

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
ETLİK ZÜBEYDE HANIM KADIN HASTALIKLARI
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
ANKARA

LONG LUTEAL AGONİST KULLANILAN IVF
SİKLUSLARINDA, HİPOFİZER BASKILANMA SONUCU
BAKILAN ANTRAL FOLİKÜL SAYISI, FSH DEĞERLERİ
VE FSH/LH ORANLARININ SİKLUS PERFORMANSINI
ÖNGÖRMEDEKİ ROLÜ

Dr. Aşkı ELLİBEŞ KAYA
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANLARI

Doç. Dr. Serdar DİLBAZ
Doç. Dr. Seda GÜVENDAĞ GÜVEN

ANKARA

2011

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
ETLİK ZÜBEYDE HANIM KADIN HASTALIKLARI
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
ANKARA

LONG LUTEAL AGONİST KULLANILAN IVF
SİKLUSLARINDA, HİPOFİZER BASKILANMA SONUCU
BAKILAN ANTRAL FOLİKÜL SAYISI, FSH DEĞERLERİ
VE FSH/LH ORANLARININ SİKLUS PERFORMANSINI
ÖNGÖRMEDEKİ ROLÜ

Dr. Aşkı ELLİBEŞ KAYA
UZMANLIK TEZİ

ANKARA
2011

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmalarım süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım her zaman saygı duyacağım başta tez hocam sayın Doç. Dr. Serdar DİLBAZ'a olmak üzere yetişmemde büyük katkıları olan eski başhekimimiz Sayın Prof. Dr. Ali HABERAL'a, başhekimimiz Sayın Doç. Dr. Ümit GÖKTOLGA'ya, klinik şeflerimiz Sayın Doç. Dr. İsmail DÖLEN'e, Sayın Doç. Dr. Orhan GELİŞEN'e, Sayın Doç. Dr. Berna DİLBAZ'a, Sayın Doç. Dr. M. Faruk KÖSE'ye, Sayın Doç. Dr. Salim ERKAYA'ya, Sayın Doç. Dr. Ömer KANDEMİR'e,

Tezimin hazırlanmasında desteğini benden esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Emine Seda GÜVENDAĞ GÜVEN'e,

Eğitimim süresince bilgi ve becerilerinden yararlandığım başta Sayın Doç. Dr. Fulya Kayıkçıoğlu olmak üzere tüm klinik şef yardımcılarımıza, tüm başasistan ve uzman doktorlarımıza,

Birlikte çalışmaktan mutlu olduğum, uykusuz gecelerin ortak tanıkları sevgili asistan arkadaşlarım, hemşire arkadaşlarım ve hastane personeline,

Hayatımı borçlu olduğum, her zaman benimle olan canım aileme, desteğini hep hissettiğim, varlığı ile güçlendiğim sevgili eşim, Sedat KAYA'ya

Dünyadaki en değerli varlığım, birtanecik güzel kızım Deniz Naz KAYA'ya

TEŞEKKÜRLER...

Dr.Aşkı ELLİBEŞ KAYA

ÖZET

Long luteal agonist tedavi protokolü uygulanan IVF sikluslarında, hipofizer baskılanma sonucu bakılan antral folikül sayısı, FSH değerleri ve FSH/LH oranlarının siklus performansını öngörmedeki rolü, T.C. Sağlık Bakanlığı Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Tezi Çalışması, Ankara 2011. IVF işlemi ekzojen gonadotropin ile yapılan kontrollü ovaryen hiperstimulasyonu, transvajinal ultrasonografi altında oosit toplama işlemini, laboratuarda fertilizasyonu ve embriyoların uterusu transservikal olarak transferini içerir. IVF'in başarısını en çok etkileyen faktörlerin başında; yaş ve tüm değişkenlerden bağımsız olarak over rezervi gelmektedir. Over rezervi belirteçlerinin çoğu hipotalamo-hipofizer aksın etkisiyle sikluslar arası farklılık göstermektedir.

Bu çalışmanın amacı; normal cevaplı olduğu düşünülen, GnRH long luteal agonist protokolü kullanılan IVF sikluslarında hipofizer baskılanma esnasında over rezervi değerlendirme testlerinden antral folikül sayısı, FSH, FSH/LH değerlerinin siklus performansını öngörmedeki rollerini araştırmaktır. Çalışmaya kontrollü ovaryen hiperstimülasyon (KOH) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) işlemi uygulanan ve GnRH long luteal agonist tedavi protokolü başlanan 78 infertil çift dahil edildi. Kötü over yanıtı öyküsü olanlar; baskılanma öncesi FSH düzeyi 12 IU/L ve üzerinde, östradiol düzeyi 60 pg/ml üzerinde ve toplam antral folikül sayısı her iki overde 6 ve altında, tek overde 10 ve üzerinde olan hastalar çalışma dışı bırakılarak normoresponder hastalar çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen hastaların adetlerinin 2. veya 3. günü serum FSH, LH, E2, TSH, fT3, fT4 ve prolaktin (PRL) düzeyleri ölçüldü. Antral folikül sayıları (AFS) siklusun 3.günü transvajinal ultrasonografi (TV-USG) ile hesaplandı. Hipofiz baskılanmasından önceki siklusun midluteal döneminde (adetin 21. gününde) GnRH agonisti (Lucrin® daily, Leuprolide asetat 0,5 mg; Abbott) subkutan (sc) başlandı. Hipofiz baskılanması sağlandığında (uterin kanama başladığında ve serum E₂ seviyeleri 50 pg/ml altına indiğinde) agonist dozu

yarıya düşürüldü ve rekombinant FSH (rFSH) 150–225 IU/gün sc başlandı. Baskılanma gününde serum FSH, LH, E₂ değerleri ve TVUSG ile antral folikül sayıları kaydedildi. Tüm hastalar için yaş, vücut kitle indeksi (BMI), tedavi süresince kullanılan toplam gonadotropin miktarı, stimülasyon süresi, toplam oosit sayısı, matür oosit sayısı, oosit kalite indeks değerleri, 2 PN (2 pronucleus) sayısı, 2. 3. ve 5. gün embriyo skorları, stimülasyonun 4. günündeki E₂ seviyeleri, HCG günü E₂ seviyeleri ve gebelik oranları kaydedildi.

Bu çalışmada bazal FSH, FSH/LH, AFS, hipofizer baskılanma sırasındaki FSH (bFSH), AFS (bAFS) ve FSH/LH (bFSH/LH) oranlarının toplam oosit sayısı (TOS), matür oosit sayısı (MOS), oosit kalite indeksi (OKİ), kullanılan gonodotropin süresi, 2pronükleus sayısı (2PN), 2., 3., 5. gün embriyo skorları ile bivaryant korelasyon analizi yapılarak sonuçlar karşılaştırıldı. Bazal FSH ile KOH süresi ve 2 PN arasında istatistiksel anlamlı korelasyon saptandı. Bazal FSH arttıkça KOH süresinin arttığı, 2PN sayısının azaldığı tespit edildi [(p= 0.04), (p= 0.01)]. Bazal FSH ile TOS, MOS, OKİ, 2., 3., 5. gün embriyo skorları arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (p ≥0.05). Bazal AFS ile kullanılan toplam gonadotropin miktarı arasında anlamlı negatif korelasyon saptandı. Bazal AFS arttıkça toplam kullanılan gonadotropin miktarının azaldığı saptandı (p= 0.007). Bazal AFS ile TOS, MOS, OKİ, 2., 3., 5. gün embriyo skorları, 2PN sayısı arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (p ≥0.05). Bazal FSH/LH ve bFSH/LH oranları, bAFS, bFSH ile TOS, MOS, OKİ, kullanılan gonodotropin süresi, 2PN sayısı, 2., 3., 5. gün embriyo skorları arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (p ≥0.05). Bazal AFS ve baskılanma günü ölçülen AFS arasında yüzde değişimler hesaplandı; minimum %8, maximum %35, ortalama %26,6 azalma tespit edildi. Yüzde değişim oranlarına göre (%26.6'nın üstünde azalma ve %26.6'nın altında azalma) iki grup oluşturularak TOS, MOS, OKİ, 2PN sayısı, 2., 3., 5. gün embriyo skorları bakımından karşılaştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p ≥0.05).

Sonuç olarak; IVF sikluslarında normal cevaplı olduğu kabul edilen, GnRH long luteal agonist protokolü başlanılan vakalarda bAFS, bFSH ve

bFSH/LH değerleri ile bazal AFS; bazal FSH, bazal FSH/LH arasında siklus performansını öngörmeye anlamlı bir fark olmadığı sonucuna varıldı.



ABSTRACT

The role of the AFC, FSH, FSH/LH values, in normal responder patients, after hypophysis supression in long luteal GnRH agonist protocols for IVF, in the prediction of cycle performance of the IVF cycles. Etlik Zübeyde Hanım Maternity and Women's Health Teaching and Research Hospital, Obstetrics and Gynecology Thesis, Ankara 2011. IVF involves a sequence of highly coordinated steps beginning with the controlled ovarian hyperstimulation with exogenous gonadotropins, followed by retrieval of oocytes from the ovaries under transvaginal ultrasound guidance, fertilization in laboratory and transcervical transfer of embryos into the uterus. The predominant factors that affect the success of IVF cycles are age and ovarian reserve of the patient. Most of the indicators of ovarian reserve show variations in between the cycles because of the effect of the hypothalamohypophysial axis. The aim of this study is; to determine the role the AFC, FSH, FSH/LH values, after hypophysis supression in long luteal GnRH agonist protocol, in the prediction of performance of the IVF cycles. In our study; seventy eight patients who underwent COH and GnRH long luteal agonist protocol were recruited for the study. Poor responder patients with a basal FSH level of ≥ 12 IU/L, estradiol level of ≥ 60 pg/ml and total AFC in both ovaries ≤ 6 and ≥ 10 in one ovary were excluded from the study. The level of basal FSH, LH, E₂, TSH, fT₃, fT₄ and prolactin were measured on the third day of the menstrual cycles of the patients in the study group. AFC is measured on the third day of the menstrual cycle by TVUSG. In the midluteal phase of the cycle before hypophyseal supression, GnRH agonist (Lucrin® daily, Leuprolide aasetat 0,5 mg; Abbott) is given. When the supression of hypophysis is succeeded (when vaginal bleeding starts and plasma E₂ level is ≤ 50 pg/ml) GnRH agonist dose is decreased to the half of initial dose and rFSH 150-225 IU/day sc is given. Day-3 FSH, LH, E₂, AFC were determined. For all the patients; age, body mass index (BMI), basal antral follicle count (AFC), overall gonadotrophin required, duration of the induced cycle, number of collected oocytes, number of the mature oocytes,

oocyte quality index, number of 2 Pronucleus (2PN), E₂ levels on the fourth day of stimulation and HCG day, 2., 3. and 5. day embryo scores and the pregnancy rates were recorded. There were statistically significant correlation between basal FSH and number of 2PN; basal FSH and duration of the induced cycle ($p= 0.04$, $p= 0.01$). A negative correlation is found between basal AFC and the amount of gonadotropin required ($p= 0.007$). There is no correlation between other parameters and basal AFC, basal FSH ($p \geq 0.05$). No correlation is found between basal FSH/LH; FSH/LH, AFC, FSH values after hypophyseal suppression and number of collected oocytes, number of mature oocytes, oocyte quality index, number of 2PN (2 Pronucleus), 2., 3. and 5. day embryo scores ($p \geq 0.05$).

As a result; in normoresponsive patients, there were no statistically significant difference between basal AFC, FSH, FSH/LH values and suppressed AFC, FSH, FSH/LH values in the prediction of performance of the IVF cycles in long luteal GnRH Agonist protocol

Key words: GnRH agonist, hypophyseal suppression, ovarian reserve tests, antral follicle count, in vitro fertilization

İÇİNDEKİLER

SAYFA NUMARASI

TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	viii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1.İNFERTİLİTENİN TANIMI	2
2.2. FOLLİKÜLER FİZYOLOJİ	4
2.3.İNFERTİLİTE NEDENLERİ	6
2.3.1.Kadına Bağlı İnfertilite	7
2.3.2.Erkek İnfertilitesi	12

2.4. OVER REZERVİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	13
2.5.YARDIMCI ÜREME TEKNİKLERİ	19
2.5.1.Kontrollü Ovarian Hiperstimulasyon	21
2.5.2.Oosit Pick Up	25
2.5.3.Fertilizasyon	26
2.5.4.Embriyo Transferi	28
2.5.5.Oosit Kalitesi	29
3.MATERYAL VE METOD	31
4.BULGULAR	35
5.TARTIŞMA	42
6.SONUÇ	48
7.KAYNAKLAR	49

KISALTMALAR

AFC	: Antral Folikül Sayısı (Antral Follicule Count)
bAFC	: Hipofizer baskılanma AFC
bFSH	:Hipofizer baskılanma Folikül Uyarıcı Hormon (Follicule Stimulating Hormone)
BMI	: Vücut Kitle İndeksi
CCCT	: Klomifen Sitrat Challenge Test (Clomiphene Citrate Challenge Test)
E2	: Estradiol
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon (Follicule Stimulating Hormone)
ft3	: Serbest Triiyodotironin
ft4	: Serbest Tiroksin
GIFT	: Gamet İntrafallopian Transfer
GnRH	: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon (Gonadotropin Releasing Hormone)
gr	: Gram
HCG	:İnsan Koryonik Gonadotropin (Human Chorionic Gonadotropin)
HMG	: İnsan Menopozal Gonadotropin (Human Menoposal Gonadotropin)
ICSI	: İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (Intracytoplasmic Sperm Injection)
IU	: İnternasyonal Ünite
IUI	: İntrauterin İnseminasyon (Intrauterin Insemination)
IVF	: In Vitro Fertilizasyon (In Vitro Fertilization)
im	: İntramusküler
KOH	: Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon
KOK	: Kombine Oral Kontraseptif
LH	: Lüteinizan Hormon

MESA	: Mikrocerrahi Epididimal Sperm Aspirasyonu
MOS	: Matür oosit sayısı
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
miu	: Miliinternasyonal Ünite
mm	: Milimetre
OHSS	: Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu
OKİ	: Oosit Kalite İndeksi
OMI	: Oosit Mayoz İnhibitörü
OPU	: Oosit Pick-up
pg	: Pikogram
PI	: Pulsatilite İndeksi
PN	: Pronukleus
PRL	: Prolaktin
PZD	: Parsiyal Zona Diseksiyonu
RI	: Rezistan İndeksi
sc	: Subkutan
SUZI	: Subzonal İnseminasyon
TESE	: Testiküler Sperm Estraksiyonu
TET	:Tubal Embriyo Transfer
TOS	: Toplanan oosit sayısı
TSH	:Tiroid Uyarıcı Hormon (Tyroid Stimulating Hormone)
TVUSG	:Transvaginal Ultrasonografi
USG	: Ultrasonografi
YÜT	: Yardımcı Üreme Teknikleri
ZIFT	: Zigot İntrafallopian Transfer

TABLolar DİZİNİ

Tablo no		Sayfa no
Tablo 1.	Uygulanan yardımcı üreme teknikleri	3
Tablo 2.	Hastaların Demografik Özellikleri	35
Tablo 3.	IVF stimulasyon parametreleri ve gebelik oranları	36
Tablo 4.	Embriyolojik data sonuçları	37
Tablo 5.	Hormonal değişkenlerinin ve hastanın yaşının, AFS ve bAFS ile bivaryant korelasyon analizi	37
Tablo 6.	MOS, OKİ, TOS, toplam gonodotropin miktarı, KOH süresinin AFS, bAFS, FSH, bFSH, FSH/LH, bFSH/LH ile bivaryant korelasyon analizi	38
Tablo 7.	2., 3., 5. Gün embriyo skorları ve 2PN sayısının AFS, bAFS, FSH, bFSH, FSH/LH, bFSH/LH ile bivaryant korelasyon analizi	39
Tablo 8.	AFS'nın hipofizer baskılanma yüzdesi	39
Tablo 9.	Grup I ve II'nin embriyolojik data verilerinin tanımlayıcı verileri	40
Tablo 10.	Grup I ve II arasında embriyolojik data verilerinin karşılaştırılması	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1. Primordial folikülden ovulasyona kadar foliküler gelişim	5
Şekil 2. Oosit pick-up	26

GİRİŞ

Yardımcı üreme teknikleri (YÜT), intrauterin inseminasyonu (IUI) ve insan üreme hücrelerinin (sperm ve oosit) vücut dışında fertilizasyonu ile embriyo elde edilmesi tekniklerinin tümünü kapsar. İlk uygulanan in vitro yöntem olan IVF; ekzojen gonadotropin ile yapılan kontrollü ovaryen hiperstimülasyonu, transvaginal ultrasonografi altında oosit toplama işlemini, laboratuarda fertilizasyonu ve embriyoların uterusu transservikal olarak transferini içerir. IVF tedavisinde amaç; optimal sayıda kaliteli oosit ve embriyo gelişiminin sağlanması, temel basamak; kontrollü ovaryen hiperstimülasyondur (KOH). Bu amaçla kullanılacak protokol ve başlanacak gonadotropin dozunu belirlemek büyük önem taşımaktadır.

IVF'in başarısını en çok etkileyen faktör; tüm değişkenlerden bağımsız olarak over rezervidir. Over rezervi; overlerde follikülogenez ve steroidogenez fonksiyonunu yerine getirecek foliküllerin sayısı, kalite ve yeterliliğini tanımlamaktadır. Over rezervi kadının fertilizasyon yeteneğiyle ilişkilidir. İleri yaş, geçirilmiş ovaryen cerrahi, şiddetli endometriozis, obezite, sigara içimi, adezyon ve frozen pelvis gibi anatomik bozukluklar, latent veya prematur ovarian yetmezlik over rezervinde azalmaya sebep olan faktörlerdir (1). Üreme tıbbının en sık konuşulan konularından biri, over rezerv testleri olmuştur. Over rezerv testlerinin çoğu sikluslar arası farklılık göstermektedir. Yapılan çalışmalarda; sikluslar arası over rezerv testlerinin sonuçlarındaki dalgalanmaların hipotalamo-hipofizer aksından kaynaklandığından yola çıkarak; IVF sikluslarında long luteal agonist kullanılan vakalarda hipofizer baskılanma gerçekleştirildikten sonra, over rezerv testleri tekrarlanmış, anlamlı sonuçlar elde edilmiştir (2).

Bu çalışmanın amacı; yapılan ön tetkikler sonucunda normal cevaplı olduğu düşünülen, GnRH long luteal agonist protokolü kullanılan IVF sikluslarında, hipofizer baskılanma esnasında over rezerv testlerinden antral folikül sayısı, FSH, FSH/LH değerlerinin siklus performansı üzerine etkilerini araştırmaktır.

GENEL BİLGİLER

2.1.İNFERTİLİTENİN TANIMI

İnfertilite korunmasız cinsel ilişkiye rağmen bir yıl boyunca gebe kalınamaması olarak tanımlanmaktadır. Bu durum, üreme çağındaki çiftlerin %10-15'ini etkilemektedir. Genç çiftlerin %85-90'ında ise 1 yıl içinde gebelik oluşmaktadır (3).

Daha önce hiç gebelik oluşmamasına primer infertilite, en az bir kez gebeliği olan bir kişinin, korunmasız cinsel ilişkiye rağmen bir yıl boyunca gebe kalamaması durumuna ise sekonder infertilite denilmektedir.

İnfertilitenin sıklığı ve nedenleri bir toplumdan diğerine farklılık gösterir. Çiftlerin %30-40'ında erkek, %40-50'sinde kadın infertilitesi, %10-15'inde ise günümüzdeki mevcut standart tanısal testler ile izah edilemeyen (açıklanamayan) infertilite mevcuttur. Dünya popülasyonunda 72.4 milyon kişinin infertil olduğu 2007 yılında yapılan bir araştırmada saptanmıştır (4).

Fekundabilite, tek menstruel siklusta gebe kalabilme olasılığıdır ve bu oran normal çiftler için %25'dir. Fekundite ise tek menstruel siklusta canlı doğum elde edebilme yeteneği olarak tanımlanmaktadır.

Günümüzde azalmış fertilité ve doğum oranları çeşitli faktörlere bağlanmıştır (5):

- Kadınların çalışma hayatı ve eğitim düzeyi
- Artmış evlilik yaşı ve boşanma oranı
- Doğum kontrolü ve aile planlaması uygulamalarında gelişmeler
- İlerlemiş doğum yaşı

Son yirmi yılda infertilite konusunda önemli gelişmeler olmuştur. Yardımcı üreme tekniklerinin gelişip yaygınlaşmasıyla, çocuk sahibi olması zor görülen birçok çiftte başarılı sonuçlar elde edilmistir. Yardımcı üreme teknikleri (YÜT), insan üreme hücrelerinin (sperm ve oosit) vücut dışında fertilizasyonu ile embriyo elde edilmesi tekniklerinin tümünü ve intrauterin inseminasyonu (IUI) kapsar. İlk uygulanan yöntem olan in vitro fertilizasyonun (IVF) ilk bebeği; Louise Brown 1978 yılında İngiltere'de dünyaya gelmiştir.

Dünyada ilk kez tüp bebek uygulamasını gerçekleştiren 'tüp bebeğin babası' İngiliz bilim adamı Prof. Dr. Robert Edwards, 2010 Nobel Tıp Ödülü'ne layık görülmüştür. IVF'in ilk uygulandığı günlerden bu güne teknolojik yöntemler sayıca artmaktadır. YÜT artık ejakulat ile (ICSI), veya mikrocerrahi epididimal sperm aspirasyonu (MESA) veya testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE) ile elde edilmiş spermelerin intrastoplazmik olarak enjekte edildiği yöntemleri ve implantasyon öncesi genetik tanıyı (PGD) içermektedir. Gamet veya embriyoların tubal transferi (GIFT, ZIFT) temeline dayananlar, işlemin hem zor ve hem de invaziv olması nedeniyle yaygın kullanım şansı elde edilememiştir.

Tablo 1.Uygulanan yardımcı üreme teknikleri

IVF-ET	İn vitro fertilizasyon ve embriyo transferi
GIFT	Gamet intrafallopian transfer
ZIFT	Zigot intrafallopian transfer
TET	Tubal embriyo transferi
PZD	Parsiyel zona diseksiyonu
SUZI	Subzonal sperm enjeksiyonu
ICSI	İntrastoplazmik sperm enjeksiyonu

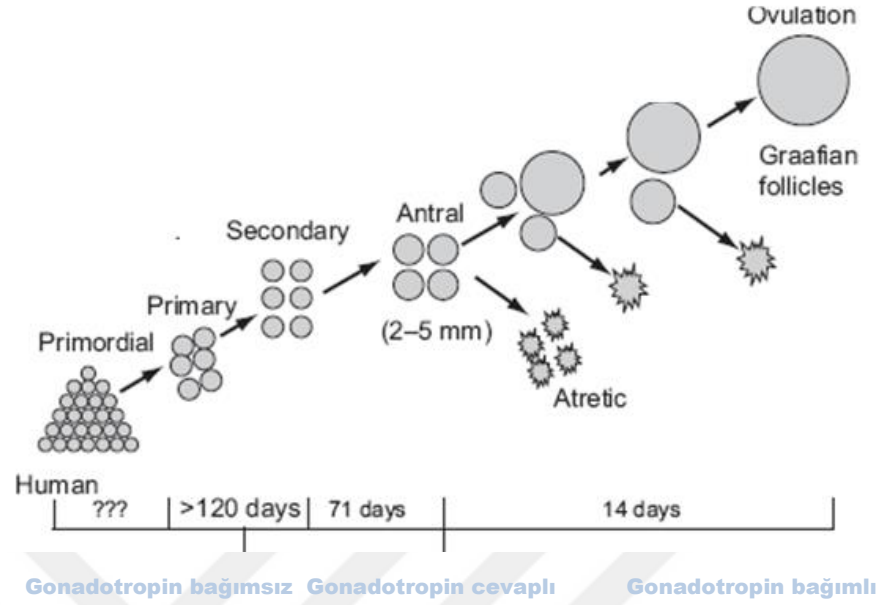
Toplum demografisindeki değişimlerin biyolojik olarak daha az fertil olan ileri yaş kadınların gebelik isteğinde artışa sebep olması; yardımcı üreme tekniklerindeki gelişmelere medyanın ilgisi, fertilite ve modern tedavi yöntemleri hakkında toplumun duyarlılığını arttırmıştır.

Doğru tedavi için infertiliteye neden olan sebepler iyi belirlenmeli ve nedene yönelik tedavi planlanmalıdır. İnfertilite yönetiminde optimal yaklaşım; rutin araştırma metodu ve doğru zamanlamanın saptanması, çifte yetersiz veya gereksiz tedavi uygulanmasının engellenmesidir (5).

2.2.FOLLİKÜLER FİZYOLOJİ

İnsan overinde foliküler yapılaşmanın ve fizyolojik değişikliklerin amacı matür fertilize olabilir özelliklerdeki bir folikülün gelişmesidir. Over kendi dinamiği içinde hormonların otokrin, parakrin etkileşimler ve hipotalamohipofizer sistemin kontrolü ile over folikül havuzundan seçilerek dominans kazanacak bir primordial folikülü preantral, antral ve preovulatuvar evrelerden geçirterek ovulasyona götürür.

Ovulasyondan 120 gün önce overlerde yaklaşık 300 civarında follikül büyümeye ve gelişmeye başlar. Bu aşamada gelişim gonadotropinlerden bağımsızdır. Bu 300 follikülün %90'ı dejenere olurken kalan 30 kadarı siklusun başlangıcında antral follikül aşamasında follikül stimüle edici hormon (FSH) etkisine hazır olur. Bunlardan bir tanesi dominant follikül olur, diğerleri atreziye uğrar. Böylece yeni follikül 60 günde 1 mm'lik, takip edilen siklustan bir önceki luteal fazda 4-6 mm'lik ve folliküler fazın sonunda da 20 mm'lik boyuta ulaşır. Primer oosit ovulasyon tetiklenmesine kadar intrauterin hayatın 11-12. haftasında başlayan mayoz bölünmenin profazının diptoten aşamasında duraklar. İntrauterin hayatın 16. haftaları civarında oosit, iç biçimli pregranüloza hücreleri ile çevrelenir; 30-60 milimikron çaplı bu hücreler öncül folikül olup primordial folikül adını alır. Yeni primordial hücre oluşumu doğum sonrası 6. aya kadar sürebilir. Foliküler büyümenin başlangıç safhasını oluşturan primordial folikül oluşumunu tetikleyen mekanizmalar tam olarak aydınlanmamakla birlikte, gonadotropin bağımsız olduğu ve overin otonomisi ile gerçekleştiği bilinmektedir. Folikülün over folikül havuzuna primordial folikül olarak girişinden foliküler olgunlaşma basamaklarını tamamlayarak ovulasyonun gerçekleşmesine kadar geçen süre yaklaşık 150 gün civarındadır. Bu evrede preantral devreden antral devreye kadarki süreçte büyüme gonadotropin bağımsız olup lokal büyüme faktörleri ile gerçekleştiği sanılmaktadır (5).



Şekil 1. Primordial folikülden ovulasyona kadar foliküler gelişim (6)

FSH etkisi altındaki antral follikül gelişimini sürdürdükçe artan estradiol (E2) düzeyi, estradiol tepe noktasından 12-24 saat sonra LH salgısını tetikler. Estradiol serumda yeterli süre ve miktarda bulunmalıdır (50 saat süreyle 200 pg/ml). LH uyarısı ile, dominant folikül sıvısında bulunan ve primer oositin mayoz bölünmenin I. fazında duraksamasını sağlayan oosit mayoz inhibitörü (OMI) devre dışı bırakarak mayoz bölünme tamamlanır ve ovulasyon gerçekleşir. Sekonder oosit artık II. mayozun metafaz aşamasında beklemektedir. Ovulasyondan hemen sonra ovum tubaya geçer ve 30 saat içinde ampullaya ulaşır. 30 saat kadar da burada kalmaktadır. Fertilizasyon gerçekleşirse oosit II. mayoz bölünmesini de tamamlar. Fertilizasyonu takiben yaklaşık 3. günde gelişen embriyo tubadan uterus içine girer. Uterin kavitede 72 saat kadar kalan embriyo zona pellusidasından kurtularak endometriumu implante olur. Normal sikluslarda gelişen folliküller ilk olarak 5-7. günlerde ultrasonografi ile görülmeye başlanır, dominant follikül 8-10. günlerde belirlenir. Preovulatuvar follikülün çapı 14-28 mm'dir. Siklusların %5-11'inde 2 dominant follikül gelişir. Dominant olmayan folliküller 14 mm'den daha büyük çapa ulaşamazlar.

2.3.İNFERTİLİTE NEDENLERİ

Başlıca infertilite sebepleri; ovulatuvar disfonksiyon (%15), tubal ve peritoneal patoloji (%30-40), erkeğe bağlı faktörler (%30-40), uterin patoloji ve açıklanamayan infertilitedir. Bu patolojilerin sıklığı yaşla beraber değişmektedir.

İnsan üreme sürecinin karmaşıklığı gözönüne alınarak infertilite nedenleri araştırılırken, iyi bir değerlendirme için sürecin en temel parçalarına kadar incelenmesi gerekmektedir;

- Sperm ovulasyon döneminde servikte depolanmalı, fallop tüplerine ilerlemeli ve oosit dölleme kapasitesine sahip olmalıdır.
- Düzenli, siklik ovulasyon olmalıdır.
- Serviks spermi filtre etmeli, olgunlaştırmalıdır.
- Fallop tüpleri sperm ve embriyonun endometriumuna transportunu sağlamalıdır.
- Uterusun embriyo implantasyonu için reseptivitesi olmalıdır.

Değerlendirmeye bir yıl veya daha uzun süredir düzenli korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebelik olmayan çiftlerde başlamak gerekir. Eğer kadın 35 yaş üzerindeyse, oligo/amenore öyküsü varsa, uterin/tubal hastalık veya endometriosis varlığı veya şüphesi durumunda, partnerinin subfertil olduğu biliniyorsa daha erken değerlendirme ve tedavi endikedir (7). Erkek bilinen bilateral kriptorşidizm öyküsü gibi erkek infertilitesi veya, kadın infertilitesi risk faktörleri varlığında, kadın 35 yaş üzerinde ve erkeğin fertilite potansiyeli hakkında sorunları olduğunda değerlendirmeye daha erken başlanmalıdır (8).

2.3.1. Kadına Bağlı İnfertilite

A- Ovulasyon bozukluğu:

Kadın infertilitesinin önemli bir nedeni olan ovulatuvar bozukluklar; ovulasyon olmaması (anovulasyon) veya sıklığının azalmasıdır (oligoovulasyon). Her iki durumda da sorun; overdeki foliküllerin yaşlanması veya fertilizasyon için gerekli olan oosit sayısının azalmasıdır. Menstrüel kanamanın düzensiz olması ya da olmaması halinde infertilitenin oligoovulasyon anovulasyon ile ilişkili olması muhtemeldir.

Ovulasyonunun olup olmadığının tespiti için bazı göstere ve testler kullanılmaktadır;

Tıbbi öykü:

Düzenli aylık menstrüasyon gören ve meme hassasiyeti ya da dismenore gibi siklik semptomları olan hastalar ovulatuardır. Anovulatuvar kadınlarda ise menstrüel periodlar düzensiz, ne zaman olacağı belirli olmayan, miktar olarak değişken ve düzensiz paternli olmaktadır. İlk menstrüel siklus her zaman ovulatuvar iken, ovulasyonun kesin kanıtı gebeliktir.

Bazal vücut ısı ölçümü:

Yataktan kalkmadan önceki sabah vücut ısı, ovulasyondan önce 36,5 C'den az olup, normal luteal fazda 36,5 C'nin üzerinde olan ısı artışı 10 gün sürer. Progesteronun termojenik etkisi sonucu, vücut ısısında 0,2-0,3 °C artış izlenir. Bu bifazik patern hemen hemen her zaman ovulasyonla ilişkilidir.

Mid luteal progesteron ölçümü:

Serum progesteron ölçümü basit, minimal invaziv ve pahalı olmayan bir yöntem olduğundan kullanımı oldukça yaygındır. Serum progesteron düzeyleri ovulasyondan 7-8 gün sonra en yüksek düzeye ulaşmaktadır. 3 ng/ml ve üzerindeki düzeyler ovulasyonun oluştuğunun objektif kanıtıdır (9).

Üriner LH Salınımı:

“Ovulasyon belirleyici kitler” veya “LH kitleri” olarak bilinen evde birkaç dakikada yapılabilmesi ile avantajlı görünen bu ürünler idrarda siklus ortası LH artışını tespit etmektedir. Bu kitler non-invaziv, daha az zaman ve güç gerektiren, ancak kadınların uyumunu gerektiren testlerdir. Siklus ortası LH artışı tipik olarak 48-50 saat sürmektedir. LH’nın yarı ömrü kısadır ve idrar yoluyla hızla temizlenmektedir. LH artışını doğru olarak saptamak için test, beklenen artıştan 2-3 gün önceden başlamak üzere tüm siklus boyunca günlük yapılmalıdır. Genellikle ovulasyon idrar LH artımından 14-26 saat sonra ve hemen daima 48 saat içinde olmaktadır (10). Fertilitenin en yüksek olduğu dönem LH artımının olduğu gün ve sonraki iki gündür. İlk pozitif testin olduğu günden sonraki gün genellikle en uygun ilişki ve inseminasyon günüdür.

Endometrial Biyopsi:

Korpus luteumun fonksiyonel kapasitesini ve endojen yanıtını değerlendiren bir testtir. Progesteronun endometrium üzerinde yaptığı değişiklikler gözlenerek ovulasyonun gerçekleşip gerçekleşmediği izlenir. Ancak invaziv ve pahalı olması, ve rahatsızlık veren bir yöntem olması dolayısıyla sınırlı endikasyonlar dışında endometrial biyopsi artık günümüzde infertil hastaların değerlendirmesinde geçerli bir yöntem değildir.

Transvaginal Ultrasonografi :

Seri ultrasonografik ölçümler ile gelişen folliküllerin sayısı, boyutları, ovulasyonu ve luteinizasyonu izlenebilir. Gelişimlerinin son döneminde preovulatuar folliküller günde yaklaşık 2 mm (1-3 mm) büyümektedir. Ovulasyondan sonra follikül boyutu hızla azalır, kenarları düzensizleşir, internal eko derecesi artar ve cul-de-sac’da sıvı miktarı artar.

Ovulasyonu değerlendirirken kullanılan mevcut yöntemlerin bazıları basit, non-invaziv, ucuzken; diğerleri karmaşık, invaziv, ve pahalı olabilir. Seçilen yöntem kişilerden alınan bilgiler doğrultusunda onların gereksinimlerini karşılayacak şekilde olmalıdır.

B- Tubal Faktör ve Pelvik Adezyonlar:

Tubal ve peritoneal patoloji en sık görülen infertilite nedenlerindendir ve infertil çiftlerin yaklaşık %30-35'inde görülmektedir (11). Özgeçmişinde pelvik inflamatuvar hastalık öyküsü, pelvik tüberküloz, septik abortus, ektopik gebelik, rüptüre apandisit öyküsü, tubal hasar olasılığını akla getirmelidir. Tubal faktöre bağlı infertilitenin en sık sebebi; klamidya ve gonoreenin sebep olduğu pelvik inflamatuvar hastalıktır. Tek akut PID atağından sonra %10-12, iki ataktan sonra %23-35, üç ataktan sonra %75'lere kadar tubal infertilite riski bildirilmiştir (12). Tubal hastalık ve pelvik adezyonlar oosit ve spermin fallop tüpünde normal transportuna engel olan anatomik anormalliklerdir. Oklüzyon proksimal veya distal olabilir. Diğer faktörler gözönüne alındıktan sonra tıkanmanın yerine göre tedavi planlanır.

İnfertil kadınlarda tubal yeterliliği değerlendiren iki yöntem mevcuttur.

Bu yöntemler; histerosalpingografi (HSG) ve laparoskopidir. HSG ucuz ve tedavi etkinliği olabilen bir yöntemdir. Ancak aynı zamanda ağırlı, radyasyon maruziyeti gerektiren ve enfeksiyon riski barındıran bir uygulamadır. Uterin kavitenin boyutu ve şekli hakkında bilgi verir. Çoğu uterin anomalilerin değerlendirilmesinde net görüntü sağlar (unicornus, septat, bicornus, didelfis). Submükoz myom ve intrauterin adezyonların tanısında yardımcı olur. Endometrial poliplerin saptanmasında da faydalı bir yöntemdir. HSG ile proksimal, distal tubal oklüzyon ve salpenjitis isthmika nodosa gösterilebilir. HSG'nin tubal obstruksiyonu tanımlamadaki sensitivitesi %65'dir. Laparoskopi ise endometriosis, pelvik adezyon, tubal hastalık ve ovaryen patolojileri de içeren pelvik anatomi hakkında ayrıntılı bilgi vermektedir. HSG'ye nazaran daha invazivdir, genel anestezi gerektirir. Eğer histeroskopi ile birlikte yapılmazsa uterin kavite hakkında bilgi veremez ancak kromopertubasyon ile tubal açıklık izlenebilir, proksimal ve distal tubal oklüziv hastalık tanısı koyulabilir. Fimbrial fimozis ve peritubuler adezyon tanısı da bu metotla koyulabilmektedir.

C- Servikal Faktör:

Servikal mukus; ejakulattan anormal morfolojili spermli ayıklar, spermli için rezervuar rolü oynar, spermli canlı kalma süresini uzatır. Bu nenenle üreme sürecinde birçok adımda rol oynar. Normal siklus ortası servikal mukus, spermli transportu için gereklidir. Konjenital malformasyonlar, travma, geçirilmiş operasyon, servikte stenoza neden olarak normal mukus üretimine engel olabilir.

D- Uterin Faktör:

İnfertilitenin nadir nedenlerinden olan uterin faktör; gebeliğin oluşmasını engellemekten çok, oluşmuş gebeliğin prognozunu olumsuz etkilediği için infertiliteyle ilişkilendirilmiştir. Uterin anormallikler, konjenital malformasyonlar, leiomyomlar, intrauterin adezyonlar, endometrial polipler ve tek fonksiyonel anormallik olan endometrit fertiliteyi olumsuz etkileyen uterin faktörler arasında sayılmaktadır.

E- Endometriozis:

Endometriozis endometrial dokunun uterin kavite dışında bulunmasıdır ve artmış infertilite riski ile ilişkilidir. Fertiliteyi azaltma mekanizmaları; pelvik adezyonlarla anatomik bozukluk, endometrioma oluşumu ve çıkarılması ile ovarian dokuda hasar ve çeşitli sitokin ve büyüme faktörleri üreterek normal ovulasyon fertilizasyon ve implantasyon oluşumunu engellemektir.

F- İmmunolojik ve Trombofilik Faktör:

Kalıtsal veya kazanılmış trombofiliye bağlı hiperkoagulabilite, immün sistemdeki anomaliler (sistemik lupus eritematosus, antifosfolipid sendrom) erken gebelik kaybına veya plasental hasara sebep olabilir.

G- Genetik Hastalıklar:

İnfertil çiftlerde genel popülasyona göre daha yüksek karyotip anomalisi prevalansı vardır (13). İnfertilite ile ilişkili en sık görülen anöploidiler

kadınlarda 45,X0 (Turner sendromu), erkeklerde 47,XXY (Klinefelter sendromu)'dir.

H- Açıklanamayan İnfertilite:

Açıklanamayan infertilite tanısı, infertilite araştırmasındaki tüm standart testlerin normal çıkması ile konur. İnsidansı, infertil popülasyonda tanı kriterlerine bağlı olarak %10-30 arasında değişmektedir (14). Bu çiftlerin erkeklerinde normal semen analizi, kadında ise ovulasyonun objektif kanıtları, normal uterin kavite ve bilateral tubal açıklık saptanır. Açıklanamayan infertilite normal reproduktif etkinlik dağılımının en alt sınırını veya standart değerlendirme metodları ile tanısı koyulamayan sperm veya oosit fonksiyon anormallikleri, fertilizasyon, implantasyon veya preembriyonel gelişim bozukluklarını içermektedir. Tedavi edilmemiş olan çiftlerde siklus başına gebelik oranı %2-4 kadardır. Bu da normal çiftlerin %80-90 aşığındadır (15).

Tedaviden bağımsız gebelik oranları artan yaş ve infertilite süresiyle ters orantılıdır. 3 yıllık infertiliteden sonra spontan gebelik oranları %40'lardayken, 5 yıldan sonra % 20'ler düşmektedir (16).

Açıklanamayan infertilitede uygulanan tedaviler ampiriktir ve amacı aylık gebe kalabilme oranını normal fertil çiftler seviyesine çekmek için belirli zamanda karşılaşılan sperm ve yumurta sayısını artırmaya yöneliktir. Önerilen tedavi yöntemleri intrauterin inseminasyon (IUI), ovarian hiperstimulasyon (klomifen sitrat, ekzojen gonadotropinler), süperovulasyonla birlikte IUI ve YÜT'dir.

Açıklanamayan infertilitede ortalama siklus fekundabilitesi (17):

Tedavi uygulanmamış.....	%1,3-4,1
IUI.....	%3,8
Klomifen.....	%5,6
Klomifen+IUI.....	%8,3
Gonadotropinler.....	%7,7
Gonadotropinler+IUI.....	%17,1

IVF.....%20,7

Yukarıdaki kadın infertilitesi nedenleri değerlendirilmeye başlamadan önce aşağıdaki durumlar sorgulanmalıdır (18):

- Gravida, parite, gebelik sonuçları ve ilişkili komplikasyonlar
- Siklus uzunluğu ve özellikleri, dismenore varlığı ve şiddeti
- Cinsel ilişki sıklığı ve seksüel disfonksiyon varlığı
- İnfertilite süresi ve daha önceki değerlendirme ve tedavilerin sonuçları
- Daha önce yapılan cerrahi müdahaleler ve sonuçları ile mevcut tıbbi

hastalıklar veya cinsel yolla bulaşan enfeksiyon varlığı

- Önceki anormal servikal smear sonuçları ve uygulanan tedaviler
- Uygulanan tedaviler ve allerjiler
- Sigara, alkol veya diğer madde kullanımları
- Doğumsal anomaliler, zeka geriliği, erken menopoz veya infertilite

açısından aile hikayesi

- Tiroid hastalığı semptomları, pelvik veya abdominal ağrı, galaktore, hirsutizm ve disparoni varlığı

Takiben BMI, iç genital organlar, tiroid, meme, sekonder seks karakterleri, kıllanma olup olmaması, vaginal muayeneyi de içeren ayrıntılı fizik muayene yapılması gerekmektedir.

2.3.2. Erkek İnfertilitesi

Günümüzde infertil çiftlerin %20'sinde erkekteki anormalliklerin tek neden olduğu; %20-40'ında ise önemli bir etken olarak karşımıza çıktığı gözlenmektedir. Düzenli korunmasız bir yıllık ilişkiye rağmen gebelik oluşmuyorsa, erkek eşin değerlendirilmesi, kadının değerlendirilmesi ile aynı anda başlar. Erkek infertilitesinde önemli bir yüzde idiyopatik nedenlere bağlıdır. Diğer erkek infertilitesi nedenleri; sperm üretim, transport ve fonksiyon bozukluklarıdır.

Semen analizinde Dünya Sağlık Örgütü' nün (DSÖ) önerdiği referans değerler (8):

- Ejakulat hacmi :1,5-5 ml
- pH :>7,2
- Sperm konsantrasyonu :>20 milyon/ml
- Total sperm sayısı : >40 milyon/ejakulat
- Motilite : >%50
- İleri hareket : >2 (0–4 arasında derecelendirilir. Derece 3-4: hızlı hareket eden, Derece 2: yavaş hareket eden, Derece 0-1: progresif olmayan)
- Normal morfoloji : >%50 (DSÖ, 1987)
: >%30 (DSÖ, 1992)
: >%14 (Kruger kriterleri DSÖ, 1999)
- Sperm aglutinasyonu : <2 (0-3 arasında)
- Viskozite : <3 (0-4 arasında)
- Yuvarlak hücre : <5 milyon/ml

2.4 OVER REZERVİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Over rezerv testleri, oosit kalitesini değil, kantiteyi gösteren testlerdir (19). Over rezerv testlerinin öncelikli olarak kullanım endikasyonları (7):

- 35 yaş üzerindeki kadınlar
- Tek overi olan veya overyan cerrahi geçirmiş kadınlar
- Ekzojen gonadotropin stimülasyonuna kötü cevap veren kadınlar
- Erken menopoza aile hikayesi
- Yaştan bağımsız olarak nedeni açıklanamayan infertilite
- Sigara bağımlılığı

Over Rezervinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Parametre ve Testler:

A. Yaş:

Over rezerv değerlendirilmesinde ilk bakılan parametre yaştır, gerek spontan ve gerekse yardımcı üreme teknikleri ile elde edilen gebeliklerin prognozunun belirlenmesinde yaş önemli yer tutmaktadır. Kadın yaşındaki artış hem oosit sayısını hem de kalitesini negatif yönde etkilemektedir (20). Ancak infertil olgulara gebelik şansı ile ilgili danışmanlık verilirken diğer testlerin de göz önünde bulundurulması mantıklı bir yaklaşım olacaktır.

B. Bazal FSH Düzeyi:

Erken foliküler fazda FSH düzeyinin yükselmesi indirekt bir belirteçtir çünkü azalmış ovaryen estradiol üretimine bağlı hipofize olan negatif feedback azalmakta ve FSH üzerindeki baskı ortadan kalkmaktadır. Erken foliküler faz FSH değerinin 10-15 IU/ml ve üzerinde saptanması over rezervinin azaldığının göstergesidir (5). FSH değeri sikluslar arasında dalgalanmalar gösterebilmekle birlikte en az bir kez yüksek bulunması zayıf over rezervi yönünden anlamlıdır. Scott ve arkadaşları, basal FSH ve E2 ölçümlerinin YÜT'de azalmış başarı şansını ve azalmış overyan rezervi öngörmeye yaştan daha iyi belirteçler olduğunu savunmuştur (21). Kırk yaşın üzerindeki kadınlarda FSH reproduktif potansiyel tahmininde güvenilir bir belirteçtir (22). Chuang ve arkadaşlarına göre ise yaştan, 35 yaş altı hastalarda, IVF sonuçlarını ve yumurta kalitesini öngörmeye FSH'dan daha iyi bir belirleyici olduğu belirtilmektedir (23). Sonuç olarak erken foliküler FSH ve yaştan kombinasyonu; IVF sonuçlarını öngörmeye, yalnız yaş ve yalnız FSH değerlerine göre daha iyi bir belirteç olduğu düşünülmektedir (24).

FSH ölçümünün limitasyonları sikluslar arası dalgalanma göstermesi ve laboratuvar ölçümlerindeki uyumsuzluktur (21). FSH seviyesinde dalgalanmaların hipotalamo-hipofizer aksın disfonksiyonundan kaynaklanması nedeniyle, IVF sikluslarında long luteal agonist kullanılan vakalarda hipofizer baskılanma sonucu bakılan 3.gün FSH değerlerinin over rezervini öngörmedeki rolleri araştırılmış; overyan rezervi belirlemede,

toplanan oosit sayısını ve OHSS gelişimini öngörmeye anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Onagawa ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada;hipofizer baskılanma günü stimülasyon öncesi bakılan FSH eşik değeri 5,25 IU/ml olarak belirlenmiş ve bu değerin üstünde toplanan oosit sayısı ve OHSS gelişme olasılığı düşük bulunmuşken bu değerin altında her ikisi de yüksek bulunmuştur (25).

C. FSH:LH oranları:

Baskılanma anında normal FSH düzeyleri bulunduğunda dahi, artmış FSH/LH oranlarının zayıf yanıt veren hastaları öngörebildiği belirtilmiştir. Yapılan çalışmalarda FSH/LH oranı ortalama ≥ 3 olan hastaların KOH'a yanıtının zayıf olduğu, siklus iptal oranlarının istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu, zayıf cevabı öngören en iyi belirteç olduğu savunulmuştur (26, 27, 28).

D. Bazal Estradiol Düzeyi:

Erken foliküler fazda yüksek bulunan E2 değerlerinin (≥ 80 pg/ml) kötü prognozla ilişkili olduğunu kanıtlamıştır (29).

Erken foliküler fazda FSH ve E₂'nin birlikte değerlendirilmesi, artan E₂ seviyesine bağlı FSH düzeylerinin baskılanması sonucunda yapılacak yanlış değerlendirmeleri önleyecektir.

Kontrollü ovarian hiperstimulasyon esnasında human koryonik gonadotropin (HCG) uygulama günü estradiol değerinin 800 pg/ml'nin altında olması "zayıf cevap" olarak adlandırılmaktadır

E. Over Hacmi ve Antral Follikül Sayısı:

Üreme çağındaki bir kadında ortalama over hacmi 5.5-6 cm³ civarında olup, 40'lı yaşlardan sonra giderek küçülmeye başlamaktadır. Ancak over hacmindeki klinik olarak anlamlı değişiklikler reproduktif çağın sonlarında meydana geldiği için overyan yanıtı öngörmeye pratikte kullanımı sınırlı olmaktadır (30).

Antral folikül sayısı (AFS) ise overyan yanıtın direkt sayısal belirtecidir (19). Günümüzde over rezervinin değerlendirilmesi klinik uygulamada en önemli kriterdir. Ayrıca antral follikül sayısı; yaş ve bazal FSH gibi endokrin belirteçlere göre over rezervini belirlemede daha güvenilir bir parametredir (31).

Reprodüktif çağda AFS, her yıl ortalama 0,35-0,95 azalmaktadır.

AFS ve folikül boyutlarını ölçme tekniği ve kullanılan tanımlarda farklılıklar mevcuttur (32,33). Klinik çalışmalarda AFS kullanımına bir standardizasyon getirmek için 2007 yılında bir workshop düzenlenerek bazı temel klinik ve teknik önerilerde bulunulmuştur (16):

Hasta seçimine dikkat edilmeli; folikül sayımını teknik olarak etkileyecek patolojik durumu olan (endometriozis, geçirilmiş ovarian cerrahi) ve irregüler siklusları olan hastaları değerlendirirken dikkatli olunmalıdır.

Siklus içindeki varyasyonlardan kaçınmak için spontan veya OK ile olan menstrüel siklusun 2. - 4. günleri arasında, 2 - 10 mm olan AFS primordial folikül havuzunun iyi bir göstergesi olduğu için, 2 – 10 mm olan antral foliküller sayılmalıdır.

TVUSG.de AFS ile ilgili uygun eğitimi almış her klinikteki sınırlı sayıda hekimin, 2 boyutlu gerçek zamanlı bir görüntüleme ile 2 mm.lik uzunluğu iyi bir çözünürlükte yapabilecek en az 7 MHz transvaginal transdüser kullanarak yaptığı ölçümler uygundur.

Sistematik bir yol izlenmelidir:

Overin bulunmasını takiben 2 düzlemde over boyutları tespit edilmelidir. Eğer en büyük folikül 10 mm ise; dış overyan sınırdan başlanarak karşı sınıra kadar foliküller sayılmalıdır. Overyan sınır içindeki her oval yuvarlak hipoekoik yapı folikül olarak sayılmalıdır. Aynı işlem karşı overe de uygulanmalıdır. Toplam AFS için her over için bulunan sayı toplanmalıdır.

Eğer en büyük folikül 10mm.'den büyük ise; büyükten küçüğe doğru basamaklı olarak 10 mm.'in altında folikül ölçülene kadar foliküller sayılmalı, takiben folikül çapına bakmadan bütün foliküller sayılmalı, toplam rakamdan 10 mm.'den büyük folikül sayısı çıkarılmalıdır (16).

Antral follikül sayısına göre overyan rezerv dört dereceye ayrılır (2):

Grade 1: Antral follikül sayısı 4'den azdır. KOH'a yanıt yetersizdir, başarısızlık riski yüksektir.

Grade 2: Antral follikül sayısı 4-6'dır. KOH'a cevap yetersizdir.

Grade 3: Antral follikül sayısı 7-10'dur.

Grade 4: Antral follikül sayısı 10'dan fazladır. Bu overler polikistik over (PCO) veya PCO benzeri olup folliküler atrezi veya ovarian hiperstimulasyon sendromu (OHSS) riski yüksektir.

F. İnhibin - B Düzeyi:

İnhibin A ve B dimerik polipeptid yapıda hormonlardır. İnhibin B geliştirmekte olan foliküllerden luteo-foliküler geçiş döneminde salınarak kanda artmaya başlar ve midfoliküler dönemde en üst düzeye ulaşır. Erken foliküler fazda bakılan inhibin-B düzeylerinin geliştirmekte olan foliküllerin sayı ve kalitesiyle orantılı olduğu düşünülmektedir (34). İnhibin-B Transforming growth faktör-β ailesinin üyesidir. FSH bağımlı bir hormon olan inhibin-B büyüyen foliküllerin direkt göstergesi olmasından dolayı; overyan aktivitenin iyi bir indikatörüdür.

Üçüncü gün inhibin-B düzeyi 45 pg/ml ve altında saptanan olgularda gebelik oranı düşük, siklus iptali riski yüksektir (35).

Overlerdeki granuloza hücrelerinden salgılanan inhibin-B FSH salınımını inhibe eder. İlerleyen yaş ve azalan over rezerviyle paralel olarak inhibin-B seviyesinin azaldığı gösterilmiştir. İnhibin-B seviyesindeki düşmenin FSH seviyelerindeki değişimden önce meydana geldiği saptanmıştır (36).

G. Antimüllerian Hormon Düzeyi:

Müllerian İnhibitör Faktör olarak da bilinen AMH, dimerik bir proteindir. Transforming Growth Faktör-β ailesindendir. Ovaryan preantral ve küçük antral foliküllerden salınmaktadır (37,38).

AMH overyan yaşlanmanın iyi bir belirtecidir (39,40). Yaş ilerledikçe seviyesi azalmaktadır.

Erken foliküler faz hormon belirteçlerine oranla, ovaryen foliküler durum ve antral folikül sayısı, serum AMH seviyeleri ile daha korele seyreder (41). Siklusun herhangi bir gününde bakılan AMH overyan folikül havuzunun kapasitesini belirterek overyan rezerve için bir belirleyici olarak kullanılabilir (42). Gnoth ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada AMH için 1,26 ng/ml eşik değeri belirlenmiş; bu değerin üstünde, KOH'a normal yanıtı hastaları %98 oranında tespit ettiklerini savunulmuştur. 1,26 ng/ml 'nin altındaki değerlerin azalmış ovaryen rezervi yüksek oranda öngörebildiği ancak AFS ile doğrulanması gerektiği vurgulanmıştır (43).

H. Klomifen Sitrat Challenge Test (CCCT):

Siklusun endokrin dinamiklerini gösteren sensitif ve provakatif bir testtir.

Üçüncü gün FSH ve E2 ölçümü yapılır. Takiben 5 ve 9. günler arasında 100 mg/gün klomifen sitrat uygulanır. FSH ve E2 ölçümü 10. gün tekrarlanır ve 3. gündeki bazal seviyeler ile birlikte değerlendirilir. 10.günde FSH'nın bazal değere göre artmış olması olumsuz sonuç olarak değerlendirilir. 3. gün ve 10. gün FSH toplamının ≥ 26 olması halinde test pozitif kabul edilir.

I. GnRH Analogu Stimulasyon Testi (GAST):

GnRH agonistleri uygulamanın ilk 4–6 günleri arasında FSH ve LH artışına, buna bağlı olarak E2 artışına sebep olur. Bu durum “flare etki” olarak adlandırılır. Testte siklusun 2. veya 3. günü GnRH agonisti verilerek takiben E2 değişiklikleri değerlendirilmektedir. GAST sonrası dört farklı E2 paterni izlenebilir:

- Hızlı E2 yükselmesini takiben siklusun 4. günü azalma
- Gecikmiş E2 yükselmesini takiben siklusun 6. günü azalma
- Devamlı E2 yükselmesi
- GnRH analog kullanımından sonra E2 yükselişinin olmaması

Klinik gebelik oranları dört grupta anlamlı derecede farklı saptanmıştır (sırasıyla %46, %38, %16, %6) (2).

GAST testinin over rezervini belirlemek açısından diğer testlere üstünlüğü olmadığı saptanmıştır. Uygulamadaki zorluk ve pahalı olması nedeni ile pratik kullanımda yer bulamamaktadır.

J. Eksojen FSH ovaryen rezerv testi:

IVF programına alınacak olan olgular arasından iyi veya kötü yanıt verecek olanları belirlemek amacıyla yapılmaktadır. 300 IU FSH enjeksiyonu öncesinde ve sonrasında serum östradiol, FSH ve inhibin –B düzeyleri tespit edilir. Bir gün sonraki serum E2 düzeyindeki artış miktarına göre IVF siklusuna yanıt öngörülebilir (44).

K. Önceki Tedavilere Verilen Cevap:

Önceki sikluslarda yüksek doz gonadotropine ihtiyaç duyulması, az sayıda follikül ve oosit elde edilmesi ve KOH sırasında düşük serum E2 seviyeleri, azalmış over rezervini yansıtmaktadır. Standart stimülasyon protokolüne zayıf foliküler cevap nedeniyle siklus iptali olması, takip eden tedavi siklusunda FSH değerinden veya yaştan daha iyi bir belirteçtir (45).

2.5.YARDIMCI ÜREME TEKNİKLERİ

İlk embriyo transferi çalışmaları 1890'larda yapılan tavşan deneyleriyle başlamıştır. Embriyo transferi çalışmaları 1949'dan itibaren çiftlik hayvanlarında yapılmış, böylece hayvanların genetik potansiyellerini arttırmak amaçlanmıştır. İlk vitro fertilizasyon tavşanlarda yapılmıştır. 1944 yılında Boston'lu iki araştırmacı; John Rock ve Miriam Menkin'in ilk kez vücut dışında insan oositinin fertilizasyonunu duyurmalarından 32 yıl sonra, 1976 yılında ilk IVF gebeliği Edwards ve Steptoe tarafından gerçekleştirilen ektopik gebelik olmuştur. 1978 yılında aynı bilim adamlarının in vitro fertilizasyon sonrası ilk bebeği (Laoise Brown) bildirmeleri üreme tıbbında çığır açacak

yeni bir dönemin başlangıcı olmuştur. Yıllar içinde teknikler oldukça gelişmiştir. İntrastoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) yöntemiyle olan ilk bebeğin doğumu 1992 yılında Palermo tarafından gerçekleştirilmiştir.

YÜT'nin amacı; ovaryen hiperstimülasyon sendromu (OHSS) gelişmeksizin multifoliküler gelişim sağlamaktır. Embriyo seçiminde multifoliküler gelişim, kaliteli embriyo gelişim olasılığının artması bakımından son derece önemlidir.

IVF başlangıçta onarılamaz tubal hasar olan hastalar için planlanmıştır; ancak günümüzde infertilitenin hemen her nedeninde kullanılmaya başlanmıştır. Tubal tıkanıklığa sebep olan geçirilmiş bir PID veya ileri evre endometriozis ve erkek faktörü IVF'in en çok kullanıldığı endikasyonlardır. Bunların dışında ağır pelvik adezyon, ovarian yetmezlik (oosit donasyonu için), ovulatuar fonksiyon bozukluğu (polikistik over sendromu, hipogonadotropik hipogonadizm) olan hastalarda daha az invaziv tedaviler ile başarısız olunmuşsa, açıklanamayan infertilitesi olan hastalarda daha az invaziv tedaviler ile başarısız olunmuşsa, kanser veya başka bir medikal hastalık tanısı alıp hemen tedavi altına alınacak hastalar (kemoterapi veya radyoterapi) eğer fertiliteleri tehlike altına girecekse, IVF ile elde edilecek embriyoların kriyoprezervasyonu amacıyla, genetik hastalık riski olan hastaların çocuklarına preimplantasyon genetik tanı yapılabilmesi amacıyla IVF uygulanabilir.

IVF' de başarıyı belirleyen en önemli faktörlerden birisi uygun hasta seçimidir. Prognostik faktörler; maternal yaş, over rezervi ve önceki üreme performansıdır. Kadın yaşı tek başına en önemli prognostik faktördür. Otuzyediyi yaşından sonra gebelik oranlarında hızlı bir düşüş izlenmektedir. Embriyo transferi başına canlı doğum oranı 35 yaşında %41.1, 35-37 yaş arası %35.1, 38-40 yaş arası %25.4, 41-42 yaş arası %14.5, 43 yaş için % 5.9, 44 yaş ve sonrası için %2.9'dur (46).

Sigara içen hastalar sigarayı IVF öncesi kesmelidir çünkü sigara içimi başarı şansını düşürmektedir (47). Daha önce bir canlı doğumu olanlar nulliplarlara göre daha şanslıdır. Daha önce başarısız IVF siklusu olanlarda şans yine daha düşüktür. Hidrosalpinx kötü IVF sonuçları ile ilişkilidir,

içeriğindeki sıvı inflamatuvar özelliktedir ve embriyo ve endometriuma toksik etki göstererek veya mekanik olarak implantasyonu engellemektedir. Bu hastalarda IVF öncesi salpenjektomi yapılması başarı oranını artırır (48,49). Endometrial kaviteye bası yapan leiomyomlar çıkarılmalıdır (50).

2.5.1. Kontrollü Ovaryen Hiperstimulasyon:

KOH rejimlerindeki amaç; öncü folliküllerin eşik noktasını düşürmek, dominant follikül seçimini ortadan kaldırarak multifoliküler gelişim elde etmektir (51). Hiç uyarım yapmamaktan (doğal siklus), minimal uyarım yapmaya (CC) veya hafif uyarımdan (CC ve düşük doz ekzojen gonadotropin ile ardışık tedavi), agresif uyarıma (GnRH agonisti ile beraber gonadotropin kullanımı, GnRH antagonist protokolleri) kadar birçok seçenek mevcuttur. Bu rejimlerin seçiminde hastanın yaşı, daha önceki tedaviye yanıtı ve over rezervi önemli rol oynar.

Uzun Etkili GnRH Agonistleri ile Yapılan Down Regülasyon Sonrasında Ekzojen Gonadotropin Uyarımı- Long Protokoller:

GnRH agonistleri; doğal GnRH'ya göre daha uzun yarılanma ömrüne ve daha yüksek reseptör affinitesine sahip küçük polipeptid moleküllerdir. GnRH analogları ilk üretildiğinde anovulasyon tedavisi hedeflenmiş, ancak yapılan hayvan deneylerinde GnRH agonistlerinin reproduktif fonksiyonu engellediği ortaya konmuştur (52).

GnRH agonistleri uygulandığında hipofiz bezinde hızlı bir şekilde desensitizasyon geliştiği ve uzun süreli non-pulsatil uygulama sonucunda serum gonadotropin seviyelerinde azalma, ovarian steroidogenezin ve folliküler gelişimin durakladığı tespit edilmiştir. Metastatik prostat kanseri, meme kanseri, santral puberte prekoks, endometriozis, uterin fibroidler, hirsutizm gibi durumlarda kullanılmaktadır. YÜT'de ise ilk defa 1984 yılında kullanılmıştır. Daha çok ciltaltı olmak üzere intranazal sprey olarak kullanılabilir. Depo formları mevcuttur. Depo formunun intramusküler

enjeksiyonu 28–35 gün boyunca terapötik düzey sağlar. GnRH agonistleri; leuprolide, buserelin, goserelin, histrelin, nafarelin, deslolarin ve triptorelin'dir. Klinik kullanımda olan yedi GnRH agonist analoglarından histrelin, goserelin ve deslolarin dışındakiler YÜT'de kullanılmaktadır. Bu ilaçlar ilk uygulandığında gonadotropin sekresyonunu arttırmakta (flare up etki), 7–14 gün sonrasında ise hipofizer baskılanma başlamaktadır.

GnRH agonist kullanım avantajları:

- Gonadotropin başlama ve HCG uygulama zamanı için esneklik sağlar.
- Folliküler senkronizasyon sağlar.
- Endojen LH artışını önleyerek buna bağlı siklus iptallerini azaltır.
- Toplanan oosit sayısında ve gebelik hızında artış sağlar.

GnRH agonist kullanım dezavantajları:

- E₂ eksikliğine bağlı sıcak basması, ara kanamalar, libido azalması gibi semptomlar gelişir.
- Tedavi sürecinde gonadotropin ihtiyacı artar.
- OHSS insidansı artar.
- Stimulasyon süresi uzar.
- Tedavi maliyeti artar.

Leuprolide asetat için baskılama dozu 1 mg, idame dozu ise 0,5 mg' dır. Triptorelin için başlangıç dozu 0,1 mg' dır, hipofizer baskılanmayı takiben doz 0,05 mg' a düşürülür ve HCG gününe kadar bu dozda devam edilir. Leuprolide asetat ve triptorelin ciltaltı enjeksiyon şeklinde uygulanır. Buserelin ve nafarelin daha çok intranasal kullanılır. Tek sefer uygulanan GnRH agonisti tedavisi (leuprolide, goserelin) kolaylık sağlar ancak kullanılan gonadotropin dozu ve süresi depo form kullanılan vakalarda daha fazladır (53).

Sıradan bir siklusta GnRH agonist tedavisi midluteal aşamada, yani düzenli menstrüasyon periodları olan bir hastada, ovulasyondan bir hafta sonra; 21.gün başlanır. Long GnRH agonist protokolü uygulanan hastalarda hipofizer baskılanmayı saptamak için E₂ düzeyi (<40 pg/ml), endometrial

kalınlık bakılır. E2 düzeyi 40 pg/ml'nin, endometrial kalınlık 4 mm'nin altındaysa hipofizer baskılanma sađlanmıřtır. Menstruel kanamanın bařlaması da dűřűk E2 ve FSH düzeylerini gűstererek hipofizer baskılanmayı iřaret eder. Renkli akım doppler velositometri ile ovaryen arter rezistans indeksinin ۆlűűmű de hipofizer baskılanma tanısı iűin kullanılabilir (54).

Long protokolde hipofizer baskılanma sađlandıktan sonra analog dozu yarıya dűřűlerek gonadotropin tedavisine bařlanır. GnRH analoglarıyla yapılan long protokoller dıřında, kısa, flare-up protokoller de mevcuttur.

GnRH agonistleri endojen hipofizer gonadotropin stimulasyonunu baskılar, erken LH salınımını engeller. Janssens ve arkadaşlarının yaptığı bir űalıřmada plasebo grupta %23 erken LH salınımı saptanırken, GnRH agonisti verilen grupta hiű erken LH salınımı olmamıştır (55). Toplanan oosit sayısı ve elde edilen gebelik oranı tek başına gonadotropin verilen siklulara gűre daha yűksek bulunmuştur (56). Tek başına ekzojen gonadotropin verilmesine gűre belirgin dezavantajı; GnRH agonist tedavisi sırasında bir sonraki gonadotropin tedavisine karşı bir duyarsızlığa sebep olup, ihtiyaű duyulacak toplam gonadotropin dozunu ve dolayısıyla maliyeti artırabilme olasılığıdır.

Bir ۆnceki siklusun midluteal dűneminde bir GnRH agonisti ile hipotalamo-hipofizer-ovarian aksın baskılanmasını takiben idame doza geűilir ve gonadotropin uyarısı bařlatılır. Tedavi erken folikűler fazda da bařlayabilir, ancak hipofizer baskılanma iűin ihtiyaű duyulan sűre daha uzun olur (57).

Ovulasyon indűksiyonu iűin kullanılan gonadotropinler űű űeřittir: űriner, saflařtırılmıř űriner, rekombinant

-Human Menapozal Gonadotropin (HMG, Menotropin): Postmenopozal kadınların idrarından elde edilir. Bir ampulde 75 IU FSH ve 75 IU LH iűerir, kas iűine enjekte edilir. HMG preparatları 5 farklı FSH izohormonu ve 9 farklı LH izohormonu iűerebilir. Farklı kutulardaki HMG preparatları farklı hasta cevaplarına sebep olabilir.

-Saflaştırılmış Üriner FSH (Pürifiye FSH, uFSH): İmmünafinite kromotografi yöntemi ile idrardaki LH' nın uzaklaştırılması ile elde edilir. Bir ampul içinde 75 IU FSH, 1 IU' den az LH içerir, kas içine enjekte edilir.

-Yüksek Oranda Saflaştırılmış FSH (FSH-HP): 75 IU FSH ve 0,001 IU'den daha az LH içermektedir. LH aktivitesini sağlayan, preparata eklenen HCG' dir. Üriner protein içerikleri de çok az olduğundan cilt altına uygulanabilir.

-Rekombinant FSH (r-FSH): Çin hamster over hücre dizilerine α ve β FSH salgılanımını kodlayan genler yerleştirilerek FSH sentezlenmesi ve glikolize olmuş biyoaktif dimerik FSH salgılanımı sağlanır. Sonrasında immüncromotografi ile anti-FSH monoklonal antikolar kullanılarak saflaştırılır. Rekombinant FSH preparatları daha kısa yarılanma ömrüne sahip daha az asidik olan FSH içerirler ama östrojen sekresyonunu aynı veya daha güçlü şekilde uyarırlar (58). Rekombinant gonadotropinlerin avantajı daha az üriner protein içermeleri, daha tutarlı yapıları olmaları ve biyolojik aktivitelerinin kişiden kişiye çok daha az değişiklik göstermesidir.

-Rekombinant LH (r-LH): Aynı r-FSH' da olduğu gibi benzer teknolojiyle ve Çin hamsteri over hücreleri kullanılarak elde edilir. Bir ampulde 75 IU LH içerir ve cilt altına uygulanır. Hipogonadotropik hipogonadizmli hastalarda (DSÖ grup I) ovulasyon indüksiyonu veya kontrollü ovarian hiperstimulasyon sikluslarında ovulasyonu tetiklemek amacıyla kullanılmaktadır.

-Human Koryonik Gonadotropin (HCG): HCG molekül ağırlığı 30 kDa olan LH ile aynı α subüniteye ve aynı fonksiyona sahip glikoprotein yapıda bir hormondur. İdrardan elde edilen HCG ovulasyonu tetiklemek için kullanılır. Bir ampulde 5000 IU HCG vardır ve intramusküler uygulanır. HCG uygulanması ile granuloza hücrelerinin luteinizasyonu, estradiol sentezinden progesteron sentezine dönüş, oosit maturasyonu ve 36–40 saat sonra folliküler rüptür gerçekleşir. HCG' nin plazmadan temizlenme hızının LH'dan daha yavaş olması corpus luteumdan daha fazla östrojen, progesteron salınımına neden olarak OHSS riskini artırır, dolaşımdaki fazla östrojen implantasyon başarısızlığına neden olabilir, erken gebelik kaybı oranını

artırabilir. Dolaşımdaki HCG erken gebeliğin saptanmasında yanlışlığa sebep olabilir.

-Rekombinant Human Koryonik Gonadotropin (r-HCG): r-HCG diğer gonadotropinler ile aynı rekombinant teknolojisini kullanılarak elde edilir. 250 mcg r-HCG 6500 IU üriner HCG'ye eşdeğerdir. Subkutan uygulanabilir. Enjeksiyon sonrası lokal reaksiyon üriner preparata göre daha az görülür.

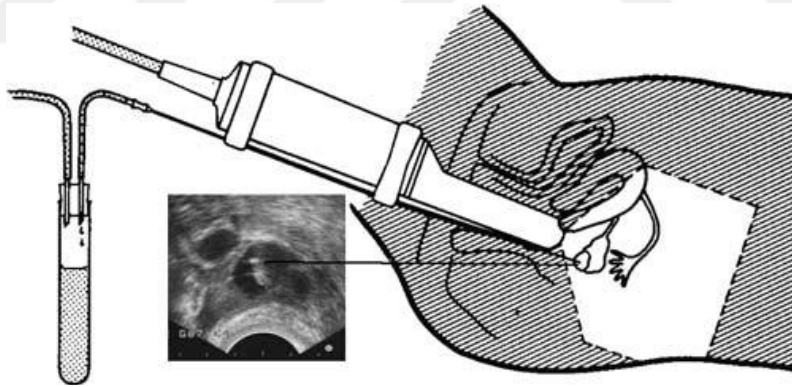
Gonadotropin preparatlarının (uFSH, rFSH, hMG)) etkilerini araştıran metaanalizlerde; herhangi bir preparatın diğerine karşı bir üstünlüğü olmadığı ve bu konuda bir fikir birliği olmadığı tespit edilmiştir (58).

Bireysel olarak ayarlanan gonadotropin tedavisinde tipik başlama dozu 150-225 IU uFSH, rFSH veya HMG kadardır. Gonadotropin başlangıç dozunu belirlemede kadının yaşı, bazal antral folikül sayısı, bazal FSH, E2, inhibin B değerleri, vücut kitle indeksi (VKİ), geçirilmiş ovaryen cerrahi, overde yer işgal eden kitle varlığı (endometrioma, kist), önceki ovulasyon indüksiyonu veya KOH cevabı önemli faktörlerdir (59). Bazal ultrasonografide kisti saptanan hastalarda kullanılan toplam gonadotropin dozu ve siklus iptal oranları daha fazladır (60). Dozun yeterli olup olmadığını anlamak için 3-5 gün sonra yapılan E2 ölçümü ve follikülometri yapılır. Hastanın verdiği cevaba göre 1-3 gün aralar ile monitorizasyona devam edilir. Çoğu kadın 7-12 günlük bir uyarı dönemi gerektirir. Amaç; en az 2 tane 17-18 mm çapında follikül elde etmektir. Serum estradiol konsantrasyonu ölçüme ve tüm kohortun olgunluğuna göre değişir (14 mm veya daha büyük follikül başına 200 pg/ml). Hedeflenen cevap ortaya çıktıktan sonra folliküler maturasyonun tetiklenmesi için 5000-10000 IU HCG veya 250 mcg rHCG verilir.

2.5.2. Oosit Pick Up

Oosit toplanması HCG enjeksiyonundan 36 saat sonra sedasyon ile transvaginal sonografi eşliğinde yapılmaktadır. Kısa etkili narkotikler (fentanil) ve benzodiazepin (midazolam) ile yeterli sedasyon sağlanmaktadır. Profilaktik antibiyotik tedavisi (doksisisiklin 100 mg, sefoksitin 2 gr) işlemden 30-60 dk önce yapılabilir, ancak işlem sonrası pelvik enfeksiyon riski düşük

olduğu için, işlem sonrası başlamak üzere oral antibiyotikler de (tetrasiklin, doksisisiklin) kullanılabilir. Antiseptiklerin (povidon iyodür) oositler üzerine toksik etkisi vardır bu nedenle, vagen steril salin ile birkaç kez yıkanarak hazırlanır. Mesane kalıcı olmayan bir kateter ile boşaltılır. Plastik steril bir kılıf içerisindeki transvaginal prob (5–7 MHz) ve beraberinde tutturulmuş aspirasyon iğnesi overleri görmek ve follikülleri en büyük çapından aspire etmek için kullanılır. 26-27 Gauge' lik iğneler her folliküle kesin olarak girer ve folliküler sıvıyı ve oositleri aspire eder. Oosit toplanması sırasında gelişebilecek komplikasyonlar nadir olmakla birlikte şunlardır; overden akut kanama, uterin, ovarian ve iliak damarlardan olan hematomlar, postoperatif pelvik enfeksiyon, dermoid kist rüptürü, sakral ven laserasyonu, lumbosakral osteomyelittir. İğne yerinden vaginal kanama nispeten sıktır (%8), nadiren sütür atmak ihtiyacı doğabilmektedir.



Şekil: 2. Oosit pick Up (61)

2.5.3. Fertilizasyon:

Konvansiyonel mikroiinseminasyon (IVF) veya ICSI ile fertilizasyon sağlanabilir. Spermeleri hazırlamak için yüzme ve yoğunluk gradienti santrifugasyon yöntemleri kullanılır. Ayrılan spermeler kapasitasyon amacıyla yüksek oranda protein içeren mediumda 0,5-4 saat inkubasyona bırakılır.

Klasik IVF' de her oosit 50000–100000 hareketli sperm ile beraber 37°C, %5'lik karbondioksitli ve %98'lik nemli ortamda 12-128 saat bekletilir. Akrozom reaksiyonu ile ilk penetre olan sperm zona pellisudayı geçebilir. Sperm penetrasyonu ile oluşan kortikal reaksiyon sonucu diğer spermlerin içeriye girişi engellenir. Konvansiyonel IVF tekniği %50–70 fertilizasyon oranına sahiptir. Oositler fertilizasyon varlığı açısından inseminasyondan yaklaşık 18 saat sonra gözlenir. Fertilizasyon aşaması yaklaşık 24 saat gerektirir ve ilk mitotik bölünme ile birlikte sona erer.

Günümüzde konvansiyonel IVF yerini, neredeyse her hastaya uygulanan ICSI yöntemine bırakmıştır. ICSI' de spermin zona pellusidayı geçme ihtiyacı ortadan kalkmıştır. Bir enjeksiyon pipeti ile seçilmiş tek bir spermin kuyruğuna basılarak hareket etmemesi sağlanır ve daha sonra pipet içine çekilir. Polar cisimcikleri saat 6 ve 12'ye gelecek şekilde sabitlenir ve saat 3 hizasından oosite girilir. ICSI'de akrozom reaksiyonu oluşmasına gerek yoktur. Erkek faktörü yokluğunda ICSI ve IVF'in fertilizasyon oranlarını benzerdir.

ICSI endikasyonları (62):

ICSI için ilk endikasyon erkek faktörü infertilitesidir.

- Erkek faktörü: şiddetli oligospermi (5milyon/ml' den az), astenospermi (%5' den az ileri hareketlilik), teratospermi (Kruger kriterlerine göre %4' den az) halinde uygulanmaktadır.
- Cerrahi yöntemlerle sperm elde edilmesi halinde uygulanmaktadır.
- Preimplantasyon genetik tanı planlanması (konvansiyonel inseminasyonda polimeraz zincir reaksiyonu sonucunu etkileyebilecek şekilde zonaya fazladan sperm tutunmuş olabilir) durumunda uygulanmaktadır.
- Daha önce IVF başarısızlığı veya fertilizasyon sağlanmayan durumlarda tercih edilmektedir.

2.5.4. Embriyo Transferi:

Embriyolar zigottan blastokiste kadar herhangi bir aşamada transfer edilebilmekte ancak en çok OPU ve fertilizasyondan sonraki üçüncü gün tercih edilmektedir. Hücre sayısı, simetri, blastomerlerin şekli, perivitellin aralığındaki sitoplazmik fragmentasyonun büyüklüğü ve klivaj varlığı embriyo kalitesini belirlemede kullanılır. İdeal üçüncü gün (D3) klivaj embriyosu eşit boyutlarda, 6–8 hücreye sahiptir ve hiç sitoplazmik fragmentasyonu yoktur. Daha az kalitedeki embriyolar daha az hücre içerirler ve blastomerleri eşit çapta olmayıp değişik derecelerde fragmentasyon içerebilirler. Blastokist transferi ilk kez 1995 yılında rapor edilmiştir (63). 1998 yılında stage spesifik mediaların tanımlanmasıyla 5. gün yapılan blastokist transferlerinde implantasyon oranlarında anlamlı artış saptanmıştır (64). Bu artış; embriyo transferinden sonra %80-90' lara varan implantasyon yetersizliğine neden olan kromozom anomalilerinin 5. gün blastokist transferlerinde daha az olmasına bağlanmaktadır.

Embriyo transferinde amaç olabildiğince atravmatik ve çabuk olarak embriyoları uterusu yerleştirmektir. Mümkün ise mukus, kan ve uterin kontraksiyonlardan kaçınılmalıdır. Servikal kanaldaki mukus katater ucunu tıkayabilir ve uygunsuz yerleşime, embriyo retansiyonuna yol açabilir. Ultrasonografi eşliğinde düşük hacimlerde transfer medyum ve yumuşak kateter ile yapılan transferler en iyi sonuçları da beraberinde getirmektedir (65).

İlk olarak 1983 yılında dondurulmuş embriyoların çözülmesi ve transferine dayanan embriyo kriyoprezervasyonu ile sağlanan başarı oosit toplama başına toplam gebelik oranını arttırmaktadır. Donma-çözme sonrası embriyo transferinde başarı oranları; taze sikluslarda iyi kalitede embriyolar seçilmesinden dolayı bu siklusların yaklaşık yarısıyla üçte ikisi kadardır. Bu şekilde yapılan transferler özellikle OHSS açısından risk altındaki kadınlarda etkin bir strateji olarak görülmektedir (66).

2.5.5. Oosit Kalitesi:

Oositin foliküler ve tubal yaşamı boyunca maturasyonu ve kalitesi oldukça önemlidir. Oositin kalitesini değerlendirmede dört önemli görünüm vardır:

- ✓ Nükleer evre
- ✓ Sitoplazmik karakteristikler
- ✓ Korona radiata görünümü
- ✓ Kumulus hücrelerinin dağılımı

Faz kontrast mikroskop altında oosit maturasyonu aşağıdaki kriterlere göre değerlendirilmelidir:

- ✓ Matur (MII, Metafaz II): Birinci polar body'nin mevcudiyeti ve kumulus hücrelerinin ışınsal tarzda dağılımı gözlenir. Fertilizasyon potansiyeli en yüksek olan gruptur.
- ✓ Intermediate 1: Birinci polar body yok ve kumulus hücrelerinin ışınsal tarzda dağılımı mevcut
- ✓ Intermediate 2: Birinci polar body yok ve kumulus hücreleri oldukça kompakt
- ✓ İmmatür: Germinal vezikülün mevcudiyeti
- ✓ Atrezi: Ciddi anormal morfoloji veya ooplazma-free oosit

Ayrıca oosit kalitesini üç grup altında sınıflayabiliriz:

- ✓ İyi kaliteli oositler: normal morfolojili ve parlak renkli
- ✓ Orta derecede kaliteli oositler: normal morfolojili ve koyu renkli
- ✓ Kötü kalitede oositler: anormal morfolojili ve koyu renkli (67)

Fertilizasyon, klivaj ve iyi bir gebelik başarısı için iyi oosit kalitesi şarttır. Fertilizasyon ancak MII olgunluğundaki bir oosit ile mümkündür. Fertilizasyon potansiyeli en yüksek MII oositler olduğu halde MI oositlerin de bir süre in vitro kültürden sonra MII oosit haline gelebilmeleri fertilizasyon potansiyelleri olduğunu göstermektedir.

IVF veya ICSI işleminden 12-18 saat sonra döllenme kontrolü yapılır. Sperm veya oositin nükleusuna pronükleus denir. Döllenme, tek bir sperm pronükleusunun oositin gelen pronükleus ile aktive olmuş oosit sitoplazması içinde birleşmesi olarak özetlenebilir. Normal fertilizasyonda 2 pronükleus ve birinci ve ikinci kutup cisimciği gözlenir. PN oluşumu sırasında meydana gelen sayısal hatalar ya da asenkronizasyonun, embriyonun kromozal yapısı ve anoploidi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.



MATERYAL – METOD:

Hastanemiz Eğitim ve Planlama Kurulu tarafından değerlendirilerek 24 Kasım 2008 tarihinde onaylanan çalışmamız; Temmuz 2009 - Ocak 2010 tarihleri arasında T.C.S.B. Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi IVF kliniğinde yapıldı. Çalışmaya kontrollü ovaryen hiperstimülasyon (KOH) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) işlemi uygulanan 78 infertil çift dahil edildi.

Çalışmaya 20-40 yaş arası; erkek faktörü, açıklanamayan infertilite ve tubal faktör nedeniyle infertilitesi olan GnRH agonisti ile long luteal protokol kullanılarak KOH uygulanan hastalar dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen hastalara KOH için rekombinant FSH içeren ilaçlar verildi.

Çalışmadan dışlanma kriterleri aşağıdaki gibi belirlendi:

1. Kötü over yanıtı olan hastalar; baskılanma öncesi FSH düzeyi 12 IU/L ve üzerinde olan, östradiol düzeyi 60 pg/ml üzerinde olan ve antral folikül sayısı her iki overde toplamda 6 ve altında olan hastalar.
2. Hipofiz baskılanması gününde yapılan ultrasonografide 10 mm ve üzerinde folikül kisti olan hastalar
3. Sürekli ilaç kullanımını gerektiren sistemik hastalığı olan hastalar
4. Mevcut tedavi öncesi 3 ay boyunca herhangi bir hormon tedavisi alanlar
5. Geçirilmiş over cerrahisi olan hastalar
6. Bazal serum prolaktin, fT3, fT4 ve TSH düzeyleri anormal olan, polikistik over sendromu, hipofiz yetmezliği gibi endokrinolojik hastalığı olan hastalar
7. Long luteal protokol dışında protokol kullanan hastalar ve rekombinan FSH dışında ilaç kullanan hastalar
8. Oosit toplama işlemi ve embriyo transferi yapılamayan olgular
9. Yetersiz verisi olan hastalar veya tedaviye yanıtız olan hastalar

10.USG’de PCOS görünümü olan hastalar (tek overde 10 ve üzerinde 2-10 mm folikülü olan hastalar)

Çalışmaya dahil edilen tüm olguların yaş, VKİ, menstruel düzen, obstetrik ve jinekolojik özgeçmişleri kayıt edildi. Sekonder seks karakterlerinin değerlendirilmesi ve rutin pelvik muayeneyi takiben menstruel siklusun 2-3. günü TSH, fT3, fT4, FSH, LH, E₂, P, Prolaktin düzeyleri ölçüldü; TVUSG ile uterus boyutları, endometrial kalınlık, over boyutları, antral follikül sayısı değerlendirildi. Bunun için Shimadzu SDU-450 XL marka ultrasonografi cihazı ve 8 MHz’lik vaginal prob kullanıldı.

Çalışmaya dahil edilen tüm hastalara, tedavi protokolü olarak GnRH agonisti kullanıldı. Oluşan hipofiz baskılanması ardından, KOH için rekombinan FSH kullanıldı. Hipofiz baskılanmasından önceki siklusun midluteal döneminde (adetin 21. gününde) GnRH agonisti (Lucrin® daily, Leuprolide asetat 0,5 mg; Abbott) subkutan (sc) başlandı. Hipofiz baskılanması sağlandığında (uterin kanama başladığında ve serum E₂ seviyeleri 50 pg/ml altına indiğinde) agonist dozu yarıya düşülerek rekombinant FSH (rFSH) 150–225 IU/gün sc başlandı. Baskılanma gününde FSH, LH ve E₂ belirlendi. Bu dönemde hastalara antral folikül sayılarının belirlenmesi için transvajinal ultrason (TV-USG) yapıldı. Ovulasyon indüksiyonu rFSH (Gonal-F®, Folitropin beta, Sereno Merck; Puregon®, Folitropin beta, Merck Sharp) ile yapıldı ve doz ayarlaması seri USG ve E₂ ile düzenlendi. Yarı doz GnRH agonisti verilmeye insan koryonik gonodotropini (HCG) gününe dek devam edildi. 3 adet folikül büyüklüğü 17 mm olduğunda HCG (Ovitrelle®, koriogonadotropin alfa, Serono) 250 µg dozunda, subkutan uygulandı. Oosit toplanma işlemi HCG uygulanmasından 34-36 saat sonra intravenöz sedasyon altında TV-USG eşliğinde yapıldı. Sperm hazırlanması gradient yöntemiyle yapıldı. ICSI standart prosedürü uygulanarak elde edilen tercihen grade 1, iyi kalitede embriyoların 1–3 adeti, oosit toplanmasından 3–5 gün sonra transabdominal ultrasonografi rehberliğinde uterin kaviteye transfer edildi.

Tedaviye alınan hastaların bazal antral folikül sayımı aynı siklus içinde yapılmış ve bazal FSH ve E₂ seviyeleri belirlenmiştir.

Tüm hastalara OPU gününde başlanarak luteal faz desteği %8'lik 90 mg Crinone vaginal jel 2x1 uygulanarak sağlandı. Gebe kalan olgularda vaginal progesteron desteğine 12. gestasyonel haftaya kadar devam edildi.

Tedavi sonuçlarını değerlendirmek için serum β HCG ölçümü transferin 12. günü yapıldı. İlk sonucu pozitif olan olgular 2 gün sonra konfirmasyon için tekrar çağrıldı. β HCG'den 2–3 hafta sonra ultrasonografi ile görülebilen fetal kalp atımı varlığı klinik gebelik olarak tanımlandı.

Bazal antral folikül sayımı aynı kişiler tarafından erken foliküller fazda 2-10 mm arası foliküller dikkate alınarak yapıldı. Her iki overdeki foliküller toplanarak total antral folikül sayısı belirlendi. Baskılanma antral folikül sayısı ise hipofizer baskılanma gününde 2-10 mm arası foliküller sayılarak ve her iki overdeki folikül sayısı toplanarak belirlendi. Bazal FSH, LH ve E₂ seviyeleri ve baskılanma günü FSH, LH ve E₂ seviyeleri belirlendi.

Tüm hastaların stimülasyon süresince harcanan gonadotropin miktarları toplandı, stimülasyon süresi, toplanan oosit sayıları, matür oosit sayıları incelendi. Oosit kalite indeksi değerleri, 2PN sayısı, 2.gün, 3.gün ve 5.gün embriyo skorları hesaplandı. Stimülasyonun 4. günündeki E₂ seviyeleri ve HCG günü E₂ seviyeleri ticari kitlerle bakıldı. Hipofizer baskılama günü ölçülen FSH ve LH değerleri oranlanarak yaş, bazal FSH, bazal LH, AFS, harcanan gonadotropin miktarı, stimülasyon süresi, toplanan oosit sayısı, matür oosit sayısı, oosit kalite indeksi, 2.gün, 3.gün ve 5.gün embriyo skorları, stimülasyonun 4. günündeki E₂ seviyeleri ve HCG günü E₂ seviyeleri, gebelik oranları arasındaki ilişki incelendi.

Bazal AFS, b AFS, bazal FSH, bFSH arasındaki korelasyonun belirlenmesindeki sonuç değişkenleri; harcanan gonadotropin miktarı,

stimölasyon süresi, toplanan oosit sayısı, matür oosit sayısı, oosit kalite indeksi, 2.gün, 3.gün ve 5.gün embriyo skorları, stimölasyonun 4. günündeki E₂ seviyeleri ve HCG günü E₂ seviyeleri ve gebelik oranlarıdır.

İstatiksel Analiz :

İstatiksel analiz, Sosyal Bilimler için istatistik paketi 11.0 (SPSS 11 Windows Chicago) kullanılarak yapıldı. İstatiksel farklar Pearson korelasyon analiz testleri, örneklem iki T testi kullanılarak hesaplandı. $P < 0,05$ olması durumunda anlamlı farklılığın olduğu, $p > 0,05$ olması durumunda ise anlamlı farklılığın olmadığı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan ve KOH uygulanan 78 olgudan elde edilen veriler incelendi. Çalışmaya dahil edilen olgular için ortalama yaş 27.38 ± 3.83 , vücut kitle indeksi (VKİ) $25.02 \pm 4.36 \text{ kg/m}^2$, infertilite süresi 71.92 ± 51.79 ay, bazal FSH değerleri $5.8 \pm 1.4 \text{ mIU/ml}$, bazal E2 değerleri $45.33 \pm 27.7 \text{ pg/ml}$, bazal LH $5.6 \pm 2.5 \text{ mIU/ml}$, total AFS 13.87 ± 3.67 olarak hesaplandı. (Tablo 2)

Tablo 2 : Hastaların Demografik Özellikleri

Değişken	Ortalama
Yaş (yıl) ortalama $\pm$ SD	27.38 ± 3.83
İnfertilite Süresi (ay) ortalama $\pm$ SD	71.92 ± 51.79
Bazal AFS ortalama $\pm$ SD	13.87 ± 3.67
Vücut Kitle İndeksi ortalama $\pm$ SD	25.02 ± 4.36
Bazal FSH (mIU/ml) ortalama $\pm$ SD	5.8 ± 1.4
Bazal E2 (pg/ml) ortalama $\pm$ SD	45.33 ± 27.7
Bazal LH (mIU/ml) ortalama $\pm$ SD	5.6 ± 2.5

AFS: Antral Folikül Sayısı

GnRH analogu ile baskılanma gerçekleştirildikten sonra bakılan ortalama AFS (bAFS) 10.7 ± 3.9 , ortalama baskılanmış FSH (bFSH) $3.7 \pm 1.87 \text{ mIU/ml}$ olarak bulundu. Ovulasyon indüksiyonu süresi 9.04 ± 1.04 gün olarak hesaplanırken; kullanılan gonodotropin miktarı ortalama $1837.5 \pm 462.8 \text{ IU}$ olarak bulundu. Tüm hastaların baskılanma günü, stimülasyonun 4. Günü ve HCG günü ortalama E₂ seviyeleri sırasıyla; $17.2 \pm 14.6 \text{ pg/ml}$, $419.6 \pm 376.73 \text{ pg/ml}$, $2504.02 \pm 1265.9 \text{ pg/ml}$ ve ortalama klinik gebelik oranları %37.1 olarak hesaplandı (Tablo 3).

Tablo 3: IVF stimulasyon parametreleri ve gebelik oranları

Değişken	Ortalama
bAFS ortalama $\pm$ SD	10.7 $\pm$ 3.9
bFSH (mIU/ml) ortalama $\pm$ SD	3.7 $\pm$ 1.87
bE ₂ (pg/ml) ortalama $\pm$ SD	17.2 $\pm$ 14.6
Ovulasyon İndüksiyonu Süresi (gün) ortalama $\pm$ SD	9.04 $\pm$ 1.04
Kullanılan Gonodotropin Miktarı (IU) ortalama $\pm$ SD	1837.5 $\pm$ 462.8
4. gün E ₂ seviyesi (pg/ml) ortalama $\pm$ SD	419.6 $\pm$ 376.73
HCG günü E ₂ seviyesi (pg/ml) ortalama $\pm$ SD	2504.02 $\pm$ 1265.90
Klinik Gebelik Oranı	%37.1

bAFS: Hipofizer baskılanma sonrası antral folikül sayısı

bFSH: Hipofizer baskılanma sonrası FSH düzeyi

bE₂ : Hipofizer baskılanma sonrası E₂ düzeyi

HCG uygulandıktan 36 saat sonra ultrasonografi eşliğinde yapılan folikül aspirasyonu sonrası toplanan oosit sayısı ortalama 15.5 $\pm$ 7.2, matür oosit sayısı ortalama 11.88 $\pm$ 6.07 olarak bulundu. Oosit kalite indeksi >5 olan oosit sayısı %78.7 olarak hesaplanırken; 2., 3., 5. gün embriyo skorları sırasıyla 4.35 $\pm$ 0.60, 4.12 $\pm$ 0.65, 3.76 $\pm$ 0.69 olarak bulundu. Ortalama 2 PN sayısı 6.5 $\pm$ 4.2 olarak hesaplandı (Tablo 4).

Tablo 4: Embriyolojik data sonuçları

Değişken	Ortalama
Toplanan Oosit Sayısı	15.5±7.2
Matür Oosit Sayısı	11.88±6.07
OKİ>5 olan oosit Oranı	%78.7
2.gün embriyo skoru	4.35±0.60
3.gün embriyo skoru	4.12±0.65
5.gün embriyo skoru	3.76±0.69
2PN sayısı	6.5±4.2

OKİ: Oosit kalite indeksi
TOS:Toplanan Oosit Sayısı
MOS: Matür Oosit Sayısı
2PN: 2 pronükleus

Bazal antral folikül sayısı ve hipofizer baskılanma sonrası bakılan antral folikül sayısı ile hastaların yaşı ve hormonal değişkenleri arasındaki ilişki bivaryant korelasyon analizi ile hesaplandı. Kadın yaşı ile bazal AFS ve bAFS arasında negatif korelasyon saptandı. Kadın yaşı arttıkça AFS sayısının azaldığı görüldü. Bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi [(r = -0,04; p = 0,71); (r = -0,11; p = 0,30)]. Bazal AFS ve bAFS ile FSH ve baskılanma sonrası FSH düzeyleri, 4. gün ve HCG günü E₂ ilişkisi istatistiksel anlamlı bulunamadı (p ≥0.05) (Tablo 5).

Tablo 5: Hormonal değişkenlerin ve hastanın yaşının, AFS ve bAFS ile bivaryant korelasyon analizi.

	Kadın Yaşı		FSH		bFSH		4.gün E ₂		HCG gün E ₂	
	R	P	r	P	r	p	r	p	R	p
AFS	-0.04	0.07	0.03	0.74	0.18	0.11	0.14	0.23	0.16	0.09
bAFS	-0.11	0.08	0.4	0.72	0.04	0.71	-0.23	0.05	0.44	0.08

AFS: Bazal antral folikül sayısı
bAFS: Hipofizer baskılanma antral folikül sayısı

Bazal, hipofizer baskılanma sonrası bakılan AFS, FSH ve FSH/LH oranları ile KOH süresi, kullanılan toplam gonadotropin miktarı, matür oosit sayısı, toplam oosit sayısı ve oosit kalite indeksi arasındaki ilişki bivaryant korelasyon analizi ile hesaplandı. Bazal FSH ile KOH süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptandı ($r = 0.22$; $p = 0.04$). Bazal FSH arttıkça KOH süresinin uzadığı gözlemlendi. Kullanılan toplam gonadotropin miktarı ile bazal AFS arasında negatif korelasyon saptandı. Bazal AFS arttıkça kullanılan gonadotropin miktarının azaldığı gözlemlendi. Bu ilişki istatistiksel olarak anlamlıydı ($r = -0.30$; $p = 0.007$). TOS, MOS, OKİ ile bazal AFS, bazal FSH, bazal FSH/LH, bAFS, bFSH, bFSH/LH değerleri arasında istatistiksel anlamlı korelasyon saptanmadı ($p \geq 0.05$) (Tablo 6).

Tablo 6: Toplanan matür oosit sayısı, oosit kalite indeksi, toplam gonadotropin miktarı, KOH süresi ve toplam oosit sayısının AFS, bAFS, FSH, bFSH, FSH/LH, bFSH/LH ile bivaryant korelasyon analizi

	KOH süresi		Toplam gonadotropin Miktarı		MOS		OKİ		TOS	
	R	p	r	P	r	p	r	p	R	p
AFS	-0.16	0.14	-0.30	0.007	-0.08	0.94	0.04	0.70	0.04	0.97
bAFS	-0.74	0.52	-0.22	0.05	-0.06	0.56	-0.11	0.35	-0.01	0.91
FSH	0.22	0.04	0.08	0.44	0.16	0.14	0.11	0.32	0.05	0.62
bFSH	-0.01	0.86	-0.10	0.36	-0.06	0.59	0.03	0.80	-0.17	0.13
FSH/LH	-0.05	0.48	0.19	0.02	-0.02	0.41	-0.17	0.05	-0.04	0.33
bFSH/LH	0.02	0.83	0.09	0.41	0.01	0.92	-0.01	0.93	0.02	0.84

AFS: Bazal antral folikül sayısı

bAFS: Hipofizer baskılanma antral folikül sayısı

KOH: Kontrollü ovaryen hiperstimülasyon

OKİ: Oosit kalite indeksi

TOS: Toplam oosit Sayısı

MOS: Matür oosit sayısı

Bazal AFS, bAFS, bazal FSH, bFSH, bazal FSH/LH, bFSH/LH ile 2PN sayısı ve 2., 3., 5. gün embriyo skorları arasında bivaryant korelasyon

analizi yapıldı. Bazal FSH ile 2 PN arasında negatif korelasyon saptandı. Bazal FSH arttıkça 2PN sayısının azaldığı gözlemlendi. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($r = -0.27$; $p = 0.01$). Bazal AFS, bazal FSH, bazal FSH/LH, bAFS, bFSH, bFSH/LH değerleri ile 2PN sayısı ve 2., 3., 5. gün embriyo skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon izlenmedi ($p \geq 0.05$) (Tablo 7).

Tablo 7: 2PN sayısı ve 2., 3., 5. gün embriyo skorları ile AFS, bAFS, FSH, bFSH, FSH/LH, bFSH/LH arasında bivaryant korelasyon analizi

	2PN Sayısı		2.gün embriyo skoru		3.gün embriyo skoru		5.gün embriyo skoru	
	r	P	r	p	r	p	r	p
AFS	0.06	0.56	0.01	0.89	0.01	0.79	0.15	0.34
bAFS	0.06	0.59	0.1	0.39	0.08	0.50	0.03	0.83
FSH	-0.27	0.01	0.07	0.55	-0.05	0.71	-0.12	0.46
bFSH	0.01	0.86	0.05	0.63	0.04	0.65	-0.18	0.45
FSH/LH	-0.05	0.62	-0.15	0.20	-0.17	0.15	-0.12	0.43
bFSH/LH	-0.04	0.72	0.14	0.22	-0.01	0.90	-0.30	0.06

PN: Pronükleus

AFS: Bazal antral folikül sayısı

bAFS: Hipofizer baskılanma antral folikül sayısı

Hipofizer baskılanma öncesi ve sonrası AFS yüzde değişimleri hesaplandı. AFS'daki azalmanın en az %8,33, en fazla %75 olduğu izlendi. Ortalama değer %26,6 olarak bulundu. Baskılanma yüzdesine göre sonuçların farklılığını değerlendirmek için hastalar hipofizer baskılanma yüzdesi ortalama değerlerine göre iki gruba ayrıldı (Tablo 8).

Tablo 8: AFS'nın hipofizer baskılanma yüzdesi

AFS'nın hipofizer baskılanma yüzde değişimi	
Min	%8,33
Max	%75
Ortalama	%26,6

Grup I: Hipofizer baskılanma sonrası AFS'da % 26,6'dan daha az baskılanma olan hastalar (n:40)

Grup II: Hipofizer baskılanma sonrası AFS'da % 26,6'dan daha fazla baskılanma olan hastalar (n:38)

Grup I ve II'nin embriyolojik data verilerinin tanımlayıcı istatistik verileri saptandı (Tablo 9).

Tablo 9: Grup I ve II'nin embriyolojik data verilerinin tanımlayıcı istatistik verileri

	G	ortalama	Minimum	Maximum	Standart sapma
toplanan oosit sayısı	II	14,5	5	18	6,07
	I	15,5	3	25	8,27
matür oosit sayısı	II	12,1	5	17	5,16
	I	12,0	2	21	6,42
oosit kalite indeksi	II	5,2	4,8	6,4	0,37
	I	5,4	2,8	6,6	0,94
2 PN sayısı	II	5,5	1	12	3,9
	I	8,0	2	19	4,66

2. gün embriyo Skoru	II	6,0	2,0	5,1	0,69
	I	4,6	3,0	5,0	0,51
3. gün embriyo Skoru	II	4,3	2,0	4,9	0,74
	I	4,1	2,9	5,0	0,58
5.gün embriyo skoru	II	4,1	2,4	5,0	0,73
	I	3,6	2,4	4,6	0,73

G: Grup

Tablo 10 : Grup I ve II arasında embriyolojik data verilerinin karşılaştırılması

	t-test		
	t	df	P
oosit kalite indeksi	-1,498	47	0,14
2 PN sayısı	1,333	51	0,18
2. gün embriyo skoru	0,140	47	0,88
3. gün embriyo skoru	-0,368	44	0,71
5.gün embriyo skoru	-0,411	24	0,68
toplanan oosit sayısı	1,075	51	0,28
matür oosit sayısı	-0,094	50	0,92

Bağımsız 2 örneklem T-Testi kullanılarak yapılan istatistik analizinde; TOS, MOS, OKİ, 2PN değerleri, 2., 3., 5. gün embriyo skorları bakımından iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı ($p \geq 0.05$) (Tablo 10).

TARTIŞMA

IVF tedavisinde amaç; optimal seviyede kaliteli oosit ve embriyo gelişiminin sağlanması için en uygun tedavi protokolü ve gonadotropin dozuyla yapılan kontrollü ovaryen hiperstimülasyondur (KOH). Bu nedenle kullanılacak protokol ve başlanacak gonadotropin dozunu belirlemek büyük önem taşımaktadır. IVF'in başarısını en çok etkileyen faktör; yaş ve tüm değişkenlerden bağımsız olarak over rezervidir. Over rezervinin değerlendirilmesinde kullanılan parametre ve testler; yaş, bazal FSH, estradiol, FSH/LH oranları, over hacmi ve antral follikül sayısı, inhibin - B düzeyi, antimüllerian hormon düzeyi, Klomifen Sitrat Challenge Test (CCCT), GnRH Analogu Stimulasyon Testi (GAST), eksojen FSH ovarian reserve test ve önceki tedavilere verilen cevaptır. Yapılan çalışmalarda; sikluslar arası over rezerv testlerinin sonuçlarındaki dalgalanmaların hipotalamo-hipofizer eksen kaynaklandığından yola çıkarak; IVF sikluslarında long luteal agonist kullanılan vakalarda hipofizer baskılanma gerçekleştirildikten sonra, over rezerv testleri bakılarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada normal cevaplı olduğu düşünülen, GnRH long luteal agonist protokolü kullanılan IVF sikluslarında, hipofizer baskılanma sırasında AFS, FSH, FSH/LH (bAFS, bFSH, bFSH/LH) değerlerinin siklus performansını değerlendirmedeki rolü araştırılmıştır.

Scott RT ve arkadaşlarının 1989 yılında yayınladıkları 3. gün basal FSH değerlerinin IVF sikluslarında over rezervini öngörmesi ile ilgili çalışma ile infertil hastaya yaklaşımda yeni bir dönem başlamıştır. Takip eden yıllarda 3. gün serum hormon değerleri ile ilgili sayısız çalışma yapılmıştır. Günümüzde halen infertil çiftte yaklaşımda bazal serum hormon değerleri, bazal ultrasonografi ile ovaryen foliküllerin değerlendirilmesi ilk basamakta yerini korumaktadır (22).

Onagawa T ve arkadaşlarının 2004 yılında 59 infertil hastanın 72 IVF siklusu dahil edilerek yaptığı bir çalışmada; hipofizer baskılanma günü

stimülasyon öncesi ROC eğrileri ile FSH eşik değeri 5,25 IU/ml olarak belirlenmiş ve bu değerin üstünde toplanan oosit sayısı ve OHSS gelişme olasılığı düşük bulunmuşken, bu değerin altında her ikisi de yüksek bulunmuştur (25).

Ping Ho JY ve arkadaşlarının 2005 yılında 245 IVF-ICSI siklusunu içeren bir çalışmalarında GnRH analogu ile baskılanma esnasında, gonadotropin stimülasyonu başlamadan önce ölçülen serum FSH ve FSH/LH oranlarının toplanan matür oosit sayısı ile ters korelasyon gösterdiği saptanmıştır ($r = -0.193$ ve $r = -0.224$). FSH/LH oranlarının normal ve zayıf cevaplı hastaları belirleyebileceği belirtilmiştir. ROC analizi kullanılarak bulunan eşik değere göre; $FSH/LH \geq 3$ ise, daha az matür oosit toplandığı (8.25 vs. 11.74), daha düşük E2 seviyeleri (1,975.3 pg/mL vs. 3,324.8 pg/mL), ve zayıf cevaplı siklusların daha yüksek oranda olduğu saptanmıştır (32.5% vs. 14.3%). Sonuç olarak gonadotropin stimülasyonu öncesinde baskılanma sırasındaki FSH/LH oranının toplanan matür oositi erken predikte etmede pratik bir yöntem olduğu savunulmuştur (28).

Barroso G ve arkadaşlarının 2001 yılında yaptığı 186 IVF siklusunu içeren benzer bir çalışmada ise; hastalar bazal LH seviyelerine göre iki gruba ayrılmıştır (çalışma grubu: $LH \leq 3$ mIU/mL, kontrol grubu: $LH \geq 3$ mIU/mL). Toplanan oosit sayıları bakımından çalışma grubunun sonuçlarının daha düşük olduğu görülmektedir (10.7 ± 4.9 çalışma grubu vs. 13 ± 6.8 kontrol grubu). Yine çalışma grubunda daha düşük implantasyon hızları (6 vs. 12%) ve gebelik oranları (20 vs. 36%) saptanmıştır. $FSH/LH \geq 3$ olmasının zayıf yanıtı hastaları saptamada erken bir belirteç olarak kullanılabileceği savunulmuştur (27).

Makherjee T ve arkadaşlarının 1996 yılında yaptığı 74 IVF siklusunu içeren bir çalışmada, hastalar FSH/LH oranlarına göre 2 gruba ayrılmıştır ($FSH/LH \geq 3.6$, grup I ; $FSH/LH \leq 3.6$, grup II). Grup I'in KOH'a kötü yanıtı predikte ettiği belirtilmiştir. Her iki grup arasında baskılanma esnasında

serum FSH değerleri ve toplam kullanılan gonadotropin miktarları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Grup I hastalarının 8.gün E₂ ve en yüksek E₂ değerleri daha düşük (97 ± 18 vs 319 ± 36 pg/mL; 422 ± 115 vs $2,368 \pm 183$ pg/mL; sırasıyla), 15 mm ve üzerinde follikül sayısı daha az (1.3 ± 0.5 vs 17.1 ± 1.0); siklus iptal oranları anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (26).

Bizim çalışmamıza GnRH long luteal agonist protokolü kullanılan, normal cevaplı olduğu kabul edilen 78 IVF siklusu dahil edildi. Bazal FSH, hipofizer baskılanma esnasında bakılan FSH değerleri ile bazal FSH/LH ve hipofizer baskılanma esnasındaki FSH/LH oranlarının TOS, MOS, OKİ, kullanılan gonodotropin süresi, 2PN sayısı, 2., 3., 5. gün embriyo skorları ile bivaryant korelasyon analizi yapılarak sonuçlar karşılaştırıldı. Bazal FSH ile KOH süresi ve 2 PN arasında istatistiksel anlamlı korelasyon saptandı. Bazal FSH arttıkça KOH süresinin arttığı, 2PN sayısı azaldığı izlendi [(p= 0.04), (p= 0.01)]. Bazal FSH ile TOS, MOS, OKİ, 2., 3., 5. gün embriyo skorları arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (p ≥ 0.05). Bazal ve bFSH/LH oranları ve bFSH ile TOS, MOS, OKİ, kullanılan gonodotropin süresi, 2PN sayısı, 2., 3., 5. gün embriyo skorları arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (p ≥ 0.05). bFSH ve bFSH/LH oranları için bir eşik değer bulmak için yapılan ROC analizinde istatistiksel anlamlı sonuçlar elde edilemedi.

Broekmans FJ ve arkadaşlarının 2006'da yayınladıkları Update'de AFS'nın ovaryen yanıtın direkt kantitatif belirteci olduğu belirtilmektedir (19).

Kwee J ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptığı bir çalışmada ise; AFS'nın, ovarian yanıtı belirlemede hormonal testlerden daha iyi bir belirteç olduğu savunulmaktadır (68).

Chang ve arkadaşları 1998 yılında 130 hastayla 149 tedavi siklusunda yaptıkları çalışmada antral folikül sayısına göre (≤ 3 , 4-10, ve ≥ 11) hastaları 3 gruba ayırmışlar ve çalışmanın sonucunda antral folikül sayısının yaş, 3. gün

FSH düzeyi, kullanılan gonadotropin dozu, serum E2 konsantrasyonu, toplanan oosit sayısı ve transfer edilen embriyo sayısı ile önemli ölçüde korelasyon gösterdiğini belirtmişlerdir (69).

Albert HSU ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptığı bir çalışmada ise; long luteal agonist protokolü ve oral kontrasepsiyonu takiben baskılanma esnasındaki ovaryen foliküller incelenmiş ve antral foliküller sayılarına göre gruplara ayrılmıştır (AFS 1-5, AFS 6-10, AFS 10-15, AFS 16+). AFS yüksek olan grupların ovaryen cevabı belirlemede üç kat kadar daha başarılı olduğunu, düşük AFS olan grupta yüksek siklus iptal oranları olduğunu savunmuşlar ancak AFS'nin kötü embriyo kalitesini, implantasyon oranlarını ve siklus başına canlı doğum oranlarını öngöremeyeceğini belirtmişlerdir (70).

Muttukrishna S ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptığı 108 IVF siklusunu içeren prospektif çalışmalarında, AFS'nin toplanan oosit sayısı, bazal AMH sayısı ile ilişkili olduğu saptanmıştır. AFS üç gruba ayrılarak istatistik analizleri yapılmış (grup1:1-4; grup2: 5-9; grup3: ≥ 10); grup 2 ve 3 'te gebelik oranlarının istatistiksel olarak anlamlı yüksek, grup 1'de ise az bulunduğu ifade edilmiştir (sırasıyla % 38, %42, %18) (119).

Penarrubia J ve arkadaşlarının 2010 yılında 98 infertil hasta grubunda yaptığı bir çalışmada ise; GnRH agonist kullanılan IVF sikluslarında hipofizer baskılanma sırasında ölçülen AFS ve 5. Gün inhibin-B serum konsantrasyonlarının ovaryen cevabı ve gebelik sonuçlarını öngörmedeki rolleri araştırılmış ve ovaryen stimülasyona cevapta, bazal değişkenler içinde AFS; dinamik hormon ölçümleri içinde ise inhibin-B ovaryen yanıtı öngörmede en başarılı testler olarak bulunmuştur. Ovaryen yanıtı belirlemede her iki ölçümün sonuçları benzer bulunmuştur (71).

3. Gün hormonal testlerin ve ultrasonografinin ovaryen rezerv tahminindeki rolleri kaçınılmazdır. Ancak sikluslar arası değişken olmaları;

laboratuvar ve yapan kişiye bağımlı değişkenlik gibi limitasyonların önüne geçmek için kontrol hipotalamo-hipofizer aksın elinden alınmış, hipofizer baskılanma esnasındaki değerler incelenmiştir.

Melo MA ve arkadaşları tarafında 2009 yılında yapılan bir çalışmada; hipofizer baskılanma esnasındaki $AFS \leq 10$ ise, siklus iptal oranları daha fazla, toplanan matür oosit sayısı daha az, HCG günü estradiol ve en yüksek estradiol seviyeleri daha düşük saptanmıştır. $AFS \leq 10$ siklus iptal oranları daha fazla olmasına rağmen aynı gebelik oranları tespit edilmiştir. Sonuç olarak; düşük AFS KOH'a zayıf yanıtı belirler ancak kötü oosit kalitesini öngöremez denilmiştir. Bu çalışmanın sonucundan yola çıkarak kendi kliniklerinde $AFS \leq 10$ olan hastalara KOH için gonadotropin ilk dozunu 300IU/gün ile başladıklarını, $AFS \geq 17$ olan hastalara ise 150IU/gün ile başladıklarını belirtmişlerdir (72).

Frattarelli JL ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptığı bir çalışmada 289 IVF siklusunda, hipofizer baskılanma esnasında AFS değerlendirilmiş ve AFS için bir eşik değeri belirlenmeye çalışılmıştır. AFS ile MOS, en yüksek estradiol seviyeleri, embriyo sayıları korele bulunmuştur. AFS 4 ve daha az olan siklusların gebelik oranları (23.5% vs. 57.6%) düşük, siklus iptal oranları (41% vs. 6.4%) fazla bulunmuştur (73).

Huang FJ ve arkadaşlarının 2000 yılında 338 KOH siklusu üzerinde yaptığı bir çalışmada long luteal agonist kullanılan sikluslarda hipofizer baskılanma sonrası gonadotropin stimülasyonu başladıktan sonraki ilk folikülometrideki AFS'nin KOH'a ovaryen cevabı ve YÜT sonuçlarını öngörebileceği belirtilmiştir. Hipofizer baskılanma sonrası gonadotropin stimülasyonu başladıktan sonraki ilk folikülometrideki AFS'nin, hCG uygulandığı gün ölçülen AFS ve toplanan oosit sayısı ile pozitif korele olduğu ($r = 0,624$; $r = 0,53$) saptanmıştır (74).

Bizim çalışmamızda hipofizer baskılanma esnasındaki AFS ve bazal AFS'nin matür oosit sayısı, oosit kalite indeksi, kullanılan gonadotropin süresi, toplam oosit sayısı, 2PN sayısı, 2., 3., 5. gün embriyo skorları ile bivaryant korelasyon analizi yapılarak sonuçlar karşılaştırıldı. Kullanılan toplam gonadotropin miktarı ile bazal AFS arasında negatif korelasyon saptandı. Bazal AFS arttıkça kullanılan gonadotropin miktarı azaldığı izlendi. Bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı olarak saptandı ($r = -0.30$; $p = 0.007$). bAFS ile siklus performans parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadı ($p \geq 0.05$).

Bazal AFS ve baskılanma günü ölçülen AFS arasında yüzde değişim hesaplanarak; minimum %8, maximum %35, ortalama %26,6 azalma tespit edildi. Yüzde değişim oranlarına göre iki grup oluşturuldu (Grup I: AFS'da baskılanma % 26,6'dan daha az, Grup II: AFS'da baskılanma % 26,6'dan daha fazla). Gruplar; TOS, MOS, OKİ, 2PN sayısı, 2., 3., 5. gün embriyo skorları bakımından bağımsız 2 örneklem T-Testi kullanılarak karşılaştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p \geq 0.05$). bAFS'ye bir eşik değer bulmak için yapılan ROC analizinde istatistiksel anlamlı sonuçlar elde edilemedi.

Sonuç olarak; IVF sikluslarında normal cevaplı olduğu kabul edilen, GnRH long luteal agonist protokolü başlanılan vakalarda bAFS, bFSH ve bFSH/LH değerleri ile bazal AFS; bazal FSH, bazal FSH/LH arasında siklus performansını öngörmeye anlamlı bir fark olmadığı sonucuna varıldı.

SONUÇ

Bu çalışmanın amacı; normal cevaplı kabul edilen GnRH long luteal agonist kullanılan IVF sikluslarında hipofizer baskılanma esnasında over rezervi testlerinden antral folikül sayısı, FSH, FSH/LH değerlerinin siklus performansını değerlendirmedeki rollerini araştırmaktır.

Bu çalışmada bazal AFS, bAFS, bazal FSH, bFSH değerleri, bazal FSH/LH ve bFSH/LH oranlarının TOS, MOS, OKİ, kullanılan gonodotropin süresi, 2PN sayısı, 2., 3., 5. gün embriyo skorları ile bivaryant korelasyon analizi yapılarak sonuçlar karşılaştırıldı. Bazal FSH ile KOH süresi ve 2 PN arasında istatistiksel anlamlı korelasyon saptandı. Bazal FSH arttıkça KOH süresinin arttığı, 2PN sayısının azaldığı tespit edildi [(p= 0.04), (p= 0.01)]. Bazal FSH ile TOS, MOS, OKİ, 2., 3., 5. gün embriyo skorları arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (p $\geq$ 0.05). Bazal AFS ile kullanılan toplam gonadotropin miktarı arasında anlamlı negatif korelasyon saptandı. Bazal AFS arttıkça toplam kullanılan gonadotropin miktarının azaldığı görüldü (p= 0.007). Bazal AFS ile TOS, MOS, OKİ, 2., 3., 5. gün embriyo skorları, 2PN sayısı arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (p $\geq$ 0.05). Bazal FSH/LH ve bFSH/LH oranları, bAFS, bFSH ile TOS, MOS, OKİ, kullanılan gonodotropin süresi, 2PN sayısı, 2., 3., 5. gün embriyo skorları arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (p $\geq$ 0.05). Bazal AFS ve baskılanma günü ölçülen AFS arasında yüzde değişim hesaplanarak; minimum %8, maximum %35, ortalama %26,6 azalma tespit edildi. Yüzde değişim oranlarına göre iki grup oluşturularak TOS, MOS, OKİ, 2PN sayısı, 2., 3., 5. gün embriyo skorları bakımından karşılaştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p $\geq$ 0.05).

Sonuç olarak; IVF sikluslarında normal cevaplı olduğu kabul edilen, GnRH long luteal agonist protokolü başlanılan vakalarda bAFS, bFSH ve bFSH/LH değerleri ile bazal AFS; bazal FSH, bazal FSH/LH arasında siklus performansını öngörmede anlamlı bir fark olmadığı sonucuna varıldı.

7.KAYNAKLAR

1. Over rezervinin değerlendirilmesi, Ovulasyon İndüksiyonu (Kahraman S, Yakın K;eds), İstanbul, 2000; 20-32
2. Johnson NP, Bagrie EM, Coomarasamy A, Bhattacharya S, Shelling AN, Jessop S, Farquhar C. Ovarian reserve tests for predicting fertility outcomes for assisted reproductive technology: the International Systematic Collaboration of Ovarian Reserve Evaluation protocol for a systematic review of ovarian reserve test accuracy. Br J Obstet Gynecol 2006; 113:1472–1480
3. Mosher WD, Pratt WF. Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. Fertil Steril 1991; 56:192-193
4. Jacky Boivin, Laura Bunting, John A. Collins, Karl G. Nygren. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking:potential need and demand for infertility for medical care. Hum Reprod 2007; 22: 1506- 1512
5. Female infertility, Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility, (Speroff L, Fritz MA; eds) 7th ed, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia 2005; 1013-1068
6. Broekmans FJ, de Ziegler D, Howles CM, Gougeon A, Trew G, Olivennes F. The antral follicle count: practical recommendations for better standardization. Fertil Steril 2010; 94:1044-1051
7. Optimal evaluation of the infertile female. A practice committee of the American Society for Reproductive Medicine. Fertil Steril 2006; 86:264-267
8. Report on optimal evaluation of the infertile male. The male infertility best practice policy committee of the American Urological Association and the practice committee of the American Society for Reproductive Medicine. Fertil Steril 2006; 86:202-209
9. Wathen NC, Perry L, Lilford RJ, Chard T. Interpretation of single progesterone measurement in diagnosis of anovulation and defective luteal phase: observations on analysis of the normal range. British Medical Journal 1984; 288:7-14
10. Miller PB, Soules MR. The usefulness of a urinary LH kit for ovulation prediction during menstrual cycles of normal women. Obstet Gynecol 1996; 87:13-19

11. Miller JH, Weinberg RK, Canino NL, Klein NA, Soules MR. The pattern of infertility diagnoses in women of advanced reproductive age. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181:952-957
12. Westrom I. Incidence, prevalence, and trends of acute pelvic inflammatory disease and its consequences in industrialized countries. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 138:880-886
13. Clementini E, Palka C, Iezzi I, Stuppia L, Guanciali-Franchi P, Tiboni GM. Prevalence of chromosomal abnormalities in 2078 infertile couples referred for assisted reproductive techniques. *Hum Reprod* 2004; 20:437-442
14. Crosignani PG, Collins J, Cooke ID, Diczfalusy E, Rubin B. The recommendation of the ESHRE workshop on "Unexplained infertility". *Hum Reprod* 1993; 8:977-980
15. Randall JM, Templeton A. The effects of clomiphene citrate upon ovulation and endocrinology when administered to patients with unexplained infertility. *Hum Reprod* 1991; 6:659-664
16. Evers JL. Female subfertility, *Lancet* 2002; 360:151-159
17. Guzick DS, Sullivan MW, Adamson GD, Cedars MI, Falk RI, Peterson EP, Steinkompf MP. Efficacy of treatment for unexplained infertility. *Fertil Steril* 1998; 70:207-213
18. Optimal evaluation of the infertile female. American Society for Reproductive Medicine. A practice committee report, Birmingham, 2006; 86:264-267
19. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod* 2006; 21:685-718
20. Bukman A, Heineman MJ. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility. *Hum Reprod* 2001; 16:581-590
21. Scott RT JR, Hofmann GE. Prognostic assessment of ovarian reserve. *Fertil Steril* 1995; 63:1-11

22. Scott RT, Toner JP, Muasher J, Oehninger J, Robinson S, Rosenwaks Z. Follicle stimulating hormone levels on cycle day 3 are predictive of in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1989; 51:651–654
23. Chuang CC, Chen CD, Chao KH, Chen SU, Ho HN, Yang YS. Age is a better predictor of pregnancy potential than basal follicle-stimulating hormone levels in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2003; 79:63-68
24. Toner JP, Philput C, Jones GS, Muasher SJ. Basal follicle-stimulating hormone level is a better predictor of in vitro fertilization performance than age. *Fertil Steril* 1991; 55:784-791
25. T. Onagawa, H. Shibahara, Ayustawati, S. Machida, Y. Hirano, C. Hirashima, S. Takamizawa. Prediction of ovarian reserve based on day-3 serum follicle stimulating hormone concentrations during the pituitary suppression cycle using a gonadotropin releasing hormone agonist in patients undergoing in vitro fertilization. *Gynecol Endoc* 2004; 18:335-340
26. Mukherjee T, Copperman AB, Lapinski R, Sandler B, Bustillo M, Grunfeld L. An elevated day three follicle-stimulating hormone:luteinizing hormone ratio (FSH:LH) in the presence of a normal day 3 FSH predicts a poor response to controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril* 1996; 65:588-593
27. Barroso G, Oehninger S, Monzo A, Kolm P, Gibbons WE, Muasher SJ. High FSH:LH ratio and low LH levels in basal cycle day 3: impact on follicular development and IVF outcome. *J Assist Reprod Genet* 2001; 18:499-505
28. Ho JY, Guu HF, Yi YC, Chen MJ, Ho ES. The serum follicle-stimulating hormone-to-luteinizing hormone ratio at the start of stimulation with gonadotropins after pituitary down-regulation is inversely correlated with a mature oocyte yield and can predict “low responders” *Fertil Steril* 2005; 83:883-888
29. 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; 64:1136-1140
30. Pavlik EJ, DePriest PD, Gallion HH, Ueland FR, Reedy MB, Kryscio RJ. Ovarian volume related to age. *Gynecol Oncol* 2000; 77:410-412
31. 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; 77:328-336

32. Tomas C, Nuojuua-Huttunen S, Martikainen H. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1997; 12:220-223
33. 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; 83:291-301
34. Klein NA, Illingworth PJ, Groome NP, McNeilly AS, Battaglia DE, Soules MR. Decreased inhibin-B secretion is associated with the monotropic FSH rise in older, ovulatory women: a study of serum and follicular fluid levels of dimeric inhibin-A and B in spontaneous menstrual cycles. *J Clin Endocrinol Met* 1996; 81:2742-2745
35. Seifer DB, Lambert G, Hogan JW, Gardiner AC, Blazar AS, Berk CA. Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome. *Fertil Steril* 1997; 67:110-114.
36. Seifer DB, Scott RT Jr, Bergh PA, Abrogast LK, Friedman CI, Mack CK. Women with declining ovarian reserve may demonstrate a decrease in day 3 serum inhibin B before a rise in day 3 follicle-stimulating hormone. *Fertil Steril* 1999; 72:63-65
37. Baarends WM, Uilenbroek JT, Kramer P, Hoogerbrugge JW, van Leeuwen EC, Themmen AP and Grootegoed JA. Anti-mullerian hormone and anti-mullerian hormone type II receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle and gonadotropin-induced follicle growth. *Endocrinol* 1995; 136:4951-4965
38. Gruijters MJG, Visser JA. Anti-Mullerian hormone and its role in ovarian function. *Molecul Cell Endocrinol* 2003; 211:85-90
39. La Marca A, De Leo V, Giulini S, Orvieto R, Malmusi S, Giannella L. Anti-Mullerian hormone in premenopausal women and after spontaneous or surgically induced menopause. *J Soc Gynecol Investig* 2005; 12:545-548
40. De Vet A, Laven JSE, de Jong FH, Themmen APN. Antimullerian hormone serum levels: a putative maker for ovarian aging. *Fertil Steril* 2002; 77:357-359
41. Fanchin R, Schonauër LM, Righini C, Guilbourdenche J, Frydman R and Taieb J. Serum anti-Mullerian hormone is more strongly related to

ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. Hum Reprod 2003; 18:323-327

42. Van Rooij IA, Broekmans FJ, Te Velde ER, Fauser BC, Bancsi LF, De Jong FH. Serum anti-Mullerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. Hum Reprod 2002; 17:3065-3071
43. Lee MM, Gnath C, Schuring AN, Friol K, Mallman P, Godehardt E. Relevance of anti-Mullerian hormone measurement in a routine IVF programme. Human Reprod 2008; 23:1359-1365
44. Fanchin R, de Ziegler D, Olivennes F, Taieb J, Dzik A, Frydman R. Exogenous follicle stimulating hormone ovarian reserve test (EFORT): a simple and reliable screening test for detecting 'poor responders' in in-vitro fertilization. Hum Reprod 1994; 9:1607-1611
45. Penarrubia J, Fabregues F, Creus M, Carmona F, Casamitjana R. Previous cycle cancellation due to poor follicular development as a predictor of ovarian response in cycles stimulated with gonadotrophin releasing hormone agonist-gonadotrophin treatment. Hum Reprod 2005; 20:622-628
46. Centers for Disease Control and Prevention, American Society for Reproductive Medicine, Society for Assisted Reproductive Technology, Assisted reproductive technology success rate, 2003
47. Feichtinger W, Papalambrou K, Poehl M, Krischker U, Neumann K. Smoking and in vitro fertilization: a meta- analysis. J Assist Reprod Genet 1997; 14:596-599
48. Strandell A, Lindhard A, Waldenström U, Thorburn J. Hydrosalpinx and IVF outcome: cumulative results after salpingectomy in a randomized controlled trial. Hum Reprod 2001; 16:2403-2410
49. Johnson N, Van Voorst S, Sowter MC. Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo in vitro fertilization, Cochrane Database System Review, 2004; (3):CD002125
50. Van Voorhis BJ. Outcomes from assisted reproductive technology. Obstet Gynecol 2006; 107:183-200
51. Hillier SG. The Parkes Lecture: Controlled ovarian stimulation in women. J Reprod Fertil 2000; 120:201-210
52. Cusan L, Auclair C, Belanger A, Ferland L, Kelly PA, Seguin C, Labrie F. Inhibitory effects of long-term treatment with a LHRH agonist on the

- pituitary-gonadal axis in male and female rats. *Endocrinol* 1979; 104:1369-1372
53. Albuquerque LE, Saconato H, Maciel MC, Depot versus daily administration of GnRH protocol for pituitary desensitisation in assisted reproduction cycles, *Cochrane Database System Review*, 2005; (1): CD002808
 54. Monitoring IVF cycles, *Textbook of Assisted Reproductive Techniques Laboratory and Clinical Perspectives* (Gardner DK, Weismann A, Howles CM, Shoham Z; eds) , 2nd ed, Taylor Francis, London, 2004; 625-629
 55. Janssens RMJ, Lambalk CB, Vermeiden JPW, Schats R, Bernards JM, Rekers-Mombarg LTM, Schoemaker J. Dose-finding study of triptorelin acetate for prevention of a premature LH surge in IVF: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Hum Reprod* 2000; 15:2333-2340
 56. Hughes EG, Fedorkow DM, Daya S, Sagle MA, Van de Kopplel P, Collins JA. The routine use of gonadotropin-releasing hormone agonists prior to in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertil Steril* 1992; 58:888-896
 57. Urbancsek J, Witthaus E. Midluteal buserelin is superior to early follicular phase buserelin in combined gonadotropin-releasing hormone analog and gonadotropin stimulation in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1996; 65:966-971
 58. Filicori M, Cognini GE, Pacognoli P, Taberelli C, Ferlini F, Perri T, Parmegiani L. Comparison of controlled ovarian stimulation with human menopausal gonadotropin or recombinant follicle- stimulating hormone. *Fertil Steril* 2003; 80:390-397
 59. Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, Nelson JF. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod* 1992; 7:1342-1346
 60. Segal S, Shifren JL, Isaacson KB, Leykin L, Chang Y, Pal L, Toth TL. Effect of a baseline ovarian cyst on the outcome of the in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 1999; 71:274-277
 61. Wikland M, Nilsson L, Hansson R. Collection of human oocytes by the use of sonography. *Fertil Steril* 1983; 39:603-608
 62. Assited Reproductive Technology, *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility* (Speroff L, Fritz MA; eds), 7th ed, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2005; 1215-1274

63. Edwards RG, Brody SA. History and etnics of assisted human conception. Hum reprod 1995; 1995:17-20
64. Gardner DK, Vella P, Lane M, Wagley L, Schlenker T. Culture and transfer of human blastocysts increases implantation rates and reduces the need for multiple embryo transfers. Fertil Steril 1998; 69:84-89
65. Schoocraft WB, Surrey ES, Gardner DK. Embyo transfer: techniques and variables affecting success. Fertil Steril 2001; 76:863-870
66. D'Angelo A, Amso NN. Embryo freezing for preventing ovarian hyperstimulation syndrome:a Cochrane review. Hum Reprod 2002; 17:2787-2794
67. Lee KS., Joo BS., Na YJ., Yoon MS. Relationships between concentrations of TNF-alpha and NO in follicular fluid and oosit quality. J Assist Reprod Genet 2000; 17:222-228
68. Kwee J, Elting ME, Schats R, McDonnell J, Lambalk CB. Ovarian volume and antral follicle count for the prediction of low and hyper responders with in vitro fertilization. Reprod Biol Endocrinol 2007; 5:9-18
69. Chang M. Y, Chiang C. H, Hsieh T. T, Soong Y.K. Use of the antral follicle count to predict the outcome of assisted reproductive technologies. Fertil Steril 1998; 69:505-510
70. Hsu A, Amy M, Knee AB, Bell C, Cook E, Grow DR. Antral follicle count in clinical practice: analyzing clinical relevance. Fertil Steril 2011; 95:474-479
71. Peñarrubia J, Peralta S, Fábregues F, Carmona F, Casamitjana R, Balasch J. Day-5 inhibin B serum concentrations and antral follicle count as predictors of ovarian response and live birth in assisted reproduction cycles stimulated with gonadotropin after pituitary suppression. Fertil Steril 2010; 94:2590-2595
72. Melo MA, Garrido N, Alvarez C, Bellver J, Meseguer M, Pellicer A, Remohi J. Antral Follicle Count (AFC) can be used in the prediction of ovarian response but cannot predict the oocyte/embryo quality or the in vitro fertilization outcome in an egg donation program. Fertil Steril 2009; 91:148-56
73. Frattarelli JL, Levi AJ, Miller BT, Segars JH. A prospective assessment of the predictive value of basal antral follicles in in vitro fertilization cycles. Fertil Steril 2003; , 80:350-355

74. Huang FJ, Chang SY, Tsai MY, Kung FT, Wu JF. Determination of the Efficiency of Controlled Ovarian Hyperstimulation in the Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist-Suppression Cycle Using the Initial Follicle Count During Gonadotropin Stimulation. J Assist Reprod Genet 2001; 18: 91-96

