıllar içinde çok büyük ilerleme kaydedilmiş olup, günümüzde başta IVF olmak üzere yardımcı üreme teknikleri Amerika ve Avrupa'da tüm doğumların % 1-3'ünü oluşturmaktadır.

IVF; eksojen gonadotropinler ile KOH sonrasında, TVUSG eşliğinde oosit aspirasyonu, laboratuvar ortamında sperm ile oosit fertilizasyonu ve oluşan embriyoların katater eşliğinde serviksi geçerek uterusu transferi işlemlerinden oluşmaktadır.

İlk başta tedavi edilemeyen tubal hastalıklar için planlanan IVF'in endikasyonları günümüzde oldukça çeşitlidir. Ağır erkek faktörü, AOR ve diğer tedavilerin başarısız olduğu tüm infertilite nedenlerinde uygulanabilir. Türkiye'de yasal olmamakla beraber POY olan kadınlarda oosit donasyonu, ciddi uterin faktör olanlarda taşıyıcı annelik kullanılarak IVF yapılabilir.

IVF prognozu endikasyonuna göre değişmektedir. Diğer prognostik faktörlerin başında yaş, over rezervi, eşlik eden hastalıklar ve reproduktif-obstetrik öykü yer alır. Yaş ve over rezervinin etkilerinden daha önce de bahsetmiştik. Tekrar etmek gerekirse, IVF başarısında yaş ana etmendir. ABD'de YÜT tedavisi gören kadınların ortalama yaşı 36'dır (67). 2007

yılında donör olmayan taze embriyolar ile yapılan IVF’de canlı doğum oranları yaşa göre sırasıyla şu şekildedir: <35yaş (% 39,6), 35-37yaş (% 30,5), 38-40yaş (% 20,9), 41-42 yaş (% 11,5) ve 43-44 yaş (% 5,4) (68). Bu düşüş hem folikül sayısının azalmasına bağlı KOH’a yetersiz yanıt, hem de oosit kalitesindeki bozulmaya bağlı implantasyon oranının da azalması sonucunda gerçekleşir (69,70). Hastanın kendi yumurtaları ile yapılacak olan IVF’de üst yaş sınırı için genel olarak görüşler 41-45 yaş arasında değişmektedir (71).

Hidrosalpenks varlığı IVF başarısını yarı yarıya azaltmaktadır ve IVF öncesinde salpenjektomi veya proksimal tubal ligasyon önerilmektedir (72). Myomların etkisi lokalizasyonuna göre değişmekle birlikte, en önemlisi submüköz myomlardır ve bunların eksizyonu başarıyı iki kat arttırmaktadır (73). Endometriozis varlığı diğer infertilite nedenleri ile benzer klinik gebelik ve canlı doğum oranına sahiptir (74).

Önceki canlı doğum anamnezi IVF’de daha yüksek başarı ile ilişkili iken düşük öyküsünün etkisi gösterilememiştir (75). Dört defaya kadar olan IVF siklusundaki başarısızlık öyküsünün de etkisi yoktur (76).

II. Kontrollü over hiperstimulasyonu (KOH)

IVF ile ilk canlı doğum spontan ovulatuvar siklus sonrası tek oosit oluşması ve tek embriyo transferi sonucunda gerçekleşmiştir (66). Ancak bu yöntem ile erken luteinizan hormon (LH) pikine bağlı ovulasyonun erken olması nedeniyle yüksek siklus iptali ve düşük başarı oranları saptanmıştır. Daha sonra birden fazla folikülün senkronize gelişmesi ve planlı ovulasyon sağlamak amacıyla overlerin stimulasyonu düşünülmüştür (77). Bu amaçla IVF’de kullanılan ilk stimulasyon ilacı klomifen sitrattır (78). Klomifen sitrat gibi selektif östrojen reseptör modölatörleri (SERM) oral olarak kullanılabilirken, günümüzde daha etkin olan eksojen gonadotropinlerin günlük enjeksiyonları tercih edilir. Foliküllerin maturasyonu tamamlanmadan oluşabilecek endojen LH pikini önlemek amacıyla GnRH agonist veya antagonistleri kullanılmaktadır. Foliküller matüre olunca da ovulasyon indüksiyonu için LH yerine insan koryonik gonadotropini (hCG) kullanılır. Genelde hedef en az iki tane 18 mm folikül oluşmasıdır. Poor responder hastalarda küçük foliküllerin gelişmesini beklemek için hCG enjeksiyonunu geciktirmek olumsuz etkilere yol açabilir.

KOH’un dezavantajları arasında ilaç kullanımının zorluğu ve yan etkileri, çoğul gebelik, OHSS riskinde artış ve yüksek maliyeti sayılabilir. Ayrıca progesteronun erken artışı

ve implantasyon penceresinin erkene kayması sonucunda embriyo ve endometrium arasında diskordans oluşur ve endometrial reseptivite azalır (79,80).

KOH konusunda en büyük problemi ise poor responder dediğimiz hasta grubu oluşturmaktadır. Zayıf yanıt gösteren bu grupta yetersiz oosit eldesi sonucunda siklus iptali riski yüksek olup, fertilizasyon, gebelik ve implantasyon oranları da düşüktür. Oosit toplanamadan siklusun iptal olma sıklığı % 10 civarında olup, bu oran yaşla artmaktadır (67). Siklus iptali yetersiz ya da aşırı cevaptan kaynaklanabilir, ancak büyük kısmını yetersiz cevap oluşturmaktadır. KOH uygulanan hastalar arasında zayıf yanıtlıların sıklığının % 10-25 arasında olduğu düşünülmektedir (4,5). Bu hastaları tarif etmek için herkes farklı ve çok çeşitli ölçütler kullanmış olup, bu durum çalışmalarda karışıklığa sebep olmaktadır. Ortak bir evrensel tanım olması için 2011’de Bolonya kriterleri yayınlanmıştır. Bunlar; (i) ileri anne yaşı(≥ 40 yaş) ya da yetersiz over cevabı için herhangi bir risk faktörü, (ii) daha önce yetersiz over cevabı olması (geleneksel stimülasyon protokolü ile ≤ 3 oosit eldesi), (iii) anormal over rezerv testi (AFS $< 5-7$ ya da AMH $< 0,5-1,1$ ng/ml) sonucudur. Bu üç kriterden iki tanesinin olması gereklidir. Maksimum stimülasyona rağmen iki kere yetersiz over cevabı gelişmesi poor responder demek için tek başına yeterlidir. Yaş ve over rezerv testlerinin normal olduğu hastaların arasında zayıf yanıt gösteren çıkabildiği gibi anormal olanlar arasında da normal yanıt izlenebilir. Bu nedenle standart bir protokole yetersiz cevap geliştiğini görene kadar bu hastaların ‘kötü yanıt beklenen’ olarak sınıflandırılması fikri de mevcuttur (55). Ancak IVF’in amacı gebelik ve canlı doğum elde etmek olduğundan kötü yanıt için tanımın kliniğin başarısına ve tekniğine göre değişebileceği; bu nedenle de Bolonya kriterlerinin pratik olmayacağı düşünülmektedir.

II.A. Poor responder hastalar için KOH protokolleri

II.A.1. GnRH agonist uzun protokol

Uzun protokolde IVF siklusundan önceki menstrüel siklusta midluteal dönemde GnRH agonisti başlanır. İki hafta süresince ya da hipofizer baskılama sağlanana kadar günlük löprolid asetat 1mg dozunda subkütan uygulanır (81). Buserelin veya triptorelin de kullanılabilir ve etkinlikleri benzerdir (82). Bir önceki siklusun luteal fazında başladığı için başlangıçtaki uyarıcı etkisini endojen östradiol ve progesteron sekresyonu ile kaybeder. Diğer bir seçenek de bir önceki siklusta OKS kullanarak GnRH agonistinin akut etkisini önlemektir. OKS ile baskılanan siklus sonrası gonadotropin uyarısına da daha iyi yanıt vermesi beklenir (83). Stimülasyon için hMG ve/veya FSH siklusun 3.gününden itibaren subkütan olarak

uygulanır. Başlanacak olan doz hastanın yaş, kilo, over rezerv test sonuçları ve daha önceki Gn kullanımına verdiği yanıtı göre ayarlanmakla birlikte, genellikle 150-300 IU/gün dozundadır. Gn başlanmasıyla GnRHa düşük dozda (0,5mg) kullanılmaya devam eder. Devam edilecek Gn dozu folikül gelişimine göre ayarlanmakla birlikte, ‘step-down’ ve ‘step-up’ protokol olarak bilinen azalan veya artan dozlarda kullanım da tercih edilebilir.

GnRH agonist tedavisinin dezavantajı Gn tedavisine duyarsızlık gelişme ihtimali vardır, bu da sonraki sikluslarda Gn dozunu arttırmamıza neden olur. Poor responder hasta grubunda istemeyeceğimiz bir duruma yol açar. Ayrıca bazı kadınlarda endojen LH salgısını normal foliküler gelişim için gerekli düzeyin de altına kadar indirdiğine dair endişeler vardır (84). Bu etki hMG kullanımı ile çözülebilir. Poor responder hastalarda GnRHa başlangıç dozu 0,5mg/gün, idame dozu da 0,25mg/gün olacak şekilde ayarlanırsa (düşük doz uzun agonist protokol) aşırı supresyon engellenmiş olur. Böylece siklus iptalinde azalma, toplanan oosit ve transfer edilen embriyo sayısında artış saptanmıştır (85).

II.A.2. GnRH agonist flare (kısa) protokol

Poor responder hastalarda uzun protokolden ziyade aynı siklusta Gn ile eş zamanlı başlanan GnRHa tedavisi daha faydalı olabilir. Böylece GnRHa alev etkisi foliküler gelişime destek olabilir ve siklus iptali riskini azaltır. Ancak yine de gebelik ve canlı doğum oranları benzer hatta düşük bulunmuştur (86). Bundan dolaşımdaki LH seviyesinin artışına bağlı bir önceki korpus luteumun korunması sonucunda progesteron ve androjen artışı sorumlu tutulmaktadır (87,88). Önceki siklusta OKS kullanılarak korpus luteumları baskılamak gerekir (89).

II.A.3. Mikrodoz GnRHa flare protokol

Mikrodoz GnRHa flare protokol kısa protokole benzer şekilde uygulanır. Sadece löprolid dozu 1 mg yerine günde iki kere 40 mcg şeklindedir. Siklusun 3.günü eş zamanlı yüksek doz Gn (300-450IU/gün) başlanır. Kısa protokole göre avantajı daha hafif flare etki ve LH artışına bağlı progesteron ve androjen artışının az olmasıdır (90).

Poor responder hasta grubunda daha düşük siklus iptali ve yüksek transfer oranına sahip olması nedeniyle ümit verir, ancak gebelik oranları benzer bulunmuştur (8,90,91).

II.A.4. GnRH antagonist protokol (kısa)

GnRH reseptörlerini doza bağlı bloke ederek GnRH agonistine göre daha hızlı hipofizer baskılama sağlar (92). Bu nedenle tedavi süresi kısa sürer. Siklusun 3. günü başlanan stimülasyon sonrası foliküller 14mm çapına ulaştığında ya da Gn tedavisinden 5-6 gün sonra GnRH antagonisti eklenir. Setroreliks veya ganireliks olarak iki tipi vardır ve aynı etkinliktedir. hCG enjeksiyonuna kadar günlük 0,25mg ciltaltına enjekte edilir (93,94).

GnRHa göre diğer bir avantajı önceki siklusun luteal fazında ya da erken foliküler fazda over supresyonu yapmamasıdır. Eksojen Gn tedavisine duyarlılık azalmaz ve daha düşük dozlar yeterli olur (95). Poor responder hastalarda daha kısa süreli stimülasyon ve düşük siklus iptali ile toplanan oosit sayısında artış sağlar (95,11). Poor responder için iyi bir seçenek olan mikrod doz flare protokolü ile karşılaştırıldığında etkinlikleri benzer bulunmuştur (96). Bir meta-analizde GnRHa uzun protokol ile kıyaslandığında OHSS insidansında % 60 kadar azalma ile birlikte klinik gebelik oranında az bir düşüş izlenmiştir (97).

Poor responder hastalarda siklusun 21. günü başlanıp Gn stimülasyonu başlanmasıyla kesilen mikronize östrojen tedavisi verilebilir. Bu yöntem ile önce geç luteal fazda FSH baskılanır, ardından foliküler fazda endojen FSH rebound artış gösterir ve eksojen Gn ile birleşerek multifoliküler gelişim desteklenir (98).

II.A.5. Diğer protokoller ve adjuvan tedavi

Özellikle poor responder hastalar için birçok yöntem denenmiştir. Yüksek doz Gn kullanımı bunların başında gelse de 450 IU/gün üzerinde dozu arttırmanın bir işe yaramadığı gösterilmiştir (15,99). Bu sınırlayıcı faktörün küçük antral foliküllerin sayısına bağlı olduğu ve bu sayı artmadığı için belli dozun üstünde yanıtın artmadığı düşünülmektedir (100,101).

GnRH agonist stop protokolü ise Gn ile stimülasyona başlamadan GnRHa tedavisini tamamen kesmeye dayanır. Ancak bu durumda prematür LH piki ve erken ovulasyon riski vardır. Zaten çalışmalarda daha fazla oosit toplanmasına rağmen gebelik oranlarını değiştirmemiş ve yüksek siklus iptaline neden olmuştur (9,102).

Standart tedaviye bazı yardımcı etken maddeler eklenmesi de söz konusudur. Kortikosteroidler hem GH, hem de insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) salgısını arttırarak, FSH ile işbirliği içinde foliküler büyümede rol aldığı ve IVF'de gebelik oranlarını iyileştirdiği gösterilmiştir (103). Daha önce zayıf yanıt vermiş hastalarda Gn ile stimülasyon

enasında 1 mg Deksmatazon tedavisi ile de daha düşük siklus iptali ve yüksek gebelik oranları bildirilmiştir (104). Güvenli ve maliyet etkin bir adjuvan tedavi gibi görünmektedir.

Büyüme hormonu da adjuvan tedavi olarak denenmiştir ve çalışmalara bakıldığında IVF yapılan poor responder hastalarda gebelik ve canlı doğum oranlarını az, fakat anlamlı olarak iyileştirmiştir (10). Etkisini overde IGF-1 üretimini arttırıp, foliküler gelişimi sağlayarak gösterir. Ayrıca aromataz aktivitesini uyararak granüloza hücrelerinde 17 β östradiol üretimini arttırır ve granüloza hücrelerini apoptozisten korur (105,106). Ancak optimal doz ve kullanım endikasyonlarının netleşmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır. Benzer olarak GH salıverici faktör (GHRF) kullanımı değerlendirilmiş. Poor responder hastalarda yapılan bir çalışmada yararı olmadığı gösterilmiştir (106).

Overlerde androjen reseptörleri mevcut olup androjenler foliküler gelişimde rol oynar (107). Poor responder hastaların granüloza hücrelerinde FSH reseptörü normalden daha düşük seviyede izlenmiş iken, PKO olan hastalarda aşırı ekspresyon saptanmıştır. Bu durum PKOS'lularda foliküler sıvı ve serumda yüksek androjen konsantrasyonu olması ile ilişkilidir (108,109). PKOS olan hastalarda KOH'a aşırı yanıt izlendiğini düşünürsek ve androjenin tedaviye eklenirse PKOS gibi etki gösterip granüloza hücrelerinde FSH reseptör ekspresyonunu arttırdığından erken foliküler fazda antral foliküllerin FSH'a duyarlılığını arttıracığı düşünülmüştür (20). Ancak androjen seviyesi aşırı arttığı zaman foliküller için zararlı olup oosit kalitesini bozar (110). FSH değeri normal ancak daha önce iki kere siklus iptali olan poor responder hastalarda yapılan bir çalışmada transdermal testosteronun Gn tedavisinden önce 5 gün kullanılması over yanıtını anlamlı olarak geliştirmiştir (111). Diğer bir çalışmada doğum oranlarına etkisi gösterilememiştir(112). Bir vaka-kontrol çalışmada DHEA, FSH ile birlikte kullanıldığında over rezervini geliştirici etki gösterdiği bildirilmiştir (113).

Aspirin düşük dozlarda verildiğinde vazokonstriktör olan tromboksan A2 sentezini inhibe eder. Buradan yola çıkılarak over kan akımını arttırıp folikülogenezi, endometrial kan akımını arttırıp implantasyonu geliştirdiği düşünülmüş ve çalışmalarda etkisi gösterilememesine rağmen çoğu klinisyen hastalarına 80-100mg/gün aspirini stimülasyon ile birlikte vermektedir (114).

Oral olarak kullanılan indüksiyon ajanı olan klomifen sitrat selektif östrojen reseptör modülatörüdür; hem agonistik, hem de antagonistik etkileri mevcuttur. Endojen gonadotropinleri arttırır ve eksojen gonadotropinler ile birlikte kullanıldığında sinerjistik etki

gösterir. Poor responder hastalarda kullanımı siklusun 3-7. günlerinde 100 mg/gün şeklindedir (115). Çok yeni bir çalışmada poor responder hastalarda hMG $\pm$ klomifen sitrat kullanımı kıyaslanmış ve klomifen kullanılan grupta, yalnızca hMG kullanılan gruba göre hMG dozları anlamlı olarak düşük bulunurken, oosit toplama esnasındaki ortalama E₂ seviyesi ve toplanan oosit sayısı arasında anlamlı fark saptanmamıştır (116).

Son olarak tez konum olan Letrozol'den bahsedeceğim.

Aromataz; mikrozomal sitokrom P450 hemoprotein içeren bir enzimdir ve CYP19 geni tarafından kodlanır. Östrojen sentezinde hız kısıtlayıcı ve son basamakta görev alıp androstenedion ve testosteronu sırasıyla östron ve östradiole çevirir (117). Overler başta olmak üzere beyin, yağ doku, kas, karaciğer ve memede bulunur.

Aromataz inhibitörleri esas olarak postmenopozal kadınların meme kanseri tedavisi için üretilmişse de günümüzde ovulasyon indüksiyonunda önemli yeri vardır. Özellikle PKOS gibi anovulatuvar infertilitede KOH ajanı olarak çok başarılıdır (118). Hem santral, hem de periferik etki mekanizması mevcuttur. Santral etki mekanizması; östrojen sentezini selektif olarak durdurarak östrojen seviyesini düşürüp, hipofizer negatif feedbacki azaltır ve Gn salınımını artırır (19). Periferik etki mekanizması; daha önce de belirttiğim gibi over dokusunda androjen konsantrasyonunu yükselterek foliküllerde FSH reseptör ekspresyonunu artırıp FSH için foliküler duyarlılığı artırır (20). Ayrıca androjen artışı IGF-1 gibi birtakım endokrin faktörlerin sentezini uyararak folikülogenezde FSH ile sinerjistik etki yapabilir (119).

Letrozol ve Anastrozol antifungal olan triazol derivativesi olup potent, geri dönüşümlü, kompetitif nonsteroidal aromataz inhibitörleridir. Oral olarak kullanılıp tamamen emilir, esas olarak karaciğerden elimine edilir ve ortalama yarı ömrü 45 saattir (120). Eksemestan ise steroidal aromataz inhibitörü olup yarı ömrü 9 saat kadardır ancak geri dönüşümsüz inhibisyon yaptığı için etkisi çok daha uzun sürer (121).

Letrozol, Anastrozol ile benzer etkide olmasına rağmen daha yaygın kullanılmaktadır (122). Letrozol, klomifen sitratın (CC) başarısız olduğu durumlarda tek başına indüksiyon ajanı olarak kullanılabilir ve siklusun 3-7. günlerinde 2,5 mg/gün verilir. Ovulasyon sağlanamazsa 5mg/güne çıkılır (maksimum doz 7,5mg). Periferik östrojen reseptör inhibisyonu yapmaması ve kısa yarı ömrü nedeniyle, CC ile endometrium ve servikal mukusta görülen negatif etki Letrozol ile izlenmez (122,123). Ancak 7,5 mg/gün dozunda Letrozol ile de endometrial proliferasyon baskılanabilir (124). PKOS hastalarında yapılan çalışmalarda

CC ile Letrozol indüksiyon başarıları benzer bulunmuşsa da (125), bir meta-analizde Letrozol ile daha yüksek ovulasyon ve canlı doğum oranları bildirilmiştir (126). Özellikle VKİ fazla olanlarda Letrozol çok daha etkindir (127).

Letrozol, CC'den farklı olarak hipofizdeki östrojen reseptörlerini azaltmaz. Bu nedenle Gnler artıp dominant folikül geliştiğinde östrojen seviyeleri yükselir ve normal negatif feedback tekrar devreye girerek FSH seviyesi düşer. Böylece daha küçük kalan foliküller atreziye uğrar, genelde tek folikül ovüle olur ve çoğul gebelik riski azalır (128,129). IVF'de multifoliküler gelişim sağlamak için Letrozole eksojen Gn eklemek şarttır. Gn tedavisine eklenen Letrozolün gereken FSH dozunu azalttığı ve FSH'a over yanıtını iyileştirdiği bilinmektedir (16,19). Bir çalışmada IUI planlanan poor responder hastalara Letrozol eklenmesiyle FSH dozunun % 45-55 oranında daha düşük olduğu ve matür folikül sayısını artırdığı, böylece maliyeti belirgin oranda düşürdüğü gösterilmiştir. Ayrıca periferik antiöstrojenik etki de gözlemlenmemiştir. Ancak gebelik oranlarına pozitif etki izlenmemiştir (19). Benzer bir çalışmada açıklanamayan infertil hastalarda Letrozol+FSH, CC+FSH ve yalnız FSH kullanımı kıyaslanmış ve Letrozol+FSH ile CC+FSH grubunda FSH dozları benzer şekilde azalırken, gebelik oranları Letrozol grubunda, yalnız FSH grubu ile aynı, CC'a göre daha yüksek bulunmuştur (130). Poor responder hastalarda antagonist protokol ile IVF planlanan başka bir çalışmada Letrozol eklenmesi ile toplanan oosit sayısı artmış, ancak gebelik oranları değişmezken implantasyon oranlarının iyileştiği bildirilmiştir (17).

Yan etki bakımından daha çok postmenopozal kadınlarda çalışmalar olup genellikle iyi tolere edilmektedir. Sıcak basması, gastrointestinal semptomlar (bulantı-kusma) ve bacak krampları görülebilmektedir. Ancak infertilite hastaları daha genç ve ilaç kullanım süresi de daha kısa olduğundan yan etki çok beklenmemektedir (131).

Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi (FDA) Letrozölü ovulasyon indüksiyonu amacıyla reçete edilmesini henüz onaylamamıştır. Fetal toksisite nedeniyle endişe edilmişse de erken foliküler fazda 5 gün süreyle uygulanması ve 48 saat olan kısa yarı ömürleri nedeniyle organogenezis, hatta implantasyon gerçekleşmeden vücuttan tamamen atılmış olur. Ancak indüksiyon esnasında kullanırken gebelik olmadığından emin olmak gerekir. Letrozol ya da CC kullanan anneden doğan 911 yenidoğan retrospektif olarak değerlendirilmiş ve konjenital kardiyak anomali ya da kromozom bozukluğu oranında artış saptanmamıştır (132). Başka bir çalışmada Letrozol kullanımı sonrası doğan bebeklerin kilosu ile spontan gebelik sonrası doğanlar ile benzer bulunmuştur (133).

AMAÇ

Çalışmamızın amacı poor responder hasta grubunun tedavisinin geliştirilebilmesine katkıda bulunmak ve bu hasta grubunda kullanılan çok yüksek dozlardaki gonadotropin miktarını azaltmak için Letrozol ekleyerek tedavi sonuçlarını karşılaştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma prospektif randomize kontrollü olarak tasarımılandı. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı İnfertilite polikliniğine Mayıs 2014 ve Haziran 2015 tarihleri arasında infertilite nedeniyle başvuran hastalar anamnez, fizik muayene ve ultrasonografinin yanısıra hormon tetkikleri, histerosalpingografi ve semen analizi gibi tahliller istenerek değerlendirildi. Ovulatuvar ve/veya açıklanamayan infertilite tanısı konan 44 yaş ve altında olan, histerosalpingografide ve/veya USG’de uterin patoloji saptanmayan hastalardan takip eden kriterlerden; hormon profilinde siklusun 3.günü FSH >10IU/ml, AMH düzeyi <1ng/ml, yine siklusun başında TVUSG ile izlenen 4-8mm boyutundaki antral follikül sayısı 6 ve altında veya tedavi verildikten sonra gelişen oosit sayısı 5 ve altında; birini içeren hastalar çalışma hakkında ayrıntılı bilgi verilerek tedavi seçeneklerini kabul ettiklerine dair aydınlatılmış onamları alınarak çalışmaya dahil edildi. Bu kriterlere uyan 60 tane hasta bilgisayarda randomizasyon programından yararlanılarak randomize edilerek 2 gruba ayrıldı ve birinci grupta 33 ikinci grupta 27 hasta toplandı. Birinci gruba siklusun 3. günü Letrozol 2 x 2,5mg tablet oral başlanıp 5 gün devam etmesi söylenirken, eş zamanlı gonadotropin 150 IU/gün (hMG veya rekombinant FSH), diğer gruba ise Letrozol verilmeksizin yüksek doz (300IU/gün) Gn başlandı. Her 2 grup üç dört gün arayla TVUSG ile takip edildi ve follikül gelişiminde Gn dozunun yetersiz olduğu düşünülürse doz arttırılarak tedaviye devam edildi. Dominant folikül ≥ 13 mm boyuta ulaştığı zaman prematür ovulasyonu önlemek adına tedaviye hCG uygulama gününe kadar GnRH antagonisti (setroreliks) 0,25mg/gün subkutan olarak eklendi. Dominant folikül ≥ 18 mm olduğunda ovulasyonu indüklemek için 250µg hCG subkutanöz uygulandı. hCG’den 36 saat sonra genel anestezi altında transvaginal oosit pick up (OPU) iğnesi ile OPU işlemi gerçekleştirildi. Konvansiyonel IVF veya intrasitoplazmik sperm injeksiyonu yapıldı. Gamet ve embriyolar G medyumunda kültüre edildi ve % 6 karbondioksit, % 5 oksijen, % 89 nitrojenli ortamda inkubasyon yapıldı. Embriyolar 3. gün ultrason rehberliğinde yumuşak bir kateter yardımı ile uterusu transfer edildi. Hastalara bundan sonra luteal faz desteği için progesteron vaginal jel %8 2x1/gün reçete edildi ve 12 gün sonra kanda β -hCG testi için

çağrıldı. β -hCG (+) ise takip eden günlerde TVUSG ile gebelik kesesi ve fetal kardiyak aktivite varlığı klinik gebelik olarak kabul edildi.

SPSS (Statistics Package for Social Sciences) versiyon 16.0 programı kullanılarak istatistiksel analiz uygulandı. Veriler ortalama $\pm$ standart deviasyon olarak ifade edildi. Mann-Whitney U, Wilcoxon W ve χ^2 testi uygulanarak analiz edildi. P değeri <0.05 ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Test Statistics ^a	
	gebelik (0. yok , 1. kimyasal , 2. klinik)
Mann-Whitney U	410.000
Wilcoxon W	971.000
Z	-1.220
Asymp. Sig. (2-tailed)	.222
a. Grouping Variable: Protokol: 1- letrozol+ 150IU Gn / 2- 300IU Gn	

Chi-Square Tests			
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	1.895 ^a	2	.388
Likelihood Ratio	2.272	2	.321
Linear-by-Linear Association	1.116	1	.291
N of Valid Cases	60		
a. 4 cells (66.7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .45.			

Tablo 1 İstatistiksel analizler

BULGULAR

Çalışmamıza katılan 60 hastanın infertilite nedenlerine bakıldığında 8 hastada açıklanamayan (% 13,3), 34 hastada ovulatuvar faktör(% 56,7), 1 hastada ovulatuvar + tubal faktör (% 1,7), 17 hastada ise ovulatuvar faktör yanı sıra erkek faktörü(% 28,3) de bulunmaktadır.

İnfertilite tipi				
	Sıklık	Yüzde	Geçerli yüzde	Kümülatif yüzde
Açıklanamayan ovulatuvar	8	13,3	13,3	13,3
Tubal + ovulatuvar	34	56,7	56,7	70,0
Erkek + ovulatuvar	1	1,7	1,7	71,7
Total	17	28,3	28,3	100,0
	60	100	100	

Tablo 2 İnfertilite nedenlerinin dağılımı

Yine 60 hastanın 43 tanesi (% 71,7) primer infertil iken; 17 tanesi (% 28,3) sekonder infertildir.

infertilite tipi (primer = 1 / sekonder=2)				
	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid primer	43	71.7	71.7	71.7
sekonder	17	28.3	28.3	100.0
Total	60	100.0	100.0	

Tablo 3 İnfertilite tiplerinin dağılımı

Letrozol ile eş zamanlı gonadotropin 150 IU/gün(hMG veya rekombinant FSH) verilen 1.grupta 33 hasta (% 55) bulunurken, Letrozol verilmeksizin yüksek doz (300IU/gün) Gn başlanan grupta ise 27 hasta (% 45) mevcut idi.

Protokol : 1- Letrozol+150 IU GN 2- 300 IU Gn				
	sıklık	oran	Geçerli oran	Kümülatif oran
Let+ 150Gn	33	55	55	55
300Gn	27	45	45	100
Total	60	100	100	

Tablo 4 Uygulanan protokollerin hasta dağılımı

34 hastaya hMG verilirken (% 56,7), 26 hastaya hMG ile birlikte rekombinant FSH (% 43,3) verildi.

Gn tipi				
	Sıklık	oran	Geçerli oran	Kümülatif oran
hMG	34	56,7	56,7	56,7
hMG + rekombinant FSH	26	43,3	43,3	100
total	60	100	100	

Tablo 5 Gonadotropin çeşitlerinin dağılımı

Her iki grupta da siklus iptali oranları yüksek olmakla birlikte 1. grupta 33 hastanın 20 tanesinde (% 60,6), 2. grupta 27 hastanın 17'sinde (% 62,9) folikül gelişimi olmadığından oosit pick-up ve embriyo transferi yapılamadı.

Her iki gruptaki hastaların daha önceki IVF sayıları, antral folikül sayıları, antagonist kullanım süreleri benzer bulunmuştur. Ovulasyon indüksiyon ve gonadotropin kullanım süreleri (gün) benzer olmakla beraber, kullanılan toplam Gn dozu Letrozol grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur (1354 +/- 468 IU 'e karşı 2555 +/- 725 IU, $p < 0,05$). Ancak yine de elde edilen oosit sayısı her iki grupta benzer çıkmıştır (ortalama 1,30'e karşı 1,81, $p > 0,05$).

Group Statistics					
	Protokol: 1- letrozol+ 150IU Gn / 2-300IU Gn	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
sol AF sayısı	let 150	33	1.85	1.253	.218
	300gn	27	1.70	1.203	.232
daha önceki IVF sayısı	let 150	33	.73	1.008	.176
	300gn	27	.96	1.192	.229
sağ AF sayısı	let 150	33	1.79	.696	.121
	300gn	27	1.81	1.039	.200
Antagonist kullanım süresi	let 150	33	2.85	1.603	.279
	300gn	27	3.41	2.005	.386
ovülasyon indüksiyon gün sayısı	let 150	33	7.76	1.786	.311
	300gn	27	8.19	2.001	.385
total kullanılan Gn süresi (gün)	let 150	33	7.76	1.786	.311
	300gn	27	8.19	2.001	.385
total Gn dozu	let 150	33	1354.55	468.352	81.530
	300gn	27	2555.56	725.343	139.592
toplanan oosit sayısı	let 150	33	1.30	1.132	.197
	300gn	27	1.81	2.482	.487
ET günü (1.48sa 2. 72sa, 3.blastokist)	let 150	33	.64	.895	.156
	300gn	27	.59	.844	.162

Tablo 6 Grupların istatistiksel verileri 1

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
sol AF sayısı	Equal variances assumed	.472	.495	.453	58	.652	.145	.319	-.495	.784
	Equal variances not assumed			.455	56.483	.651	.145	.318	-.492	.782
deha önceki IVF sayısı	Equal variances assumed	1.663	.202	-.830	58	.410	-.236	.284	-.804	.333
	Equal variances not assumed			-.816	51.116	.418	-.236	.289	-.816	.344
sağ AF sayısı	Equal variances assumed	7.997	.006	-.120	58	.905	-.027	.225	-.477	.423
	Equal variances not assumed			-.115	43.809	.909	-.027	.234	-.498	.444
antagonist kullanım süresi	Equal variances assumed	1.073	.304	-1.200	58	.235	-.559	.466	-1.491	.373
	Equal variances not assumed			-1.174	49.345	.246	-.559	.476	-1.516	.398
ovulasyon indüksiyon gün sayısı	Equal variances assumed	.646	.425	-.874	58	.386	-.428	.489	-1.407	.552
	Equal variances not assumed			-.864	52.738	.391	-.428	.495	-1.420	.565
total kullanılan Gn süresi (gün)	Equal variances assumed	.646	.425	-.874	58	.386	-.428	.489	-1.407	.552
	Equal variances not assumed			-.864	52.738	.391	-.428	.495	-1.420	.565
total Gn dozu	Equal variances assumed	6.381	.014	-7.747	58	.000	-1201.010	155.022	-1511.319	-890.701
	Equal variances not assumed			-7.429	42.724	.000	-1201.010	161.657	-1527.084	-874.936
toplanan oosit sayısı	Equal variances assumed	5.980	.018	-1.040	57	.303	-.505	.485	-1.476	.467
	Equal variances not assumed			-.961	33.161	.344	-.505	.525	-1.573	.564
ET günü (1.48se, 2.72se, 3.blastokist)	Equal variances assumed	.468	.497	.193	58	.847	.044	.226	-.409	.497
	Equal variances not assumed			.194	56.794	.846	.044	.225	-.407	.495

Tablo 7 Grupların istatistiksel verileri 2

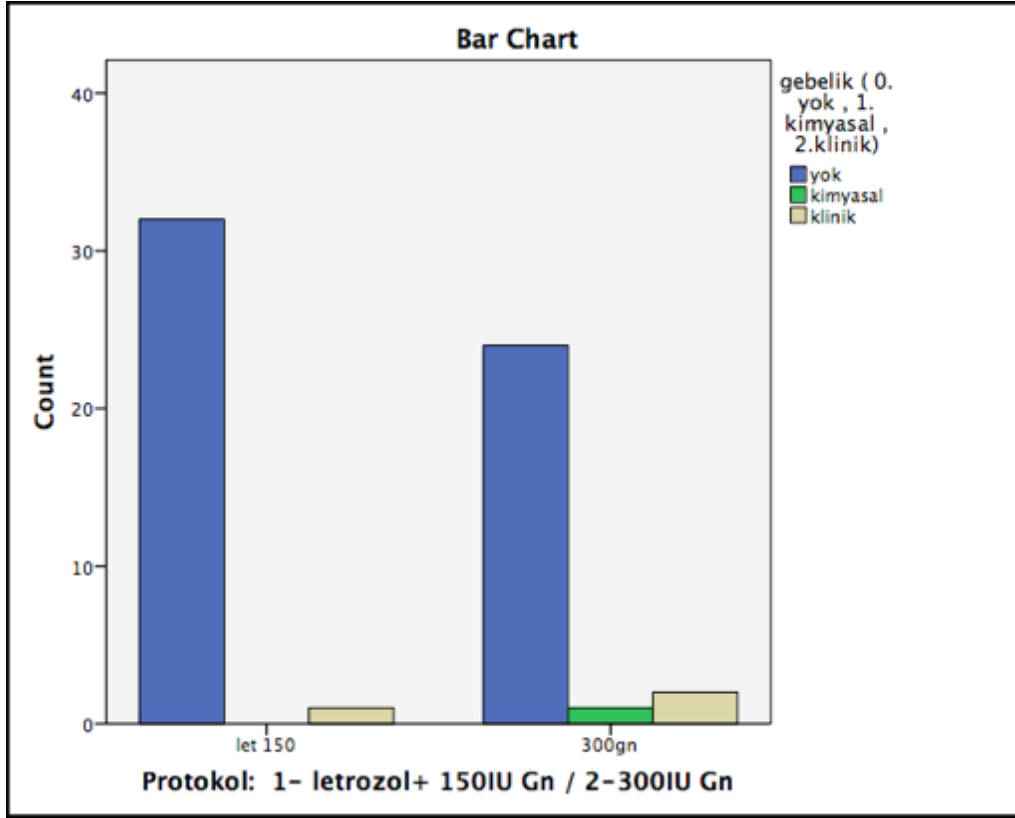
Transfer edilen embriyo sayısı her iki grupta da ortalama 0,52 bulunmuştur. Gebelik oranları ise letrozol grubunda ortalama 0,06 iken (1 adet klinik gebelik), diğer grupta 0,19 (2 adet klinik gebelik, 1 adet biyokimyasal gebelik) çıkmıştır. Yüksek doz Gn grubunda sayısal olarak fazla gebelik olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Group Statistics					
	Protokol: 1- letrozol+ 150IU Gn / 2-300IU Gn	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Transfer edilen embriyo sayısı	let 150	33	.52	.712	.124
	300gn	27	.52	.753	.145
gebelik (0.yok , 1. kimyasal , 2.klinik)	let 150	33	.06	.348	.061
	300gn	27	.19	.557	.107

Tablo 8 Gebelik sonuçları 1

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
transfer edilen embriyo sayısı	Equal variances assumed	.106	.746	-.018	58	.986	-.003	.190	-.383	.376
	Equal variances not assumed			-.018	54.347	.986	-.003	.191	-.386	.379
gebelik (0.yok, 1.kimyasal, 2.klinik)	Equal variances assumed	4.503	.038	-1.058	58	.295	-.125	.118	-.360	.111
	Equal variances not assumed			-1.011	41.795	.318	-.125	.123	-.373	.124

Tablo 9 Gebelik sonuçları 2



Grafik 1 Gebelik oranları

TARTIŞMA

Prospektif randomize çalışmamızın sonuçlarına göre Letrozol ve düşük doz gonadotropin birlikteliği zayıf cevap gösteren hastalarda implantasyon ve gebelik başarısı benzerdir. Ancak kullanılan gonadotropin dozu Letrozol ile anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu sonuçlara göre Letrozol ile düşük doz Gn vererek oosit eldesi, gebelik ve implantasyon oranları yüksek doz verilen protokole göre farksız olup, poor responderlarda beklenen siklus iptalleri benzer olarak görülmüştür.

Poor responder tanımında olan fikir ayrılıkları her çalışmada farklı kriterlerin kullanılmasına neden olmakla birlikte, her çalışmada farklı KOH protokolleri uygulanmış olması da tedavi sonuçlarını kıyaslamakta zorluğa neden olmaktadır. Hangi indüksiyon protokolünün iyi olduğu netleşmese de son zamanlarda Letrozol ile beraber daha az gonadotropin kullanılan protokoller tercih edilmektedir.

Mitwally ve Casper, inseminasyon planlanan açıklanamayan infertilite hastalarında Letrozol ile aromataz inhibisyonunun KOH için gerekli FSH dozunu azalttığını ve poor responder hastalarda over cevabını iyileştirdiğini rapor etmişler. Burada sadece FSH protokolü, Letrozol+FSH protokolü ve klomifen sitrat+ FSH protokolü olmak üzere üç grup oluşturulmuş ve sadece FSH grubuna kıyasla diğer iki grupta kullanılan toplam FSH dozunda anlamlı düşüş izlenmiştir (19).

Garcia-Velasco ve arkadaşlarının pilot çalışmasında antagonist gonadotropin protokolü kullanılan poor responder hastalara Letrozol eklemenin elde edilen oosit sayısını ve implantasyon oranlarını anlamlı olarak arttırdığı ayrıca gebelik başarısını arttırdığı, ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gösterilmiştir. Söz konusu başarıyı da Letrozol ile intraovaryen androstenedion ve testosteron konsantrasyonunun artmasıyla poor responder hasta grubunda IVF siklusunu iyileştirdiğine bağlamışlardır (17).

Bizim çalışmamızda ise IVF/ICSI yapılacak poor responder hastalarda GnRH antagonist protokolü uygulanan iki gruba randomizasyon sonrası bir gruba Letrozol ve düşük doz Gn, diğer gruba Letrozolsüz yüksek doz Gn verilerek kıyaslama yapıldı. Sonuçlar Letrozol grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte daha zayıf bulundu. Buna neden olabilecek olası teorilerden birisi Lossl ve arkadaşlarının çalışmasında gösterdikleri gibi KOH protokolüne letrozol ekleyerek yapılan aromataz inhibisyonunun preovulatar foliküler sıvıdaki testosteron/E₂ oranını bozarak androjen artışına yol açmasıdır (134). Bundan

dolayı testosteron FSH yanıtını arttırsa da ortamda bulunan foliküllerin doğasını bozarak oosit sağkalımının azalttığı varsayılmaktadır. Yani oosit sayısında artışa neden olsa da kalitesini azalttığı düşünülmektedir.

Antagonist protokol kullanılarak Letrozol ve düşük doz Gn ile yüksek doz Gn tedavisini kıyaslayan çalışmalar çok sınırlıdır. Bizim çalışmamıza benzer randomize kontrollü çalışmalardan biri Özmen ve arkadaşları tarafından toplamda 70 hasta üzerinde yapılmıştır (135). Ancak biz Letrozol grubuna 150 IU/gün Gn, diğer gruba 300 IU/gün ile başlayıp gerekirse arttırırken, söz konusu çalışmada her iki gruba sabit doz olarak 450IU/gün FSH verilmiştir. Özmen ve ark. Letrozol grubunda kontrol grubuna göre daha düşük doz FSH gerektiğini gösterirken, bizim çalışmamızda ise Özmen ve ark.a göre hem Letrozol, hem de kontrol grubunda çok daha düşük dozlarda Gn kullanmış olduk. Özmen ve ark. çalışmalarında Letrozol grubunda siklus iptal oranı daha az izlenirken (% 8,6 vs % 28,6. $p<0,05$), biz iki grupta benzer sonuçlar (% 60,6 vs % 62,9. $p>0,05$) olmakla birlikte çok daha fazla siklus iptal oranları ile karşılaştık. Bunun nedeni daha düşük doz Gn kullanmış olmamız olabilir.

Bir diğer çalışma ise poor responder IVF/ICSI hastalarına GnRH antagonist protokolü ile birlikte sadece bir gruba Letrozol ekleyip ancak her iki gruba da 250IU/gün FSH dozu ile başlayarak Kyung-Hee Lee ve ark. tarafınDAN yapılmıştır (136). Bizim çalışmamızda olduğu gibi benzer ve esnek dozlarda FSH kullanılmış, ancak bizden farklı olarak her iki grupta da aynı doz FSH ile tedaviye başlanmıştır. Kyung-Hee Lee ve ark. Letrozol grubunda kullanılan FSH dozunu kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha az bulmakla birlikte uygulanan GnRH antagonist süresi de daha az bulunmuştur. Elde edilen oosit sayısı da Letrozol grubunda anlamlı olarak fazla, ancak siklus başına klinik gebelik oranı, embriyo transferi başına klinik gebelik oranı, embriyo implantasyon oranı ve düşük oranları iki grupta benzer çıkmıştır. Bu çalışmanın dezavantajı ise retrospektif olmasıdır (136).

Çalışmamızın en büyük dezavantajı, her iki grupta siklus iptal sayısı fazla olması nedeniyle çalışmamızın gücünün azalmış olmasıdır. Ayrıca hasta sayısının sınırlı olması da bir diğer kısıtlayıcı faktördür.

SONUÇ

Bizim çalışmamızda GnRH antagonist protokolünde gonadotropin ile indüksiyona Letrozol ekleyerek kullanılan gonadotropin dozunu düşük tutmanın elde edilen oosit sayısına ve gebelik sonuçlarını iyileştirici etkisi bulunmamıştır. Ancak daha geniş hasta popülasyonunun katılacağı çok sayıda prospektif randomize kontrollü çalışmaya ihtiyaç vardır.



KAYNAKÇA

1. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2008; 90:60.
2. Bancsi LF, Broekmans FJ, Eijkemans MJ, de Jong FH, Habbema JD, te Velde ER. Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertil Steril* 2002;77:328–36.
3. Garcia JE, Jones GS, Acosta AA, Wright G. HMG/hCG follicular maturation for oocytes aspiration: phase II, 1981. *Fertil Steril* 1983;39:174–179.
4. Keay SD, Liversedge NH, Mathur RS, Jenkins JM. Assisted conception following poor ovarian response to gonadotrophin stimulation. *Br J Obstet Gynaecol* 1997;104:521–7.
5. Karande V, Gleicher N. A rational approach to the management of low responders in in-vitro fertilization: opinion. *Hum Reprod* 1999;14:1744–8.
6. Karande VC, Jones GS, Veeck LL, Muasher SJ. High dose follicle-stimulating hormone stimulation at the onset of the menstrual cycle does not improve the in vitro fertilization outcome in low-responder patients. *Fertil Steril* 1990;53:486–9.
7. Saadat P, Slater CC, Jain JK, Tourgeman DE, Stanczyk FZ, Paulson RJ. Treatment-associated serum FSH levels in very poor responders to ovarian stimulation. *J Assist Reprod Genet* 2003;20:395–9.
8. Scott RT, Navot D. Enhancement of ovarian responsiveness with microdoses of gonadotropin-releasing hormone agonist and follicle-stimulating hormone during ovulation induction for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1994;61:880–5.
9. Faber BM, Mayer J, Cox B, Jones D, Toner JP, Oehninger S, Muasher SJ. Cessation of gonadotropin-releasing hormone agonist therapy combined with high-dose gonadotropin stimulation yields favourable pregnancy results in low responders. *Fertil Steril* 1998;69:826–30.
10. Ahmad G, Brown J, Duffy JM, Nardo LG, Watson A. Growth hormone for in vitro fertilization. *Cochrane Database Syst Rev*. DOI:10.1002/14651858. Oct 7,2009.
11. Akman MA, Erden HF, Tosan SB, Bayazi N, Akoy E, Bahceci M. Comparison of agonist flare- up- protocol and antagonistic multiple dose protocol in ovarian stimulation of poor responders: results of a prospective randomized trial. *Hum Reprod* 2001;16:868–70.
12. Bassil S, Godin PA, Donnez J. Outcome of in vitro fertilization through natural cycles in poor responders. *Hum Reprod* 1999;14(5):1262-5.

13. van-Hooff MH, Alberda AT, Huisman GJ, Zeilmaker GH and Leerentveld RA. Doubling the human menopausal gonadotrophin dose in the course of an in-vitro fertilization treatment cycle in low responders: a randomized study. *Hum Reprod* 1993;8:369–373.
14. Rombauts L, Suikkari AM, MacLachlan V, Trounson AO and Healy DL. Recruitment of follicles by recombinant human follicle-stimulating hormone commencing in the luteal phase of the ovarian cycle. *Fertil Steril* 1998; 69:665–669.
15. Land JA, Yarmolinskaya MI, Dumoulin JC and Evers JL. High-dose human menopausal gonadotrophin stimulation in poor responders does not improve in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1996;65:961–965.
16. Goswami SK, Das T, Chattopadhyay R, Sawhney V, Kumar J, Chaudhury K, et al. A randomized single-blind controlled trial of letrozole as a low-cost IVF protocol in women with poor ovarian response: a preliminary report. *Hum Reprod* 2004;19:2031–5.
17. Garcia-Velasco JA, Moreno L, Pacheco A, Guillen A, Duque L, Requena A, et al. The aromatase inhibitor letrozole increases the concentration of intraovarian androgens and improves in vitro fertilization outcome in low responder patients: a pilot study. *Fertil Steril* 2005;84:82–7.
18. Winer EP, Hudis C, Burstein HJ, Chlebowski RT, Ingle JN, Edge SB, et al. American Society of Clinical Oncology technology assessment on the use of aromatase inhibitors as adjuvant therapy for women with hormone receptor positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2002;20:3317– 27.
19. Mitwally M, Casper R. Aromatase inhibition improves ovarian response to follicle stimulation hormone in poor responders. *Fertil Steril* 2002;77:776–80.
20. Weil S, Vendola K, Zhoe J, Bondy CA. Androgen and folliclestimulating hormone interaction in primate ovarian follicle development. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;84:2951–6.
21. Wang X, Chen C, Wang L, Chen D, Guang W, French J, Conception, early pregnancy loss, and time to clinical pregnancy: a population-based prospective study, *Fertil Steril* 2003;79:577.
22. Gnoth C, Godehardt D, Godehardt E, Frank-Herrmann P, Freundl G, Time to pregnancy: results of the German prospective study and impact on the management of infertility. *Hum Reprod.* 2003;18(9):1959-66.
23. WHO Technical Report Series. Recent Advances in Medically Assisted Conception Number 820, 1992, pp 1-111.

24. Bhattacharya S, Porter M, Amalraj E, Templeton A, Hamilton M, Lee AJ, Kurinczuk JJ. The epidemiology of infertility in the North East of Scotland. *Hum Reprod* 2009; 24:3096.
25. Baker TG. Radiosensitivity of mammalian oocytes with particular reference to the human female. *Am J Obstet Gynecol* 1971; 110:746.
26. www.cdc.gov/nchs/products/pubs/pubd/series/sr23/pre-1/pre-1.htm. (Accessed October 5, 2006).
27. Martin JA, Hamilton BE, Sutton PD, Ventura SJ, Menacker F, Munson ML. Births: final data for 2002. *Natl Vital Stat Rep* 2003;52:1.
28. Navot D, Rosenwaks Z, Margalioth EJ. Prognostic assessment of female fecundity. *Lancet* 1987;ii(8560):645-7.
29. Jacobs SL, Metzger DA, Dodson WC, Haney AF. Effect of age on response to human menopausal gonadotropin stimulation. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:1525.
30. Nikolaou D, Templeton A. Early ovarian ageing: a hypothesis: Detection and clinical relevance. *Hum Reprod* 2003;18:1137.
31. Farhi J, Homburg R, Ferber A, Orvieto R, Ben Rafael Z. Nonresponse to ovarian stimulation in normogonadotrophic, normogonadal women: a clinical sign of impending onset of ovarian failure pre-empting the rise in basal follicle stimulating hormone levels. *Hum Reprod* 1997;12:241.
32. de Boer EJ, den Tonkelaar I, te Velde ER, Burger CW, Klip H, van Leeuwen FE. A low number of retrieved oocytes at in vitro fertilization treatment is predictive of early menopause. *Fertil Steril* 2002;77:978.
33. Lawson R, El-Toukhy T, Kassab A, Taylor A, Braude P, Parsons J, Seed P. Poor response to ovulation induction is a stronger predictor of early menopause than elevated basal FSH: a life table analysis. *Hum Reprod* 2003;18:527.
34. Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC. Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences. *Endocr Rev* 2009; 30:465.
35. Toner JP, Philput CB, Jones GS and Muasher SJ. Basal follicle stimulating hormone level is a better predictor of in vitro fertilization performance than age. *Fertil Steril* 1991;55:784–791.
36. Wardle PG, Mitchell JD, McLaughlin EA, Ray BD, McDermott A and Hull MG. Endometriosis and ovulatory disorder: reduced fertilisation in vitro compared with tubal and unexplained infertility. *Lancet* 1985;236–239.

37. Keay SD, Liversedge NH and Jenkins JM. Could ovarian infection impair ovarian response to gonadotrophin stimulation? *Br J Obstet Gynaecol* 1998;105:252–253.
38. The American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Gynecologic Practice and The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Female age-related fertility decline. Committee Opinion No. 589. *Fertil Steril* 2014; 101:633.
39. Marc A. Fritz ve Leon Speroff, Serdar Günalp(Çeviri editörü). *Klinik jinekolojik endokrinoloji ve infertilite*. 8.baskı.2014; sy 1148.
40. Abdalla H, Thum MY. An elevated basal FSH reflects a quantitative rather than qualitative decline of the ovarian reserve. *Hum Reprod* 2004; 19:893.
41. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update* 2006;12:685.
42. Kligman I, Rosenwaks Z. Differentiating clinical profiles: predicting good responders, poor responders, and hyperresponders. *Fertil Steril* 2001;76:1185–90.
43. Smotrich DB, Widra EA, Gindoff PR, Levy MJ, Hall JL, Stillman RJ. Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1995; 64:1136.
44. Souter I, Dimitriadis I, Baltagi LM, Meeker JD, Petrozza JC .Elevated day 3 follicle-stimulating hormone in younger women: is gonadotropin stimulation/intrauterine insemination a good option? *Am J Obstet Gynecol* 2014; 211:62.
45. Hall JE, Welt CK, Cramer DW. Inhibin A and inhibin B reflect ovarian function in assisted reproduction but are less useful at predicting outcome. *Hum Reprod* 1999;14:409.
46. McIlveen M, Skull JD, Ledger WL. Evaluation of the utility of multiple endocrine and ultrasound measures of ovarian reserve in the prediction of cycle cancellation in a high-risk IVF population. *Hum Reprod* 2007;22:778.
47. Dewailly D, Andersen CY, Balen A, Broekmans F, Dilaver N, Fanchin R, Griesinger G, Kelsey TW, La Marca A, Lambalk C, Mason H, Nelson SM, Visser JA, Wallace WH, Anderson RA. The physiology and clinical utility of anti-Müllerian hormone in women. *Hum Reprod* 2014; 20:370.
48. Seifer DB, Baker VL, Leader B. Age-specific serum anti-Müllerian hormone values for 17,120 women presenting to fertility centers within the United States. *Fertil Steril* 2011; 95:747.

49. Lutchman Singh K, Muttukrishna S, Stein RC, McGarrigle HH, Patel A, Parikh B, Groome NP, Davies MC, Chatterjee R. Predictors of ovarian reserve in young women with breast cancer. *Br J Cancer* 2007; 96:1808.
50. Hazout A, Bouchard P, Seifer DB, Aussage P, Junca AM, Cohen-Bacrie P. Serum antimullerian hormon/mullerian-inhibiting substance appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than follicle-stimulating hormone, inhibin B, or estradiol. *Fertil Steril* 2004;82:1323-9.
51. Toner JP, Seifer DB. Why we may abandon basal follicle-stimulating hormone testing: a sea change in determining ovarian reserve using antimüllerian hormone. *Fertil Steril* 2013; 99:1825.
52. Scheffer GJ, Broekmans FJ, Dorland M, Habbema JD, Looman CW, te Velde ER. Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility. *Fertil Steril* 1999;72:845.
53. Rombauts L, Onwude JL, Chew HW, Vollenhoven BJ. The predictive value of antral follicle count remains unchanged across the menstrual cycle. *Fertil Steril* 2011; 96: 1514.
54. Hendriks DJ, Mol BW, Bancsi LF, Te Velde ER, Broekmans FJ. Antral follicle count in the prediction of poor ovarian response and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level. *Fertil Steril* 2005;83:291.
55. A.P. Ferraretti, A. La Marca, B.C.J.M. Fauser, B.Tarlatzis, G.Nargund and L. Gianaroli on behalf of the ESHRE working group on Poor Ovarian Response Definition. ESHRE consensus on the definition of ‘poor response’ to ovarian stimulation for in vitro fertilization:the Bologna criteria. *Human Reprod*,2011; 26:1616–1624.
56. Broer SL, Mol BW, Hendriks D, Broekmans FJ. The role of anti-Mullerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil Steril* 2009;91:705–714.
57. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Artenisio AC, Stabile G, Volpe A. Anti-Mullerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Hum Reprod Update* 2010;16:113–130.
58. Hsu A, Army M, Knee AB, Bell C, Cook E, Novak AL, Grow DR. Antral follicle count in clinical practice: analyzing clinical relevance. *Fertil Steril* 2011; 95:474.
59. Lass A, Silye R, Abrams D-C, Krausz T, Hovatta O, Margara R, Winston RML. Follicular density in ovarian biopsy of infertile women: a novel method to assess ovarian reserve. *Hum Reprod* 1997;12:1028.

60. Lass A, Skull J, McVeigh E, Margara R, Winston RM. Measurement of ovarian volume by transvaginal sonography before human menopausal gonadotrophin superovulation for in-vitro fertilization can predict poor response. *Hum Reprod* 1997;12:294.
61. Scott RT Jr, Elkind-Hirsch KE, Styne-Gross A, Miller KA, Frattarelli JL. The predictive value for in vitro fertility delivery rates is greatly impacted by the method used to select the threshold between normal and elevated basal follicle-stimulating hormone. *Fertil Steril* 2008;89:868.
62. Wilcox AJ, Weinberg CR, Baird DD. Timing of sexual intercourse in relation to ovulation—effects on the probability of conception, survival of the pregnancy, and sex of the baby. *New Engl J Med* 1995;333:1517.
63. ESHRE Task Force on Ethics and Law, including, Dondorp W, de Wert G, et al. Lifestyle-related factors and access to medically assisted reproduction. *Hum Reprod* 2010; 25:578.
64. De Kretzer D, Dennis P, Hudson B, Leeton J, Lopata A, Outch K, et al. Transfer of a human zygote. *Lancet*. 1973;2(7831):728–9.
65. Steptoe PC, Edwards RG. Reimplantation of a human embryo with subsequent tubal pregnancy. *Lancet* 1976;1:880.
66. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet* 1978;2:366.
67. http://www.cdc.gov/art/ART2010/PDFs/ART_2010_National_Summary_Report.pdf.
68. Centers for Disease Control and Prevention, 2007 Assisted Reproductive Technology Success Rates. National Summary and Fertility Clinic Reports. Atlanta, GA, 2009.
69. Sauer MV, Paulson RJ, Lobo RA. Reversing the natural decline in human fertility. An extended clinical trial of oocyte donation to women of advanced reproductive age. *JAMA* 1992; 268:1275.
70. van Rooij IA, Bancsi LF, Broekmans FJ, Looman CW, Habbema JD, te Velde ER. Women older than 40 years of age and those with elevated follicle-stimulating hormone levels differ in poor response rate and embryo quality in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2003;79:482.
71. Klipstein S, Regan M, Ryley DA, Goldman MB, Alper MM, Reindollar RH. One last chance for pregnancy: a review of 2,705 in vitro fertilization cycles initiated in women age 40 years and above. *Fertil Steril* 2005; 84:435.

72. Johnson N, van Voorst S, Sowter MC, Strandell A, Mol BW. Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo in vitro fertilisation, Cochrane Database Syst Rev. 2010;(1):CD002125.
73. Pritts EA, Parker WH, Olive DL. Fibroids and infertility: an updated systematic review of the evidence. *Fertil Steril* 2009;91:1215.
74. Barbosa MA, Teixeira DM, Navarro PA, Ferriani RA, Nastri CO, Martins WP. Impact of endometriosis and its staging on assisted reproduction outcome: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014; 44:261.
75. Baker VL, Luke B, Brown MB, Alvero R, Frattarelli JL, Usadi R, Grainger DA, Armstrong AY Multivariate analysis of factors affecting probability of pregnancy and live birth with in vitro fertilization: an analysis of the Society for Assisted Reproductive Technology Clinic Outcomes Reporting System. *Fertil Steril* 2010; 94:1410.
76. Meldrum DR, Silverberg KM, Bustillo M, Stokes L. Success rate with repeated cycles of in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 1998; 69:1005.
77. Ingerslev HJ, Højgaard A, Hindkjaer J, Kesmodel U. A randomized study comparing IVF in the unstimulated cycle with IVF following clomiphene citrate. *Hum Reprod* 2001; 16:696.
78. Trounson AO, Leeton JF, Wood C, Webb J, Wood J. Pregnancies in humans by fertilization in vitro and embryo transfer in the controlled ovulatory cycle. *Science* 1981;212:681.
79. Saadat P, Boostanfar R, Slater CC, Tourgeman DE, Stanczyk FZ, Paulson RJ. Accelerated endometrial maturation in the luteal phase of cycles utilizing controlled ovarian hyperstimulation: impact of gonadotropin-releasing hormone agonists versus antagonists. *Fertil Steril* 2004; 82:167.
80. Kolb BA, Najmabadi S, Paulson RJ. Ultrastructural characteristics of the luteal phase endometrium in patients undergoing controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril* 1997; 67:625.
81. Albuquerque LE, Tso LO, Saconato H, Albuquerque MC, Macedo CR. Depot versus daily administration of gonadotrophin-releasing hormone agonist protocols for pituitary down regulation in assisted reproduction cycles. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 1:CD002808.
82. El-Nemr A, Bhide M, Khalifa Y, Al-Mizyen E, Gillott C, Lower AM, Al-Shawaf T. Grudzinskas JG, Clinical evaluation of three different gonadotrophin-releasing hormone

- analogues in an IVF programme: a prospective study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002;103:140.
83. Damario MA, Barmat L, Liu HC, Davis OK, Rosenwaks Z. Dual suppression with oral contraceptives and gonadotrophin releasing hormone agonists improves in-vitro fertilization outcome in high responder patients. *Hum Reprod* 1997;12:2359.
 84. Balasch J, Vidal E, Penarrubia J, Casamitjana R, Carmona F, Creus M, Fabregues F, Vanrell JA. Suppression of LH during ovarian stimulation: analysing threshold values and effects on ovarian response and the outcome of assisted reproduction in down-regulated women stimulated with recombinant FSH. *Hum Reprod* 2001;16:1636.
 85. Feldberg D, Farhi J, Ashkenazi J, Dicker D, Shalev J, Ben-Rafael Z. Minidose gonadotropin-releasing hormone agonist is the treatment of choice in poor responders with high follicle-stimulating hormone levels. *Fertil Steril*. 1994;62:343-6.
 86. Karacan M, Erkan H, Karabulut O, Sarikamis B, Camlibel T, Benhabib M. Clinical pregnancy rates in an IVF program. Use of the fl are-up protocol after failure with long regimens of GnRH-a. *J Reprod Med* 2001;46:485.
 87. Gelety TJ, Pearlstone AC, Surrey ES. Short-term endocrine response to gonadotropin-releasing hormone agonist initiated in the early follicular, midluteal, or late luteal phase in normally cycling women. *Fertil Steril* 1995;64:1074.
 88. Loumaye E, Vankrieken L, Depreester S, Psalti I, de Cooman S, Thomas K. Hormonal changes induced by short-term administration of gonadotropin-releasing hormone agonist during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and their consequences for embryo development. *Fertil Steril* 1989;51:105.
 89. Gonen Y, Jacobson W, Casper RF. Gonadotropin suppression with oral contraceptives before in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1990;53:282.
 90. Surrey ES, Bower J, Hill DM, Ramsey J, Surrey MW. Clinical and endocrine effects of a microdose GnRH agonist fl are regimen administered to poor responders who are undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1998;69:419.
 91. Schoolcraft W, Schlenker T, Gee M, Stevens J, Wagley L. Improved controlled ovarian hyperstimulation in poor responder in vitro fertilization patients with a microdose follicle-stimulating hormone fl are, growth hormone protocol. *Fertil Steril* 1997;67:93
 92. Reissmann T, Felberbaum R, Diedrich K, Engel J, Comaru- Schally AM, Schally AV. Development and applications of luteinizing hormone-releasing hormone antagonists in the treatment of infertility: an overview. *Hum Reprod* 1995;10:1974.

93. The Ganirelix Dose-Finding Study Group. A double-blind, randomized, dose-finding study to assess the efficacy of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462) to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone (Puregon). *Hum Reprod* 1998;13:3023.
94. Albano C, Smits J, Camus M, Riethmuller-Winzen H, Van Steirteghem A, Devroey P. Comparison of different doses of gonadotropin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril* 1997;67:917.
95. Olivennes F, Cunha-Filho JS, Fanchin R, Bouchard P, Frydman R. The use of GnRH antagonists in ovarian stimulation. *Hum Reprod Update* 2002;8:279.
96. Schmidt DW, Bremner T, Orris JJ, Maier DB, Benadiva CA, Nulsen JC. A randomized prospective study of microdose leuprolide versus ganirelix in in vitro fertilization cycles for poor responders. *Fertil Steril*. 2005;83(5):1568-71.
97. Al-Inany HG, Youssef MA, Aboulghar M, Broekmans F, Sterrenburg M, Smit J, et al. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;CD001750.
98. Fanchin R, Cunha-Filho JS, Schonauer LM, Righini C, de Ziegler D, Frydman R. Luteal estradiol administration strengthens the relationship between day 3 follicle-stimulating hormone and inhibin B levels and ovarian follicular status. *Fertil Steril* 2003;79:585.
99. Hofmann G, Toner J, Muasher S, Jones G. High-dose folliclestimulating hormone (FSH) ovarian stimulation in low responder patients for in vitro fertilization. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 1993;6:285.
100. Harrison RF, Jacob S, Spillane H, Mallon E, Hennelly B. A prospective randomized clinical trial of differing starter doses of recombinant follicle-stimulating hormone (follitropin-beta) for first time in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection treatment cycles. *Fertil Steril* 2001;75:23.
101. Klinkert ER, Broekmans FJ, Looman CW, Habbema JD, te Velde ER. Expected poor responders on the basis of an antral follicle count do not benefit from a higher starting dose of gonadotrophins in IVF treatment: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2005;20:611.
102. Dirnfeld M, Fruchter O, Yshai D, Lissak A, Ahdut A, Abramovici H. Cessation of gonadotropin-releasing hormone analogue (GnRH-a) upon down-regulation versus conventional long GnRH-a protocol in poor responders undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1999;72:406-11.

103. Kemeter P. The usefulness of corticoids in stimulated cycles for in vitro fertilization. *J In Vitro Fert Embryo Transf.* 1987;4:69-72.
104. Keay SD, Lenton EA, Cooke ID, Hull MG, Jenkins JM. Low-dose dexamethasone augments the ovarian response to exogenous gonadotrophins leading to a reduction in cycle cancellation rate in a standard IVF programme. *Hum Reprod.* 2001;16:1861-5.
105. Doldi N, Bassan M, Bonzi V, Ferrari A. Effects of growth hormone and growth hormone-releasing hormone on steroid synthesis in cultured human luteinizing granulosa cells. *Gynecol Endocrinol* 1996;10:101–8.
106. Howles CM, Loumaye E, Germond M, Yates R, Brinsden P, Healy D, et al. Does growth hormone-releasing factor assist follicular development in poor responder patients undergoing ovarian stimulation for in-vitro fertilization? *Hum Reprod* 1999;14:1939–43.
107. Suzuki T, Sasano H, Kimura N, Tamura M, Fukaya T, Yajima A, et al. Immunohistochemical distribution of progesterone, androgen and oestrogen receptors in the human ovary during the menstrual cycle: relationship to expression of steroidogenic enzymes. *Hum Reprod* 1994;9:1589–95.
108. Thiruppathi P, Shatavi S, Dias JA, Radwanska E, Luborsky JL. Gonadotrophin receptor expression on human granulosa cells of low and normal responders to FSH. *Mol Hum Reprod* 2001;7:697–704.
109. Webber LJ, Stubbs S, Stark J, Trew GH, Margara R, Hardy K, et al. Formation and early development of follicles in the polycystic ovary. *Lancet* 2003;362:1017–21.
110. Jonard S, Dewailly D. The follicular excess in polycystic ovaries, due to intraovarian hyperandrogenism, may be the main culprit for the follicular arrest. *Hum Reprod Update* 2004;10:107–17.
111. Balasch J, Fabregues F, Penarrubia J, Carmona F, Casamitjana R, Creus M, et al. Pretreatment with transdermal testosterone may improve ovarian response to gonadotrophins in poor-responder IVF patients with normal basal concentrations of FSH. *Hum Reprod* 2006;21:1884–93.
112. Massin N, Cedrin-Durnerin I, Coussieu C, Galey-Fontaine J, Wolf JP, Hugues JN. Effects of transdermal testosterone application on the ovarian response to fsh in poor responders undergoing assisted reproduction technique—a prospective, randomized, double-blind study. *Hum Reprod* 2006;21:1204–11.

113. Barad DH, Kushnir VA, Lee HJ, Lazzaroni E, Gleicher N. Effect of inter-cycle interval on oocyte production in humans in the presence of the weak androgen DHEA and follicle stimulating hormone: a case-control study. *Reprod Biol Endocrinol*. 2014;12:68.
114. Poustie VJ, Dodd S, Drakeley AJ. Low-dose aspirin for in vitro fertilisation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;(4):CD004832.
115. Awonuga AO, Nabi A. In vitro fertilization with low-dose clomiphene citrate stimulation in women who respond poorly to superovulation. *J Assist Reprod Genet* 1997;14:503–7.
116. Oride A, Kanasaki H, Miyazaki K. Epub 2014 Jul 24. Comparison of human menopausal gonadotropin stimulation with and without clomiphene for in-vitro fertilisation in poor-responders. *J Obstet Gynaecol*. 2015;35:163-7.
117. Cole PA, Robinson CH. Mechanism and inhibition of cytochrome P-450 aromatase. *J Med Chem* 1990;33:2933.
118. Malloch L, Rhoton-Vlasak A. An assessment of current clinical attitudes toward letrozole use in reproductive endocrinology practices. *Fertil Steril* 2013; 100:1740.
119. Adashi E. Intraovarian regulation: the proposed role of insulin-like growth factors. *Ann NY Acad Sci* 1993;687:10–2.
120. Buzdar A, Howell A. Advances in aromatase inhibition: clinical efficacy and tolerability in the treatment of breast cancer. *Clin Cancer Res* 2001; 7:2620.
121. Mauras N, Lima J, Patel D, Rini A, di Salle E, Kwok A, Lippe B. Pharmacokinetics and dose finding of a potent aromatase inhibitor, aromasin (exemestane), in young males. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:5951.
122. Badawy A, Mosbah A, Shady M. Anastrozole or letrozole for ovulation induction in clomiphene-resistant women with polycystic ovarian syndrome: a prospective randomized trial. *Fertil Steril* 2008; 89:1209.
123. Casper RF, Mitwally MF. Review: aromatase inhibitors for ovulation induction. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:760.
124. Al-Fozan H, Al-Khadouri M, Tan SL, Tulandi T. A randomized trial of letrozole versus clomiphene citrate in women undergoing superovulation. *Fertil Steril* 2004;82:1561.
125. He D, Jiang F. Meta-analysis of letrozole versus clomiphene citrate in polycystic ovary syndrome. *Reprod Biomed Online* 2011; 23:91.
126. Franik S, Kremer JA, Nelen WL, Farquhar C. Aromatase inhibitors for subfertile women with polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2014; 2:CD010287.

127. Imani B, Eijkemans MJ, te Velde ER, et al. A nomogram to predict the probability of live birth after clomiphene citrate induction of ovulation in normogonadotropic oligoamenorrheic infertility. *Fertil Steril* 2002; 77:91.
128. Kamat A, Hinshelwood MM, Murry BA, Mendelson CR. Mechanisms in tissue-specific regulation of estrogen biosynthesis in humans. *Trends Endocrinol Metab* 2002; 13:122.
129. Naftolin F. Brain aromatization of androgens. *J Reprod Med* 1994; 39:257.
130. Mitwally MF, Casper RF. Aromatase inhibition reduces gonadotrophin dose required for controlled ovarian stimulation in women with unexplained infertility. *Hum Reprod* 2003; 18:1588.
131. Goss PE. Risks versus benefits in the clinical application of aromatase inhibitors. *Endocr Relat Cancer* 1999;6: 325-32.
132. Tulandi T, Martin J, Al-Fadhli R, Kabli N, Forman R, Hitkari J, et al. Congenital malformations among 911 newborns conceived after infertility treatment with letrozole or clomiphene citrate. *Fertil Steril* 2006; 85:1761.
133. Forman R, Gill S, Moretti M, Tulandi T, Koren G, Casper R. Fetal safety of letrozole and clomiphene citrate for ovulation induction. *J Obstet Gynaecol Can* 2007;29:668.
134. Lossl K, Yding Anderson C, Loft A, Freiesleben NLC, Bangsbøll S, Nyboe Anderson A. Short term androgen priming by use of aromatase inhibitor and hCG before controlled ovarian stimulation for IVF. A randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2008;23:1820–9.
135. Ozmen B, Sönmezer M, Atabekoglu CS, Olmus H. Use of aromatase inhibitors in poor-responder patients receiving GnRH antagonist protocols. *Reprod Biomed Online* 2009;19(4):478-85.
136. Kyung-Hee Lee, Chung-Hoon Kim, Hye-Jin Suk, You-Jeong Lee, Su-Kyung Kwon, et al. The effect of aromatase inhibitor letrozole incorporated in gonadotrophin-releasing hormone antagonist multiple dose protocol in poor responders undergoing in vitro fertilization. *Obstet Gynecol Sci* 2014;57(3):216-222.