T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANA BİLİM DALI

DÜŞÜK DOZ VE YÜKSEK DOZ GONADOTROPİNLER İLE OVULASYON İNDÜKSİYONU YAPILAN KÖTÜ OVER YANITLI HASTALARDA LUTEİNİZE GRANÜLOZA HÜCRELERİNDE SURVİVİN GEN EKSPRESYONUNUN, EMBRİYO KALİTESİ VE GEBELİK ORANLARINA ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Filiz ÜLKER

KAYSERİ–2015

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANA BİLİM DALI

DÜŞÜK DOZ VE YÜKSEK DOZ GONADOTROPİNLER İLE OVULASYON İNDÜKSİYONU YAPILAN KÖTÜ OVER YANITLI HASTALARDA LUTEİNİZE GRANÜLOZA HÜCRELERİNDE SURVİVİN GEN EKSPRESYONUNUN, EMBRİYO KALİTESİ VE GEBELİK ORANLARINA ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Filiz ÜLKER

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ercan M. AYGEN

Bu Çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından TTU-2013-4822 No'lu Kod ile Desteklenmiştir.

KAYSERİ–2015

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında büyük destek ve emek veren, aynı zamanda uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Ercan M. Aygen'e en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Tüm asistanlık hayatım boyunca yetişmeme katkı sağlayan her koşulda etik kuralları en önde tutan, mesleki incelikleri kazanmamda çok büyük emekleri geçen tüm hocalarıma şükranlarımı sunuyorum.

Tez çalışmam süresince yardımcı olan tüp bebek ünitesinin değerli hemşire, embriyolog ve personeline, tezimin genetik çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Sayın Yard. Doç. Dr. Serpil Taheri ve ekibine çok teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli aileme, tezimin hazırlanması esnasında bana gösterdiği sabır ve destekten dolayı sevgili eşime sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Dr. Filiz ÜLKER,

Haziran 2015, KAYSERİ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR i

İÇİNDEKİLER ii

KISALTMALAR iv

TABLOLAR VE ŞEKİLLER LİSTESİ v

ÖZET vi

ABSTRACT viii

1.GİRİŞ VE AMAÇ 1

2. GENEL BİLGİLER 4

2.1 İNFERTİLİTE 4

2.1.1 İnfertilite nedenleri 4

2.1.1.1 Erkek infertilitesi 5

2.1.1.2 Kadın infertilitesi 6

2.1.2 İnfertil çiftin değerlendirilmesi 8

2.1.2.1 Kadın infertilitesinin değerlendirilmesi 8

2.1.2.2 Erkek infertilitesinin değerlendirilmesi 9

2.2 OVER REZERVİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ 10

2.2.1 Over rezervinin değerlendirilmesinde kullanılan parametre ve testler: 11

2.2.1.1 Statik testler 11

2.2.1.2 Dinamik testler 11

2.3. KÖTÜ OVER YANITI 17

2.3.1 Hangi hastalar ‘kötü yanıtlı’ olarak değerlendirilir? 18

2.3.2 Kötü overyan yanıtlı hastaların yönetimi 21

3.YÖNTEM VE GEREÇLER 34

4. BULGULAR 40

5.TARTIŞMA 47

6. SONUÇLAR 56

KAYNAKLAR 57

TEZ ONAY SAYFASI 72

KISALTMALAR

AFS : Antral folikül sayısı

AMH : Anti-Müllerian Hormon

CC : Klomifen sitrat

CCCT : Klomifen sitrat challange test

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

E2 : Estradiol

EFORT : Eksojen FSH ovaryen rezerve test

FSH : Folikül stimüle edici hormon

GAST : GnRH agonist Stimulasyon test

GnRH : Gonadotropin releaising hormon

HCG : Human koryonik gonadotropin

hMG : Human menapozal gonadotropin

HSG : Histerosalpingografi

IAP : Apoptozis inhibitör proteini

ICSI : İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu

IVF : İn vitro fertilizasyon

IVF-ET : İn vitro fertilizasyon-Embriyo transferi

KOH : Kontrollü ovaryen hiperstimülasyon

LH : Lüteinizan hormon

PKOS : Polikistik over sendromu

USG : Ultrasonografi

YÜT : Yardımcı üreme teknikleri

TABLOLAR VE ŞEKİLLER LİSTESİ

Tablo 1: İnfertilite nedenleri 5

Tablo 2. Zayıf yumurtalık cevabı tanımlamak için kullanılan kriterler 20

Tablo 3: Kötü Over Yanıtlı Hastalarda Tedavi Seçenekleri 22

Tablo 4. Hastaların demografik özellikleri ve bazal hormon değerleri 41

Tablo 5. Grupların kullanılan r-FSH dozu ve stimülasyon süreleri, HCG günü E2 ve p4 açısından karşılaştırılması Aspire edilen folikül sayısı, Toplanan oosit sayısı, matür oosit sayısının gruplara göre dağılımı 42

Tablo 6. Gruplar arasında fertilizasyon oranı, oluşan embriyo sayısı ,transfer edilen embriyo sayısı ve transfer günü 43

Tablo 7. Kötü over yanıtlı ve normal over yanıtlı hastalarda survivin ekspresyon seviyesinin karşılaştırılması 44

Tablo 8: Gruplarda gebelik olan ve olmayan hastalarda survivin düzeylerinin karşılaştırılması 46

Tablo 9: Düşük ve yüksek doz tedavi verilen hastalarda matür oosit alıan ve matür oosit alınmayan hastalarda survivin seviyelerinin karşılaştırılması 46

Şekil 1. Survivin ile apopitoz inhibisyon modeli 32

Şekil 2. Gruplar arasında survivin ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması 44

Şekil 3. Kötü over yanıtlı ve normal over yanıtlı hastalarda survivin ekspresyon seviyesinin karsılastırılması 45

DÜŞÜK DOZ VE YÜKSEK DOZ GONADOTROPİNLER İLE OVULASYON İNDÜKSİYONU YAPILAN KÖTÜ OVER YANITLI HASTALARDA LUTEİNİZE GRANÜLOZA HÜCRELERİNDE SURVİVİN GEN EKSPRESYONUNUN, EMBRİYO KALİTESİ VE GEBELİK ORANLARINA ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Amaç: Kötü over yanıtlı hastalarda düşük ve yüksek doz gonadotropinler ile yapılan KOH'da granüloza hücrelerindeki antiapopitik survivin gen ekspresyon düzeylerini ve IVF sonuçlarını karşılaştırmaktır.

Yöntem ve gereçler: Çalışma düşük (Grup 1 n:11) ve yüksek doz (Grup 2 n:19) gonadotropinler ile KOH yapılan kötü over yanıtlı olduğu tespit edilen 30 hasta ve normal ovaryan yanıtlı 11 hasta ile yapılmıştır. Grup 1 hastalara siklusun 2-3. Gününden başlayarak 5 gün süreyle 100 mg CC ve siklusun 6.günü 187.5 IU/gün rFSH +75 IU/gün rLH başlandı. Grup 2 hastalara siklusun 2-3. günü 375 IU FSH+75 IU LH başlandı. Her iki gruba dominant folikül >14 mm olduğunda hCG gününe kadar 0.25 mg/gün GnRH antagonisti eklendi. Kontrol grubu olarak normal overyan yanıtlı hastalara 225 IU FSH+75 IU LH başlandı. En az 2 tane >18 mm folikül gelişimi olduğunda hastalara 250 μg of hCG yapıldı ve 36 saat sonra OPU yapıldı. Granüloza hücrelerinden Real Time PCR ile Survivin gen ekspresyonu belirlendi.

Bulgular: Antral folikül sayısı, HCG günü E2, P4, aspire edilen folikül sayısı, toplanan oosit sayısı ve matür oosit sayısında, 1.Grup ve 2.Grup hastalar arasında fark izlenmezken, normal over yanıtlı hastalarda, diğer gruplara göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Stimülasyon süresi tüm gruplarda benzer olarak bulunmuştur. 1.grupta toplam kullanılan gonadotropin dozu diğer gruplara göre anlamlı derecede az olarak bulundu. Tüm gruplar arasında fertilizasyon oranları, transfer edilen embriyo sayıları, klinik gebelik oranları arasında fark bulunmadı. 1. Grup ve 2.Grup hastalar arasında oluşan embriyo sayılarında fark yokken, kontrol grubunda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştu.

1.Grup ve 2.Grup hastalarda survivin ekspresyonları arasında fark izlenmezken, kontrol grubunda 1.Gruba göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca 2.Grup

hastalarda da kontrol grubuna göre survivin ekspresyonu anlamlı olarak daha fazladır. 1.Grup ve 2.Grup hastalarda matür oosit alınan ve alınmayan hastalarda survivin ekspresyonları arasında anlamlı farklılık izlenmedi. Tüm gruplarda gebelik olan ve olmayan hastalar arasında survivin ekspresyonu için istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi.

Sonuç: Düşük doz gonadotropin kullanımı klinik sonuçlara olumsuz etki etmezken tedavi maliyetini düşürmüştür. Yüksek doz gonadotropin kullanımının survivin ekspresyon düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı olmasada artırdığı gösterilmiştir. Buna bağlı olarak survivin ekspresyonundaki artış alınan matür oosit sayısını artırarak IVF-ET başarısına katkı sağlayabilir.

Anahtar kelimeler: Kötü over yanıtı, Survivin, IVF

COMPARISON OF EFFECTS OF MILD AND HIGH DOSE OVARIAN STIMULATION PROTOCOLS ON LUTEINIZED GRANULOSA CELL SURVIVINE EXPRESSION, EMBRYO QUALITY, AND PREGNANCY RATE IN POOR RESPONDER PATIENTS

ABSTRACT

Objective: To compare the effect of mild and high dose ovarian stimulation protocols on granulosa cell apoptotic activity by measuring survivin gene expression and in- vitro fertilisation (IVF) outcome in poor responder.

Material and Methods: The Study included 30 patients with poor ovarian response who have used either low (group 1, n:11) and high dose gonadotropins (group 2, n:19) and 11 patients with normal ovarian response.

Patients in the group 1, were given 100 mg of clomiphene daily for five days, starting from cycle day 2-3, followed by administration of 187,5 IU recombinant follicle stimulating hormone (rFSH) +75 IU luteinizing hormone (LH), patients in the group 2, were given 375 IU FSH + 75 IU LH starting from cycle day 2-3. When one or more follicles reached 14 mm in size, gonadotropin relasing hormone (GnRH) antagonist 0.25mg, was introduced. Patients with normal ovarian response were given 225 IU FSH+75IU LH. When at least two follicles reached >18 mm in size, 250 μg of recombinant human chorionic gonadotropin (hCG) was administered and oocytes were retrieved approximately 36 hours after hCG administration. Survivin gene expression was determined by real time polymerase chain reaction (PCR) in the granulosa cells.

Result: There was no differences in the antral follicle count, hCG day estradiol (E2) levels, hCG day progesterone (P4), number of aspirated follicles, oocytes retrieved and the mature oocytes between group1 and group 2 but these parameters were higher in patients with a normal ovarian response. The time of the stimulation were similar in group 1, group 2 and control group. There were no difference in fertilization rates, number of transferred embryos and clinical pregnancy between group 1, group 2 and control group. There was no differences in the number of embryos between group1 and group 2, but was higher in patients with a normal ovarian response.

There was no statistically significant difference between group 1 and 2 with regard to survivin expression ($p>0,05$). Survivin levels were found to be higher in group 2 compared with control group ($p<0,05$) and the group 1 was significantly lower levels of survivin expression than control group ($p<0,05$). The gene expression level of survivin was not significantly different in patiens from whom mature oocytes were obtained than those were not. The gene expression level of survivin was similar in pregnant and nonpregnant patients in all groups

Conclusion: The low dose gonadotrophin stimulation does not negatively affect IVF outcome, and additionally, has lower cost than high dose stimulation protocol. The use of low dose gonadotrophin stimulation increases survivin expression, albeit the trend can not reach statistical significance. The high levels of survivin, may increase the number of mature oocytes retrieved and may contribute to success of IVF. Our results should be confirmed by further studies including larger patient populations

Key Words: Poor ovarian response, Survivin, IVF

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnfertilite, çiftlerin bir yıl süre ile en az haftada iki gün korunmaksızın düzenli cinsel ilişkide bulunmasına rağmen gebe kalınamaması olarak tanımlanır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) standart tanısal protokolleri kullanarak oluşturduğu verilere göre incelendiğinde; kadına ait nedenler %40-45, erkeğe ait nedenler %30-40 oranında görülmektedir.(1) İnfertil çiftlerin %10-15'inde ise günümüzdeki mevcut standart tanısal testler ile açıklanamayan infertilite mevcuttur.

Toplumda sağlıklı çiftlerin %13-15 inde infertilite problemi bulunmaktadır (2). İn-vitro fertilizasyon (IVF) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) yöntemleri erkek faktörü infertilitesi başta olmak üzere günümüzde çeşitli nedenlere bağlı infertilitede umut olmuştur.

Normal popülasyonda gebe kalma yaşı, kadınların eğitim düzeylerinin ve kariyer isteklerinin artması ve doğum kontrol yöntemlerinin daha yaygın kullanılması sonucu giderek artmaktadır. Bunun sonucunda daha çok hasta, ileri yaşta fertilite isteği ile başvurmakta ve yardımcı üreme tekniklerinden (YÜT) yararlanan bu yaştaki hasta sayısı giderek artmaktadır. İleri yaş grubundaki hastalarda YÜT ile başarıyı etkileyen en önemli faktörlerden birisi, over rezervinin azalması sonucunda kontrollü ovaryen hiperstimülasyona (KOH) yeterli yanıt olmaması (kötü yanıt) sonucu daha az sayıda oosit elde edilmesidir. Bu hastalarda kötü yanıtın oluşmasının nedeni, yaşa bağlı olarak ortaya çıkan over rezervindeki azalmadır. Bu nedenle düşük over rezervli ileri yaş

hastalarda gebelik oranlarının artması için YÜT tedavilerinde yeni protokollere ihtiyaç duyulmaktadır.

KOH'a kötü over yanıt, tüm IVF sikluslarında % 9-24 oranında görülmekte (3) ve bu grupta başarılı gebelik oranları % 2-4 gibi düşük hızlarda bildirilmektedir (4). Yardımcı üreme tekniklerinde (YÜT) meydana gelen ilerlemelere rağmen zayıf ovaryen yanıtlı hastaların yönetimi hakkında henüz bir fikir birliğine varılamamıştır. Farklı yazarlar farklı kriterler kullanmakla birlikte KOH'a zayıf yanıt; yeterli ovaryan stimulasyona rağmen 3'ten az oosit elde edilmesi ve maksimum serum estradiol (E2) düzeylerinin 500 pg/ mL'ye eşit veya daha düşük olması olarak tanımlanabilir. European Society for Human Reproduction and Embryology/ American Society for Reproductive Medicine zayıf ovaryen yanıtı tanımlayan kriterler için bir konsensusa varmıştır. Bologna kriterleri olarak bilinen bu üç kriterden ikisinin olması zayıf ovaryen yanıt için yeterli kabul edilmiştir.

Bunlar: 1) İleri maternal yaş (>40 yaş) yada zayıf overyan yanıt için diğer risk faktörlerinin olması, 2) daha önce IVF denemesinde zayıf ovaryen yanıt öyküsünün olması (konvansiyonel ovaryen hiperstimulasyon yöntemleri ile üçten az oosit toplanmış olması), 3) anormal ovaryen rezerv testi olmasıdır (5).

Kötü ovaryen yanıt gösteren kadınların overlerindeki foliküllerin sayısındaki azalmanın, granüloza hücre sayısında ve oosit kalitesinde azalma ile birliktelik gösterdiği bilinmektedir. Granüloza hücrelerin yokluğunda primordial foliküllerden oositin in vitro gelişimi başarısızdır. Kümülüs hücreleri oosit matürasyonunda önemli rol oynar. Kümülüs hücreleri gen ekspresyonundaki herhangi bir anormal patern, anormal oosit gelişiminin nedeni ya da sonucu da olabilir (6). Granüloza hücrelerindeki apoptozis, IVF sonuçları üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir. Apoptotik granüloza hücrelerinin fazla olması boş folikül, daha az ve kalitesiz oosit oluşumu, düşük fertilizasyona ve kalitesiz embriyo gelişimine neden olmaktadır (7-8). Ayrıca, farklı over stimülasyon protokolleri apoptotik granüloza hücrelerinin sayısını etkiler (9). Gonodotropinler ve östrojen granüloza hücrelerinin apopitozisini engeller ve onların mitotik aktivitesini stimüle eder, oysa androjenler granüloza hücrelerinin ölümünü apopitosis mekanizması ile artırır.

Apoptozis (IAP) inhibitör proteini progressif apoptozis düzenlemesinde rol oynar. IAP gen ailesinin bir üyesi olan survivin hücre ölümünü etkileyen proteazlardan kaspaz-3 ve kaspaz-7'yi doğrudan veya dolaylı olarak inhibe ederek apoptozisin regülasyonuna katılır (10-11). Diğer IAP proteinlerin aksine, embriyonik ve fetal gelişim sırasında bulunan survivin, normal yetişkin dokularda saptanamayacak kadar az bulunur ve insan kanserlerinin tümünde belirgin expresse olur (12). Buna karşılık, yakın zamandaki raporlar survivinin aynı zamanda, deri, endotel hücreleri, endometriyum ve granüloza hücreleri gibi normal dokularda eksprese edildiğini göstermiştir. Yapılan çalışmalarda hücre döngüsü regülasyonu ile ilişkili bir protein ve apoptoz inhibitörü olarak hareket eden survivinin granüloza hücrelerinde önemli bir rol oynayabileceği belirtilmektedir. Bu nedenle, survivin granüloza hücrelerinin apopitozdan korunmasıyla yakından bağlantılı ve IVF-ET sonucunu etkiliyor olabileceği düşünülmektedir. (13)

Bu bağlamda çalışmamızda yardımlı üreme teknikleri sikluslarına başvuran kötü over yanıtlı kadınlardan follikül aspirayonu ile elde edilen granüloza hücrelerindeki antiapopitik survivin gen ekspresyonuna farklı over stimülasyon protokollerinin etkisinin araştırılması planlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 İNFERTİLİTE

İnfertilite, çiftlerin bir yıl süre ile haftada en az iki gün korunmaksızın düzenli cinsel ilişkide bulunmasına rağmen gebe kalınamaması olarak tanımlanır. Sağlıklı çiftlerin düzenli cinsel ilişki ile yaklaşık % 85-90'ının bir yıl içinde gebe kalabildikleri bilinmektedir. Bunun sonucunda infertilite problemi çiftlerin yaklaşık % 13-15'inde ortaya çıkar. Daha önce hiç gebelik olmamışsa primer infertilite, daha önce canlı doğumla sonuçlansın veya sonuçlanmasın en az bir gebelik olmuşsa sekonder infertilite olarak sınıflandırılabilir. Fekundabilite, bir menstruel siklusta gebe kalabilme olasılığıdır ve bu oran normal çiftler için %25'dir. Düzenli cinsel ilişki ile, gebelik oranları ilk 6 ayda % 60, ilk yıl % 84 ve ikinci yıl ise % 92'ye çıkmaktadır (2). Fekundite ise bir menstruel siklusta canlı doğum elde edebilme olasılığı olarak tanımlanır. (1)

2.1.1 İnfertilite nedenleri

Gebelik, sağlıklı oosit ve spermin reprodüktif sistemde bir araya gelebilmesi ve oluşan embriyonun uterin kaviteye ulaşıp endometriuma implante olması ile gerçekleşir. DSÖ'nün standart tanısal protokolleri kullanarak oluşturduğu verilere göre incelendiğinde; kadına ait nedenler % 40-45 (ovulatuar disfonksiyon %30-40, tubal ve peritoneal patolojiler %20–40), erkeğe ait nedenler %30–40 oranında görülür (Tablo 1) (1).

Tablo 1: İnfertilite nedenleri

Kadına ait nedenler (% 40-45)	Ovulatuar disfonksiyon (%30-40) Tubal/Peritoneal Faktör (% 20-40) Servikal ve İmmünolojik Faktörler (% 1-2) Diğer
Erkeğe ait nedenler (% 30-40)	
Açıklanamayan infertilite (% 10-15)	

2.1.1.1 Erkek infertilitesi

İnfertilite tüm erkeklerin yaklaşık % 7'sini etkilerken, infertilite nedenlerinin %30-40'ı erkek infertilitesine bağlıdır (14).

Erkek infertilite nedenleri (15)

Pre-testiküler	Edinsel endokrinopatiler Genetik endokrinopatiler GnRH üretimi veya salgılanma bozuklukları FSH, LH ve Androjen fonksiyon bozuklukları
Testiküler	Varikosel Genetik Kriptoşitizm Gonadotoksinlere maruziyet
Post-testiküler	Obstrüksiyon İmmünolojik infertilite Ejekülasyon bozuklukları Erektil disfonksiyon

2.1.1.2 Kadın infertilitesi

Ovulatuar bozukluklar

Kadına bağlı infertilitenin % 30-40'ından ovulatuar faktörler sorumludur. Aylık düzenli siklusu olan, premenstrüel dönemde meme hassasiyeti, dismenore gibi semptomu olan kadınlar tipik olarak ovulatuardır. İnfertil hastalarda ovulasyonun olup olmadığı mutlaka tespit edilmelidir. Ovulasyon bozuklukları genelde adetlerin düzensiz olması (oligomenore) veya adet görememe (amenore) ile karakterizedir (16). Tiroid hastalıkları, hiperprolaktinemi, adrenal hastalıklar, hipofizer ve ovaryen tümörler, aşırı kilo kayıpları, aşırı egzersiz, polikistik over sendromu (PKOS) ve obezite anovulasyon ile ilişkili durumlardır. DSÖ'ne göre hastalar kan gonadotropin ve östrojen düzeyine göre sınıflandırılımakta olup temel olarak üç grupta değerlendirilir.

1. DSÖ grup 1 anovulasyon (hipogonadotropik hipogonadizm): stres, aşırı egzersiz, anoreksia nervoza, izole GnRH salınım defekti ve Kallman Sendromu

2. DSÖ grup 2 anovulasyon (normogonadotropik normoöstrojenik): PKOS

3. DSÖ grup 3 anovulasyon (hipergonadotropik hipoöstrojenik): Ovaryen Yetmezlik

Korpus luteumdan düşük düzeyde progesteron üretimi veya kısa luteal faz ile olan luteal faz yetmezliğinin de ovulatuar fonksiyonun bir bozukluğu olduğu düşünülmektedir.

Tubal / Peritoneal Faktör

Tubal ve peritoneal faktörler infertil çiftlerin %30-35'inde görülmekte olup kadın infertilitesinin %20-40'ından sorumludur (1). Tuba-peritoneal infertiliteye sebep olabilecek patolojiler geçirilmiş rüptüre apendisit, ektopik gebelik, septik abortus, pelvik tüberküloz, pelvik veya tubal cerrahi, pelvik inflamatuar hastalık (PID) veya endometriozis sonrası gelişen peritubal-periovaryen adezyonlar, hidrosalpenks, tubal harabiyet ve obstrüksiyonlardır. İnfertil kadınlarda tubo-peritoneal yeterliliğin değerlendirilmesinde histerosalpingografi (HSG), selektif salpingografi, transvajinal hidrolaparoskopi ve laparoskopi kullanılabilir (1). Tubal faktörlerin tedavisi cerrahidir. Ancak YÜT'ndeki başarı oranlarının giderek artmasıyla birlikte, tubal faktör infertilitesindeki cerrahi yaklaşım endikasyonları giderek azalmaktadır (17). Fakat

hidrosalpenksi olan hastalarda IVF uygulaması öncesinde, laparoskopi ile tüplerin alınması gerekmektedir.

Servikal ve İmmünolojik Faktörler

Servikal faktörler çiftlerin % 3-5'inde infertilite nedeni olarak görülür. Preovulatuar dönemde servikal mukus miktarı ve akışkanlığı artar. Servikal mukusun yapısı, sperm geçişini etkiler. Servikal faktörün, infertilite üzerine etkisi postkoital test ile değerlendirilebilir. Ancak prognostik değeri düşük olduğu için pratikte kullanılmamaktadır. Servisit ve servikal mukustaki antikorlar da normal sperm hareketini ve canlılığını etkileyebilir. İnfertil kadınlarda otoantikor oranı fertil kadınlardan çok daha fazla bulunmuştur (18).

2.1.1.3 Diğer Nedenler

İnfertilite ile ilişkili diğer nedenler Müllerian Agenezi, Unikornuat Uterus, Uterus Didelphys, Bikornuat Uterus, Septat Uterus, Arkuat Uterus gibi konjenital uterin anomaliler, leiomyomlar, endometrial polip, intrauterin yapışıklıklar gibi edinsel uterin anomaliler, endometrial fonksiyon bozuklukları ve luteal faz defektidir.

2.1.1.4 Açıklanamayan infertilite

Açıklanamayan infertilite tanısı tam bir infertilite değerlendirmesi sonucunda infertilite nedeni olabilecek bir sebep bulunmaması ile konulur. Açıklanamayan infertilite insidansı %10-15 arasında değişmektedir (1).

Açıklanamayan infertilite tanısı koyabilmek için midluteal fazda serum progesteron düzeyi bakılarak veya endometrial biyopsi ile ovulasyonun normal olduğunun gösterilmesi, semen analizi yapılarak erkek faktörünün dışlanması, uterin kavite ve bilateral tubal geçişin normal olduğunun gösterilmesi gerekir.

Açıklanamayan infertilite standart değerlendirme metodları ile tanısı koyulamayan sperm veya oosit fonksiyon anormallikleri, fertilizasyon, implantasyon veya preembriyonel gelişim bozukluklarını içermektedir.

Açıklanamayan infertilite olgularında tedavi yaklaşımları; Bekle-gör, ovülasyon İndüksiyonu, Ovülasyon indüksiyonu+İntrauterin inseminasyon, IVF, veya ICSI tekniklerini içermektedir.

2.1.2 İnfertil çiftin değerlendirilmesi

2.1.2.1 Kadın infertilitesinin değerlendirilmesi

İnfertil bir kadının değerlendirilmesine ayrıntılı anamnez ve fizik muayene ile başlanmalıdır (19).

Anamnez: İnfertilite süresi, varsa daha önce kullanılan kontrasepsiyon yöntemleri, koitus sıklığı, varsa önceki gebelikleri, menstrual siklus düzeni ve karakteri, sistemik hastalıklar, daha önceden geçirilmiş operasyonlar, sigara, alkol ya da sürekli kullanılan ilaçlar, tiroid hastalığı, androjenik deri değişiklikleri, galaktore, pelvik veya abdominal ağrı, dismenore ve disparoni varlığı, anormal Pap-smear sonuçları, ailede erken menopoz, infertilite ve anomalili doğum öyküsü sorgulanmalıdır.

Fizik muayene: BKİ, sekonder seks karakterlerine bakılmalı, androjen hakimiyeti olup olmadığı, galaktore varlığı incelenmelidir. Pelvik muayene ve spekulum muayenesi ile anatomi mutlaka değerlendirilmelidir.

Ultrasonografi: Uterin, endometrial ve adneksiyal patolojilerin ayırıcı tanısında yardımcı olmaktadır. Ayrıca ovulasyon ve folikül takibinde de sıklıkla kullanılmaktadır (20).

Ovulasyonun değerlendirilmesi: Ovulasyon testleri direkt ya da indirekt olarak 2 gruba ayrılır. Direkt yöntemler; ovulasyonun direkt vizualizasyonunu içeren USG ve laparoskopidir. İndirekt yöntemler ise; ovulasyona eşlik eden faktörlerin tespit edilmesinden ibarettir. Bazal vücut ısısı takibi, östrojen ve LH ölçümü, servikal mukus tayini, midluteal progesteron ölçümü ve endometrial biyopsidir. Sekretuar değişiklikler ovulasyonu gösterir, normal siklus günü ile histoloji arasında 2 günden fazla fark mevcutsa luteal faz defekti için altın standart olmaktadır (21)

Tubal ve pelvik patolojilerin değerlendirilmesi: Kullanılan yöntemler Histerosalpingografi (HSG), histereskopi, sonohisterografi ve laparoskopidir. İlk tercih

edilmesi gereken yöntem HSG'dir. Konjenital anomaliler, intrakaviter yer kaplayıcı lezyonlar, yapışıklıklar ve tubal geçişin değerlendirilmesinde kullanılır. Histereskopi fertiliteye olumsuz etki eden intrauterin patolojilerin tanı ve tedavisinde kesin sonuç veren bir yöntemdir. Ofis şartlarında uygulanabilmesi ve operatif histeroskopi olarak da kullanılabilme imkanının olması avantajlarıdır.

Laparoskopi infertilite incelemelerinin son basamağını oluşturur. Diğer yöntemler ile tanı konulamayan pelvik adezyonlar ve endometriozisin tanı ve tedavisinde önemli olmasının yanında, transservikal olarak verilen metilen mavisi ile tubal patensi de değerlendirmesi açısından da kıymetlidir (19).

Servikal faktör değerlendirmesi: Servikal mukus incelemesi, post koital test ve anti sperm antikorların araştırılması günümüzde sadece gerekli vakalarda kullanılmaktadır. Rutin infertilite araştırmasında önerilmemektedir (19).

2.1.2.2 Erkek infertilitesinin değerlendirilmesi

Erkek infertilitesi için yapılacak ilk tarama, anormal ise 4-6 hafta ara ile tekrarlanan semen analizini içerir. Semen analizi için 3-6 günlük cinsel perhiz sonrası semen örneği alınmalı ve 1 saat içinde değelendirilmelidir.

Semen analizi için en düşük referans değerler: (22)

Parametreler	**En düşük referans değer**
Semen volümü (ml)	1.5 (1.4-1.7)
Total sperm sayısı (10^6)	39 (33-46)
Sperm konsantrasyonu (10^6 / ml)	15 (12-16)
Total motilite (PR+NP, %)	40 (38-42)
Progressive motilite (PR, %)	32 (31-34)
Vitalite (canlı sperm, %)	58 (55-63)
Sperm morfolojisi (normal formlar,%)	4 (3.0-4.0)
pH >7.2	

2.2 OVER REZERVİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Azalmış over rezervi, infertilitenin giderek artan önemli bir sebebidir. Over rezevi, overlerde folikülogenez ve steroidogenez fonksiyonunu yerine getirecek foliküllerin sayısını, kalitesini ve yeterliliğini tanımlamaktadır. Zahmetli ve pahalı bir infertilite tedavi programına girmeden önce over rezervinin bir tarama testi ile değerlendirilmesi önem kazanmıştır (23).

Gebelik şansının tahmini, hekimin hastalarını bilgilendirmesine ve tedavi seçeneklerini değerlendirmesine olanak sağlar. Over yanıtının tahmini, daha iyi sonuç alınabilmesi için tedavi protokolünün düzenlenmesine yardımcı olması nedeni ile de önemlidir. Ayrıca infertil bir kadında fertilite tedavisine başlanmadan önce, kadının yeterli over rezervine sahip olup olmadığının değerlendirilmesi hem klinik başarının artırılması hem de ekonomik kayıpların önlenmesi açısından önem taşır. İleri yaş, geçirilmiş over cerrahisi, şiddetli endometriozis, obezite, sigara içimi, adezyon ve frozen pelvis gibi anatomik bozukluklar, latent veya prematür ovaryan yetmezlik over rezervinde azalmaya sebep olan faktörlerdir (24). Over rezerv testlerini tüm infertil kadınlara uygulamak yerine şu özellikleri olan hastalara uygulamak gerekir : (25)

- 35 yaş üzerindeki kadınlar

- Tek overi olan veya ovaryan cerrahi geçirmiş kadınlar

- Ekzojen gonadotropin stimülasyonuna kötü cevap veren kadınlar

- Yaştan bağımsız olarak açıklanamayan infertilitesi olanlar

- Ailede erken menopoz hikayesi olanlar

- Kemoterapi yada radyasyon hikayesi olanlar

- Sigara kullananlar

Over rezerv testleri genellikle azalmış over rezervi için tarama testi olarak kullanılmaktadır. Test, IVF hastaları için standart bir stimülasyon rejiminde kötü cevabın tahmininde kullanılır. Böyle bir test basit, güvenilir ve ucuz olmalı, hastayı çok zora sokmamalıdır (23).

2.2.1 Over rezervinin değerlendirilmesinde kullanılan parametre ve testler:

2.2.1.1 Statik testler

Yaş

Bazal serum FSH

Bazal serum estradiol

Bazal serum inhibin-B

Bazal antimüllerian hormon

Bazal ovaryen hacim

Bazal antral folikul sayısı

Ovaryen stromal kan akımı

Ovaryen biyopsi

2.2.1.2 Dinamik testler

Klomifen sitrat challange test (CCCT)

GnRH agonist Stimulasyon test (GAST)

Eksojen FSH ovaryen rezerve test (EFORT)

Yaş: Modern toplumlarda, çeşitli nedenlerle kadınlar evliliği geciktirmekte ve daha ileri yaşlarda ilk gebelik girişimlerinde bulunmaktadır. Ancak, hamile kalma şansı üremenin bu döneminde azalmaya başlar.

Doğum kontrol olmadan doğal popülasyonlardan çıkarılan verilere göre, 25 yaşa kıyasla doğurganlık 35 yaşında yarı yarıya azalmaktadır. Bu nedenle, kadınlarda 35 yaş doğurganlığın belirgin halde azaldığı yaş olarak kabul edilir (26).

Over rezervinin değerlendirilmesinde ilk bakılan parametre yaştır, ancak yaş ile reprodüktif potansiyel azalmasına rağmen hem overyan folikül cevabı hem de gebelik

oranları açısından bireysel IVF sonucunu tahmin etmede kronolojik yaşın değeri sınırlıdır (23).

Bazal FSH Düzeyi: Bazal veya siklusun 3. Günü bakılan FSH düzeyi over rezervinin dolaylı bir göstergesidir. Bu foliküller tarafından üretilen inhibin-B ve estradiolün negatif feedback etkilerini yansıtmaktadır. Bazal FSH için cut-off değerleri 10 ila 25 IU /L arasında değişebilir. YÜT'inde over rezervi için bir test olarak bazal FSH düzeyinin değerlendirildiği 21 çalışmayı içeren bir meta-analizde, bazal FSH düzeyi performansının kötü ovaryan cevabı tahmin etmede orta düzeyde olduğu, buna karşın gebelik elde etme oranlarını ön görmede etkisinin az olduğu gösterilmiştir (27). Sistemik bir derlemede, Broekmans ve arkadaşları IVF'de gonadotropinlere kötü over cevabının tahmini için FSH >10 IU / L cut-off düzeylerinin % 80-90 spesifik ve % 10-30 gibi düşük bir duyarlılıkta olduğunu bulmuşlardır (28). Bazal FSH düzeylerindeki artış, yumurtalık rezervinin geç bir göstergesidir. Sadece bazal FSH ile over rezerv tahmini, infertil kadınlarda uygunsuz startejiye yol açabilir. Yüksek bazal FSH düzeyi olan hastalarda prognozun yüksek oranda olumsuz olacağı bilinmesine rağmen genellikle cut-off değerlerinin altındaki FSH düzeylerinin de sonucu yansıtacak prediktif değerinin sınırlı olduğu kabul edilmektedir. Yaş ve FSH nın tahmini değerini değerlendiren bir çalışmada; normal FSH değeri olup 40 yaş üzerinde olan hastalarda, FSH değeri anormal olan 40 yaş altındaki hastalara göre YÜT performansının daha kötü olduğu gösterilmiştir (29). Böylece yaşın oosit kalitesini yansıtırken, FSH nın oosit sayısını yansıttığı söylenebilir. Net bir cut-off değerinin olmaması ve sikluslar arası FSH ölçümlerinde değişkenliklerin olması IVF uygulamasında bazal FSH güvenilirliğini ve kullanımını sınırlamaktadır.

Bazal Estradiol Düzeyi: Çalışmalar, 3. günde yüksek E2 seviyelerinin tespit edilmesinin, elde edilen oosit sayısında ve gebelik oranlarında azalma ile birlikte olduğunu göstermektedir. Erken estradiol yüksekliği FSH düzeylerini baskılayabilir, ve azalmış over rezervini maskeleyebilir. IVF öncesi siklusta bazal estradiol seviyesi 80 pg/ml ve üzerinde olan hastalarda siklus başına daha düşük gebelik oranları ve daha yüksek iptal oranları elde edilmiştir. FSH > 15 olan hastalar dışlansa bile, yüksek bazal östradiol seviyeleri zayıf over cevabı ve daha yüksek siklus iptal oranları ile korelasyon gösterir (30).

Over rezerv testi olarak bazal östradiol seviyesinin az değeri vardır ancak siklusun 3. gününde FSH ve E2'nin birlikte ölçülmesi, tek başına FSH ölçümüne dayalı yanlış negatif sonuçların sıklığı azaltır.

İnhibin-B Düzeyi: İnhibin-B preantral ve erken antral foliküllerin granüloza hücreleri tarafından salgılanan dimerik bir peptittir. İlerleyen yaş ve azalan over rezerviyle paralel olarak inhibin-B seviyesinin azaldığı gösterilmiştir. İnhibin-B konsantrasyonundaki düşüş bazal FSH seviyesindeki yükselişten önce görülür. Böylece over rezervindeki azalmayı bazal FSH'dan daha önce gösterir (31).

Inhibin-B düzeyi düştükçe, gonadotropinlere over cevabı, alınan oosit sayısı ve gebelik oranları azalır. Bazal inhibin-B düzeyi ve over cevabı arasında bir ilişki olmasına rağmen, 40 -45 pg / mL gibi düşük eşik değerlerde bile % 60-90 duyarlılık % 40-80 spesifitesi vardır (32). Bazal inhibin-B ve YÜT sonuçları arasındaki ilişkiyi inceleyen çeşitli çalışmalarda, inhibin-B düzeyinin over rezervinin güvenilir bir ölçütü olmadığı ve gebelik için kötü bir öngörü değeri olduğu sonucuna varılmıştır (33,34).

Anti-Müllerian Hormon (AMH): Erkeklerde testiküler gelişimin başlangıcından puberteye kadar sertoli hücrelerinden, dişilerde ise daha az miktarlarda doğumdan menapoza kadar preantral ve küçük antral foliküllerin granüloza hücreleri tarafından üretilir. Sekresyon primordial folikül büyümesinin başından itibaren başlar ve folikül çapı 4-6 mm ulaşıp FSH ya cevap verme yeteneğine sahip olana kadar devam eder (35). AMH atretik foliküllerde ve teka hücrelerinde eksprese edilmez. Gonadotropinden bağımsız ekspresyonu AMH'nın siklus içinde ve sikluslar arasında çok az varyasyon göstermesi ile sonuçlanır, bu da diğer over rezerv markırlarına göre avantaj sağlar. Gebelik, over süpresyonu için GnRHa kullanımı, adet siklusunun günü AMH serum seviyelerini etkilemez (36). AMH ekspresyonu gebeliğin 36. haftasında başlar, serum seviyeleri yaşamın ilk 3-4 yılı içinde yavaş yavaş artarak ve puberteye kadar stabil hale gelir. Puberte ve menstruel siklusların başlamasından sonra serum AMH seviyeleri giderek azalır ve menopozda saptanabilir seviyelerin altına düşer. AMH 'nin primordiyal follikül alımını inhibe ettiği, böylece overdeki folikül havuzunun erken tükenmesini engellediği ve büyük preantral ve küçük antral foliküllerin FSH duyarlılığını azalttığı, böylece büyümeye devam ederek preovulatuar evreye

ulaşabilecek büyük preantral ve küçük antral follikül sayısını kontrol edebildiği bulunmuştur (37).

Yapılan çalışmaların çoğunda AMH düzeyleri ve alınan oosit sayısı arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda gonadotropinlere ovaryan cevabı belirlemede yaş, bazal FSH, inhibin-B ve estradiole göre daha iyi bir markır olduğu, ancak AFS ile karşılaştırıldığında, over cevabını tahminde aynı kapasiteye sahip olduğu gösterilmiştir (38). 1043 IVF siklusunu içeren yeni bir çalışmada AMH düzeylerinin devam eden gebelik oranları ile önemli derecede ilişkili olduğu bulunmuştur (39).

Bazal Antral Folikül Sayısı: Antral follikül sayısının kötü over yanıtı için bir belirteç olabileceği öne sürülmüş ve antral follikül sayısının bazal FSH ile karşılaştırıldığında kötü over yanıtı tahmininde yeterli bir test olduğu belirtilmiştir. AFS'nın sikluslar arası yüksek stabilitesi ve uygun maliyeti, rutin pratik için bu testi çekici yapmaktadır. Testin bir avantajı da hem düşük hem yüksek yanıt verebilecek hastaları tahmin ettirebilmesidir.

USG ile 10 mm den daha az ölçülen antral folikül sayısı yaşa bağlı düşüş gösterir (40).

Antral folikül sayısındaki azalmanın 37 yaşından önce yılda % 4.8 iken sonrasında %11.7 olduğu gösterilmiştir. Bir başka çalışmada, yıllık % 3.8 'lik bir azalma olduğu gösterilmiştir (40). IVF de kötü yanıt ile antral folikül sayıları arasında ilişki olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar vardır. IVF sonucunu tahminde AFS'nın rolünü araştıran bir çalışmada AFS $\leq$ 4 olduğunda kötü over cevabını tahminde % 67 olasılıkla belirleyici olduğu, AFS, yaş ve canlı doğum oranları arasında anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir (41). Chang ve arkadaşları tarafından IVF sikluslarında prospektif olarak yapılan bir çalışmada bazal antral folikül sayısı <4, 4-10, >10 olarak gruplanmış; bu 3 grupta sırasıyla siklus iptal oranları % 68.8, % 5.3, % 0 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada antral folikül sayısı arttıkça gebelik oranlarının arttığı gösterilmiş, AFS<4 olan olgularda gebelik elde edilmemiştir (42).

IVF sonucunu belirlemede ovaryen hacim, AFS, Bazal ve CC ile indüklenen inhibin-B ve FSH etkinliğini karşılaştıran bir çalışmada, gebelik tahmininde ise yaş ve AFS'nın diğer parametrelerden daha iyi olduğu gösterilmiştir (43). Sonuç olarak, antral folikül

sayısının infertil hastalarda yumurtalık rezervini over hacminden daha iyi yansıttığı söylenebilir.

Ovaryen Hacim: Birçok çalışma over hacminin, over rezervi ve klinik gebelik oranının bir belirteci olduğunu göstermektedir. Over hacmindeki azalmanın folikül tükenmesinin erken bir belirtisi olduğu ve ölçümünün klinik olarak yararlı olabileceği vurgulanmıştır (44). Over hacmindeki azalma daha çok menapoz sonrası ortaya çıkmakta; reprodüktif dönemde ise belirgin bir değişiklik olmamaktadır (40). Erdem ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada over hacminin aynı yaştaki infertil kadınlarda fertil kadınlara göre azalmış olduğu gösterilmiştir (45). IVF sikluslarında ultrasonografik olarak ölçülen küçük over volümlerinin kontrollü over stimulasyonuna verilen yanıt ile bağlantılı olduğu, ancak gebelik tahmininde belirleyiciliğinin zayıf olduğu gösterilmiştir (46).

Over hacmi < 3 cm3 olan kadınlarda siklus iptal oaranlarının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (47).

Ovaryen Stromal Kan Akımı: Engman ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada FSH düzeyleri normal sınırlarda bulunan olgularda hipofiz süpresyonu sonrasında transvajinal olarak ölçülen pik ovaryen stromal akım hızının, kontrollü over hiperstimulasyona verilen yanıtı ön görmede yaş, bazal E2 ve FSH/LH oranına göre daha üstün olduğunu göstermiştir (48).

3D ultrason kullanılan bir çalışmada ovaryen stromal damarlanmanın toplanan oosit sayısının daha fazla olması ve artmış gebelik oranları ile ilişkili olduğu bulunmuştur (49). Yeni bir çalışmada, erken foliküler stromal doppler sinyallerinin over cevabı ve bazal over rezerv parametreleri ile ilişkili olduğu, ancak yaş ve klinik gebelik başarısı ile korelasyon olmadığı gösterilmiştir (50).

Ovaryen Biyopsi: Folikül yoğunluğunu over korteksinde birim hacimde bulunan folikül sayısı göstermektedir. Birçok araştırmacı over biyopsisi ile primordial folikül tükenmesini incelenmiştir. Lass ve arkadaşları bazal estradiol seviyeleri, over boyutu ve foliküler yoğunluk arasındaki ilişkiyi incelemiş, artan yaş ile foliküler yoğunluğun önemli ölçüde azaldığını göstermiştir (51).

Lambalk ve arkadaşları yaptığı çalışmada over rezervini göstermede faydası olmadığını göstermiştir (52). İnvaziv bir işlem olması, over korteksinde folliküllerin homojen olarak dağılmaması ve fertilite üzerine olumsuz etkileri olabileceğinden rutin olarak önerilmemektedir.

Klomifen Sitrat Challange Test (CCCT): Siklusun 3. günü FSH seviyesinin ölçülmesini takiben siklusun 5 ile 9. günleri arasında 100 mg oral klomifen sitrat verilir ve siklusun 10. gününde tekrar FSH ölçümü yapılır. 10.günde FSH'nın bazal değere göre artmış olması azalmış over rezervinin göstergesi olarak değerlendirilir. Hormonal değerlerin yorumlanmasında farklı yaklaşımlar mevcuttur. Loumaye ve arkadaşları, sınır olarak 3. gün ve 10. gün FSH toplamının ≥26 IU/l olması halinde testi pozitif kabul ederken, Tanbo ve arkadaşları sadece 10. gün FSH değerinin ≥12 IU/L olmasını tanı için yeterli bulmuştur (53). Anormal test sonuçlarının hem spontan sikluslardaki hem de IVF sikluslarındaki gebelik oranlarının düşük olması ile ilişkili olduğu bulunmuştur. CCCT normal olan hastalar kontrollü ovaryan stimulasyona daha iyi yanıt verdiği; ayrıca CCCT'in bazal FSH'dan daha sensitif bir test olduğu gözlenmiştir (54).

GnRH Agonist Stimulasyon Testi (GAST): Siklusun 2-3. günü GnRH agonistlerinin uygulanması FSH, LH ve estradiol artışına neden olur. Estradiol cevabı over rezervinin dolaylı bir göstergesidir. Eğer foliküler havuz küçükse, GnRH agonistleri az estradiol artışına yol açabilir. Yapılan bir prospektif çalışmada GnRH agonist uyarısına alınan yüksek estradiol yanıtının YÜT sikluslarında ovaryan cevap ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (55). GAST testinin over rezervini belirlemek açısından diğer testlere üstünlüğü olmadığı saptanmıştır. Uygulamadaki zorluk ve pahalı bir test olması nedeni ile pratik kullanımda yer bulamamaktadır.

Eksojen FSH Ovaryen Rezerv Testi (EFORT): Bu testte siklusun 3. gününde 300 IU rekombinant FSH verilmesinden önce ve 24 saat sonra FSH, estradiol ve inhibin düzeyleri tespit edilir. Bazal FSH ve estradiol düzeylerindeki artış YÜT' inde siklus içinde over cevabını tahmin etmek için kullanılır. EFORT' nin prediktif değerini araştıran prospektif bir çalışmada, estradiol seviyelerinde en az 30 pg / mL artışın over cevabını belirlemede bazal FSH dan daha iyi olduğu gösterilmiştir (56).

EFORT karmaşık, pahalı ve zaman alıcı olduğu için, over cevabı veya gebelikte prediktif değeri diğer belirteçlerden çok farklı olmadığı için rutinde kullanımı önerilmez.

2.3. KÖTÜ OVER YANITI

Modern toplumlarda kadınların eğitim düzeylerinin ve kariyer isteklerinin artması ve doğum kontrol yöntemlerinin daha yaygın kullanılması ile birlikte hem evlilik yaşı hem de ilk gebelik yaşı giderek yükselmektedir. Oysa kadında fertilite 30'lu yaşlardan itibaren azalmakta; bu azalma 37 yaştan sonra belirgin olarak ortaya çıkmaktadır. İnfertilite insidansı 20-24 yaş arası % 6 iken, 35 yaş üstünde % 30'a kadar çıkmaktadır (1).

Normal populasyonda gebe kalma yaşının artmasına paralel olarak daha çok hasta, ileri yaşlarda infertilite problemleri nedeniyle YÜT'ne başvurmaktadır. Bunun sonucunda YÜT' den faydalanan olgularda düşük over rezervli ileri yaş hastaların oranları artmaktadır.

İleri yaş grubundaki hastalarda YÜT ile başarıyı etkileyen en önemli faktörlerden birisi, over rezervinin azalmasına bağlı olarak kontrollü ovaryen hiperstimülasyona yeterli yanıt olmaması (kötü yanıt) sonucu daha az sayıda oosit elde edilmesidir. Azalmış over rezervi, ileri yaş infertil populasyonda başarıyı etkileyen önemli bir faktördür. Bu nedenle düşük over rezervli ileri yaş hastalarda gebelik oranlarının artması için YÜT tedavilerinde yeni protokollere ihtiyaç duyulmaktadır.

Genç ama over rezervi düşük kadınlarda erken menopoz, aile öyküsü, geçirilmiş kanser tedavisi (kemoterapi ve radyoterapi), pelvik cerrahi, endometriyozis öyküsü ve sigara kullanımı, etyolojik faktör olarak yer almaktadır.

YÜT içinde en sık olarak kullanılan tedavi, in vitro fertilizasyondur. IVF, ekzojen gonadotropinlerle sağlanan kontrollü ovaryen hiperstimülasyon ile overlerden foliküllerin uyarılması ve oluşan multipl foliküllerin aspire edilerek içindeki oositlerin toplanması ile gerçekleşir. Oosit elde edilen hastalarda laboratuvar ortamında gametler başta ICSI olmak üzere çeşitli yöntemler kullanılarak fertilize edilmekte; fertilize olan ovum yine uygun laboratuvar şartlarında bekletilerek klivaj olan embriyolar klivaj

aşamasında (2 ya da 3. gün) ya da blastosist aşamasında uterusa transfer edilmektedir (1). IVF tedavisinin ilk aşamasında overlerin uyarılması için çeşitli KOH protokolleri kullanılmaktadır. Bu protokollerde amaç, gonadotropinler kullanılarak overlerin uyarılması; bu esnada yükselen seks steroidlerine bağlı olarak erken LH boşalımının ise GnRH analogları kullanılarak önlenmesidir. Gonadotropinler ile overlerin stimülasyonu sonucu oluşan multifoliküler gelişim, çok sayıda oosit ve embriyonun elde edilmesine neden olmakta; çok sayıda embriyo içinden en iyi kalite embriyonun seçilerek transferi ise YÜT'te başarıyı arttırmaktadır. Ancak % 9-24 arasında bir hasta grubunda ise yeterli miktarda gonadotropin ile tedaviye rağmen uygun sayıda folikül gelişmemekte ve bu hastalar "kötü ovaryen yanıtlı" olarak adlandırılmaktadır. Bu hasta grubunda daha fazla siklus iptali ve daha düşük gebelik oranları bildirilmektedir (4). Yeterli sayıda ve kalitede embriyo transferine rağmen gebelik elde edilemeyen tekrarlayan implantasyon başarısızlığı gösteren hastalar dışında kötü over yanıt gösteren hastalar bugün için tedavi sonuçları en kötü ve en çok araştırma yapılan hasta grubunu oluşturmaktadır.

2.3.1 Hangi hastalar 'kötü yanıtlı' olarak değerlendirilir?

Zayıf overyan yanıt ilk kez Garcia ve arkadaşları tarafından 1983 yılında tanımlanmıştır (57). O zamandan beri, kötü overyan yanıtın patogenezi, klinik karakterizasyonu ve olası tedavisi ile ilgili çeşitli yayınlar vardır (58-60).

Evrensel bir tanım eksikliği olmasına rağmen yayınlanan çalışmalarda kötü over yanıtlı hastaların seçiminde farklı kriterler kullanılmıştır. En sık ileri yaş, anormal over rezerv testleri ve önceki siklusta kötü ovaryan yanıt gibi kriterler kullanılmış, ancak her kriter için farklı eşik değerler tercih edilmiştir. (Tablo-2)

KOH'a kötü over yanıt, tüm IVF sikluslarında % 9-24 oranında görülmekte ve bu grupta (3) başarılı gebelik oranları % 2-4 gibi düşük hızlarda bildirilmektedir (4). Yardımla üreme tekniklerinde meydana gelen ilerlemelere rağmen zayıf ovaryan yanıtlı hastaların yönetimi hakkında henüz bir fikir birliğine varılamamıştır. Farklı yazarlar farklı kriterler kullanmakla birlikte kontrollü ovaryen hiperstimulasyona zayıf yanıt; yeterli ovaryan stimulasyona rağmen 3'ten az oosit elde edilmesi ve maksimum serum estradiol düzeylerinin 500 pg/ mL'ye eşit veya daha düşük olması olarak tanımlanabilir.

European Society for Human Reproduction and Embryology/ American Society for Reproductive Medicine zayıf ovaryen yanıtı tanımlayan kriterler için bir konsensusa varmıştır. Bologna kriterleri olarak bilinen bu üç kriterden ikisinin olması zayıf ovaryen yanıt için yeterli kabul edilmiştir.

Bunlar:

1) İleri maternal yaş (>40 yaş) yada zayıf overyan yanıt için diğer risk faktörlerinin olması,

2) Öncedeki zayıf ovaryen yanıt öyküsünün olması (konvansiyonel ovaryen hiperstimulasyon yöntemleri ile üçten az oosit toplanmış olması),

3) Anormal ovaryen rezerv testi olmasıdır (5).

İleri maternal yaş veya anormal ovaryan rezerv test yokluğunda, maksimal stimülasyona rağmen iki kez kötü ovaryan yanıt oluşması da bu hastalara "kötü over yanıtlı" demek için yeterlidir.(5)

Tablo 2. Zayıf yumurtalık cevabı tanımlamak için kullanılan kriterler (5)

Garcia-Velasco et al. (2000)	En az bir önceki siklusta 18 mm den büyük 3 ten az folikül olması
Ferraretti et al. (2000)	En az önceki iki siklusun iptali veya ≤ 3 oosit alınması
Akman et al. (2001)	1) 3. gün FSH > 15 mIU / ml 2) hCG günü E2 < 500 pg / ml 3) < 4 matür oosit Nedeni ile iki başarısız IVF denemesi
Weissman et al. (2003)	Bir önceki siklusta en az birinin olması: < 5 oosit 16 mm veya daha büyük ≤ 3 folikül hCG günü E2 < 500 pg / ml
Goswami et al. (2004)	Geleneksel uzun agonist protokolüne kötü over yanıtı nedeniyle başarısız IVF denemeleri
Kolibianakis et al. (2004)	≤ 5 oosit alınması ve 3. Gün FSH > 12 mIU / ml olması nedeni ile bir ya da daha fazla IVF başarısızlığı
Cheung et al. (2005)	Önceki siklusta uzun agonist protokolü ile ≤ 3 oosit alınması veya tekrarlanan 3. Gün FSH' nın > 10 IU / l olması
Garcia-Velasco et al. (2005)	En az bir önceki siklusta > 16 mm olan ≤ 4oosit alınması ve / veya E2 düzeyi ≤ 500 pg / ml olması nedeni ile siklus iptali
Massin et al. (2006)	Aşağıdaki kriterlerden ikisinin olması: 1) Önceki kötü over yanıtı (hCG günü E2 <1200 pg/ml ve ≤ 5 oosit) 2) 3. Gün FSH >12 3) 3. Gün inhibin B < 45 pg / ml
Aletebi (2007)	Günlük 300 IU gonadotropin ile ≥ 15 gün boyunca uyarılması sonucu ≤ 4 oosit alınması
Schoolcraft et al. (2008)	Aşağıdaki kriterlerden en az biri: 3.Gün>10 FSH mIU / ml yaş > 41 yaş AFC< 6 İptal bir önceki döngü Bir önceki kötü over yanıtı (E2<500 pg / ml, ve / veya < 6 oosit)
Barrenetxea et al. (2008)	Yaş ≥ 40 ve 3. Gün FSH ≥ 10 mIU/ml
Fa´bregues et al. (2009)	Kötü over yanıtı nedeni ile ilk IVF siklusunun iptal edilmesi
Yarali et al. (2009)	Anormal over rezerv testi veya önceki siklusa kötü over yanıtı
Demirol and Gurgan (2009)	En az iki siklusta kötü over yanıtı ve FSH >15 IU/l
Tehraninejad et al. (2009)	< 3 matür follikül nedeni ile en az bir siklusun iptal edilmesi

Etyoloji

KOH'a kötü over yanıtı daha çok anne yaşı ile ilişkili olmasına rağmen, düşük over rezervi olan genç kadınlarda da görülür. Genetik ve bazı edinsel faktörler over cevabını etkileyebilir. Bu faktörler mevcut folikül havuzuna veya bu folikülün gonadotropinlere duyarlılığını etkileyerek hareket ederler.

Bu etyolojik faktörler (61):

- Azalmış over rezervi (Yaş, Endometriosiz, Cerrahi, Kemo-radyoterapi, İmmünolojik hast.)
- Granüloza hücrelerinde azalmış FSH reseptör sayısı
- FSH bağlanması sonrası defektif sinyal iletimi
- Foliküler sıvıda FSH reseptör bağlanma inhibitörünün varlığı
- Gonadotropinlerin yayılımını sağlayan vasküler ağın yetersizliği
- Granüloza hücre otoantikorlarının varlığı
- FSH reseptör gen pleomorfizmi,
- Dolaşan gonadotrophin surge attenuating factor (GnSAF) biyoaktivitesinin azalması
- Granüloza hücrelerinde azalmış aromataz aktivitesi

2.3.2 Kötü overyan yanıtlı hastaların yönetimi

Standart gonadotropin stimülasyon protokolü uygulanan infertil kadınların önemli bir kısmı ovaryen stimülasyona kötü cevap vermektedir. hMG ile standart over stimülasyon protokolü uygulanan kötü over yanıtlı hastalarda gebelik oranları normal yanıtlı hastalar ile karşılaştırıldığında daha azdır. Standart doz over stimulasyonu ile yetersiz foliküler gelişim ve düşük gebelik oranları kötü over yanıtı için önemli iki kriterdir. Kötü over yanıtlı hastalarda over yanıtını artırmak amacıyla farklı tedavi protokolleri kullanılmaktadır. (Tablo 3) (62-64).

Tablo 3: Kötü Over Yanıtlı Hastalarda Tedavi Seçenekleri

- Gonadotropin Dozunun Artırılması
- Rekombinant FSH Kullanımı
- Corifollitropin alfa kullanımı
- Letrozole eklenmesi
- GnRH Agonist stop protokol kullanımı
- Mikrodoz GnRH agonist flare protokol kullanımı
- GnRH antagonist protokol kullanımı
- Luteal Fazda FSH başlanması
- Rekombinant LH Kullanımı
- Mild Protokol
- Kortikosteroid kullanımı
- L- Arginin kullanımı
- GH veya GH-RH ilavesi
- Asisted Hatching
- Oosit vitrifikasyon

Gonadotropin Dozunun Artırılması

Çoğu yazara göre, kötü yanıtlı hastalarda over stimülasyonu için başlangıç gonadotropin dozu 300 IU / gün dür. Standart gonadotropin stimülasyonuna cevap alınamaması durumunda sıklıkla ilk başvurulan yöntem ilaç dozunu artırmaktır. Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalarda gonadotropin dozunun artırılmasının ovaryen yanıta ve reprodüktif sonuçlara etkisinin kısıtlı olduğu gösterilmiştir. Ben-Rafael ve arkadaşları, normal yanıtlı hastalarda yüksek doz gonadotropin kullanımının kötü oosit kalitesi ile ilişkili olduğunu bildirdi (65). Land ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 225IU hMG/gün kullanıp kötü ovaryen yanıt alınan hastalara bir sonraki siklusta 450 IU hMG/gün verilmiş. Yüksek doz gonadotropin kullananıldığında foliküler gelişim ve toplanan oosit sayısı anlamlı olarak yüksek bulunurken, embriyo sayısı benzer, siklus başına gebelik oranı ise daha düşük bulunmuş (66).

Berkkanoglu ve arkadaşları 300 IU, 450 IU ve 600 IU gonadotropin dozu ile stimülasyon yapılan hastaları karşılaştırmış ve alınan oosit, embriyo sayısı ve gebelik oranları açısından hiçbir farklılık bulunmamış (67).

Genel olarak, kötü over yanıtlı hastalarda ovaryen stimülasyon için yüksek doz gonadotropin kullanımının sonuçları iyileştirdiğini gösteren kesin kanıtlar yoktur.

Rekombinant FSH Kullanımı

Rekombinant FSH (rFSH) kullanımının üriner FSH ve hMG kullanımına göre daha iyi sonuçlar ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (68).

Raga ve arkadaşları kötü over yanıtlı hastalarda rFSH ile üriner FSH kullanımını karşılaştırmış, rFSH kullanan grupta toplam gonadotropin dozu daha düşük ve stimülasyon süresi daha kısa bulunmuştur. Ayrıca daha fazla oosit ve embriyo elde edilmiş ve gebelik ve implantasyon oranları daha yüksek bulunmuştur (69).

Ancak bu ümit verici sonuçlar başka araştırmacılar tarafından doğrulanmadı. Eskanda ve arkadaşları rFSH ile hMG yi karşılaştırmış foliküler gelişim, toplanan oosit sayısı ve gebelik oranlarını benzer olarak bulmuştur (70).

Yakın zamanda yapılmış 42 randomize kontrollü çalışmayı içeren bir derlemede rFSH ile diğer gonadotropinlerin kullanımı karşılaştırıldığında canlı doğum oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirtilmiştir (71).

Kötü yanıtlı hastalarda rFSH kullanımının daha iyi sonuçlar ile ilişkili olduğuna dair kesin bir kanıt yoktur, daha kesin bir sonuç için büyük randomize çalışmalar gereklidir.

Corifollitropin-alfa kullanımı

Prematüre LH artışını önlemek için GnRH antagonisti kullanımı ile yeni bir gonadotropin olan ve yedi gün boyunca folikül uyarımını sağlayan uzun bir yarılanma ömrüne sahip corifollitropin alfa kullanılabilir. Bu uzun etkili gonadotropin kullanımı ile erken foliküler fazda küçük antral foliküller önemli ölçüde daha yüksek FSH seviyelerine maruz kalır ve azalmış over rezervi serum FSH konsantrasyonundaki hızlı artıştan yararlanabilir (63).

Polyzos ve arkadaşları GnRH antagonisti ile birlikte Corifollitropin alfa, ardından rFSH' nın kullanıldığı protokol ile konvansiyonel stimülasyon protokollerinin, klinik sonuçlar açısından benzer olduğunu rapor etmiştir (72). Son olarak, retrospektif pilot bir çalışmada GnRH antagonisti protokolünde hMG ile Corifollitropin alfa kombinasyonunun kötü yanıtlı genç hastalarda daha iyi gebelik oranları ile sonuçlandığı belirtilmiş (73).

Ancak bu orijinal over stimülasyon rejimini doğrulamak için randomize kontrollü çalışmalara gerek vardır.

Letrozol eklenmesi

Son yıllarda aromataz inhibitörlerinin yardımcı üreme tekniklerindeki etkinliğini araştıran çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Letrozol ilk olarak ovulasyon indüksiyonunda gonadotropin dozunun azaltılması amacıyla kullanılmıştır. Elde edilen veriler, kötü over yanıtlı hastalarda aromataz enzim inhibisyonunun FSH'na karşı foliküler yanıtı artırdığını göstermiştir. Yapılan bir çalışmada gonadotropinlere letrozol eklenmesinin preovulatuar folikül sayısını artırdığı, ancak gebelik oranlarına etki etmediği gösterilmiştir (74). Goswami ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada letrozol ve uzun dönem GnRH agonist protokolü uygulanan kötü over yanıtlı hastalar karşılaştırılmış, letrozol kullanan grupta kullanılan gonadotopin dozu düşük bulunmasına rağmen gebelik oranları her iki grupta benzer bulunmuş ve daha düşük maliyetli bir tedavi olduğu ileri sürülmüştür (75).

Yakın zamanda yapılmış çalışmalardan biri daha önceki IVF sikluslarında indüksiyona zayıf over yanıtı gelişen hastalar üzerindedir. Bu çalışmada gruplardan birine tek başına hMG, diğer gruba ise hMG ve letrozol verilmiştir. Letrozol verilen grupta daha düşük hMG dozuna ihtiyaç duyulmuş, daha az stimulasyon süresi ve istetistiksel olarak anlamlı olmasa da daha yüksek canlı doğum oranları izlenmiştir (76).

GnRH Agonist Stop Protokol Kullanımı

GnRH agonisti midluteal fazda başlanır, mens (ovaryan süpresyon) ile birlikte kesilir, sonrasında yüksek doz gonadotropin başlanır. Amaç hipofizer gonadotropin üretimini baskılayarak prematüre LH pikini önlemektir. Garcia-Velasco ve arkadaşlarının yaptığı

çalışmada uzun GnRH agonist protokolü ile GnRH agonist stop protokolü karşılaştırılmış, GnRH agonist stop protokolü uygulanan grupta daha fazla oosit toplanmış ve daha az gonadotropin kullanılmıştır. Ancak benzer gebelik ve implantasyon ve benzer siklus iptal oranları bulunmuştur (61). Dirnfeld ve arkadaşlarının yaptığı benzer bir çalışmada ise GnRH agonist stop protokolü uygulanan grupta siklus iptali daha fazla olmakla birlikte benzer gebelik oranları bulunmuştur (78). Bu sonuçlar, GnRH agonist stop protokolünün kötü over yanıtlı hastalarda reprodüktif sonuçlara etkisinin sınırlı olduğunu göstermektedir.

Mikrodoz GnRH Agonist Flare-up Protokol

Mikrodoz GnRH agonist flare protokolü, 21 gün oral kontraseptif tedavisi sonrası, 24. günde düşük doz GnRH agonist (leuprolide asetat 40 mikrogram), bundan 2 gün sonrada yüksek doz gonadotropinin (300-450 IU) başlandığı over stimülasyonu ile karakterizedir. Surrey ve arkadaşları tarafından yapılan prospektif çalışmada uzun GnRH agonist ve mikrodoz GnRH agonist protokolü karşılaştırılmış. Mikrodoz GnRH agonist protokolü uygulanan grupta siklus iptal oranları anlamlı olarak daha az ve klinik gebelik oranlarıda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (79). Mohsen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada mikrodoz GnRH agonist protokolü ile mild stimülasyon protokolü karşılaştırılmış. Her iki grupta siklus başına klinik gebelik oranları, toplanan oosit sayısı, fertilize oosit sayısı, transfer edilen embriyo sayıları benzer olarak bulunmuştur (80).

Bazı çalışmalarda kötü over yanıtlı hastalarda mikrodoz GnRH agonist flare protokolü ile daha iyi reprodüktif yanıtlar elde edilebileceğine yönelik bulgular olmasına rağmen geniş randomize çalışmalara gereksinim vardır.

GnRH Antagonist Protokol Kullanımı

GnRH antagonistlerinin stimülasyon protokollerine eklenmesi, kötü yanıtlı olgular için önemli bir zaman olan erken foliküler fazda süpresyon yapmaksızın prematür LH artışlarının önlenmesini sağlamıştır. Kötü over yanıtına sahip bazı hastaların uzun GnRH agonist protokolü sırasında aşırı süpresyona bağlı olarak yanıt vermediği gözlenmiştir. GnRH agonist kullanılan sikluslarda 3.gün FSH ve LH seviyeleri aşırı baskılanmış olmasına rağmen, GnRH antagonist sikluslarında ovaryan stimulasyona

başlandığında FSH seviyesi normal değerler arasındadır. Over rezervi düşük olan kötü yanıtlı olgularda bu baskılanmamış endojen FSH ve LH seviyeleri dolasımdaki gonadotropin havuzuna anlamlı katkı sağlayabilir (81).

Antagonist protokollerde, foliküler faz GnRH agonisti ile baskılanmadığı için foliküllerin daha doğal yollardan seçilmeleri mümkündür. Antagonist ile tedavi süresi boyunca prematüre luteinizasyon da belirgin olarak azalır (82). Antagonistlerin kullanımında, stimulasyon süresi daha kısa, kullanılan gonadotropin miktarı daha az, ancak agonist sikluslarına göre daha düşük E2 seviyeleri görülür. Bu da daha düşük implantasyon ve gebelik oranlarına neden olabilir. Ancak uzun süreli ve yüksek doz FSH kullanımı ile E2 seviyelerinde fark olmadığı görülmüştür (83).

Fasouliotis ve arkadaşları uzun agonist protokolü ile gebe kalamayan 53 hastaya antagonist protokolü uygulamış, antagonist siklusunda embriyo sayısı, devam eden gebelik oranları anlamlı olarak yüksek bulunmuş, implantasyon ve gebelik oranları ise yüksek olmakla birlikte anlamlı fark saptanmamıştır (84).

Gonadotropinlerin kullanıldığı GnRH antagonist sikluslarını içeren bir meta-analizde GnRH agonist siklusları ile karşılaştırıldığında klinik sonuçlarda farklılık saptanmamıştır. Ancak antagonist sikluslarında anlamlı olarak daha yüksek kümülüs oosit kompleksi elde edilmiştir (85).

Demirol ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada GnRH antagonist ve mikrodoz flare-up protokolü uygulanan iki grup karşılaştırılmış, mikrodoz flare-up protokolünde daha az gonadotropin kullanılmış, implantasyon oranı, toplanan matür oosit sayısı anlamlı olarak daha fazla saptanmıştır. Klinik gebelik oranlarıda istatistiksel olarak anlamlı olmasada yüksek bulunmuştur (86).

Kötü over yanıtlı hastalarda antagonistlerin, diğer protokollere göre daha iyi sonuç verdiğine dair kanıtlar yetersizdir ve daha geniş randomize çalışmalara gerek vardır.

Luteal Fazda FSH Başlanması

Başka bir alternatif yaklaşım, foliküler yanıtı arttırmak için FSH'nın geç luteal fazda başlamasıdır. FSH nın geç luteal fazda başlanması gelişen folikül sayısını artırabilir.

Yapılan çalışmalarda, luteal fazda FSH başlanan kötü over yanıtlı hastalarda elde edilen metafaz II aşamasındaki oosit sayısında anlamlı bir artş olduğu gösterilmiştir (87).

Rekombinant LH Kullanımı

Yardımlı üreme teknikleri ile gebelik elde etmek için gerekli ve optimal LH dozu henüz tespit edilmemiştir. IVF hastalarında düşük periovulatuar LH düzeyleri azalmış fertilizasyon ve artmış erken gebelik kaybı ile ilişkilidir (88). Kötü yanıtlı hastalarda erken folikülogenez fazında LH kullanımının oosit maturasyonu ve fertilizasyonu üzerinde yararlı etkisi olabilir. Ancak veriler LH kullanımının gebelik sonuçlarına yararlı bir etkisi olmadığını göstermektedir (89).

Mild protokol

GnRH antagonisiti ile birlikte veya tek başına düşük dozlarda Gonadotropinler ile oral ajanların (anti-östrojenler veya aromataz inhibitörleri) kombine kullanılmasını içermektedir. Mild stimülasyonda amaç genellikle 1-5 arasında maksimum 5 oosit elde edilmesini ifade eder. Hafif stimülasyon ile aynı sayıda oositin alındığı konvansiyonel stimülasyon karşılaştırıldığında hafif stimülasyon ile daha yüksek implantasyon oranları olduğu gösterilmiştir. Bu gözlemler hafif over stimülasyonunun oosit ve embriyo kalitesi açısından daha iyi olduğunu ve endometrial reseptiviteyi artırdığını göstermektedir (90,91). Bu bulgular çok sayıda oosit elde edilerek daha kaliteli sonuçlar elde edileceği düşüncesine karşı çıkarak; ovaryan stimülasyon sonrası az sayıda oosit elde etme korkusunun yersiz olduğunu gösteriyor. Gerçekte, oosit sayısı ile gebelik oranlarını araştıran çalışmaların çoğu, oosit sayısının artmasının bir noktadan sonra gebelik oranı üzerine daha fazla etki etmeyip eğrinin sabitlendiğini gösteriyor (92). Az oosit almanın bir dezavantajı bir sonraki siklusta kullanılmak amacı ile dondurulup saklanan oosit sayısının az olmasıdır. Bununla birlikte, daha önce de tartışıldığı gibi düşük ovaryan stimülasyon ve konvansiyonel stimülasyon protokolü ile elde edilen iyi kalitedeki oosit sayısı benzer miktardadır ve bu yüzden benzer oranda gebelik oluşur.

Kolibianakis ve arkadaşları yüksek bazal FSH düzeyi olan hafif over stimülasyonu uygulanan hastalarda daha düşük gebelik oranları olduğunu göstermiştir (93).

Yoo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada mild protokol ve konvansiyonel stimülasyon karşılartırılmış. Mild protokol uyglanan hastalarda toplamda kullanılan gonadotropin dozu, toplanan oosit sayısı daha az olmasına rağmen klinik gebelik oranı, siklus iptal oranları ve transfer edilen embriyo sayısı açısından iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (94).

Yapılan bir çalışmada mild protokol ve mikrodoz GnRH agonist protokolü karşılaştırılmış siklus iptal oranları, fertilizasyon ve klinik gebelik oranları her iki gruptada benzer bulunmuş olmasına rağmen, endometrial kalınlık, toplanan matür oosit sayısı ve implantasyon oranı mild protokol uygulanan grupta anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda stimulasyon süresi ve kullanılan gonadotropin dozuda mild protokolde daha az bulunmuştur (95).

Ancak mild stimülasyon ile ilgili çalışmalar halen devam etmektedir.

Kortikosteroid kullanımı

Deksametazonun, doğrudan izoformu olan 11 beta-hidroksisteroid dehidrogenaz aracılığı ile veya dolaylı olarak serum GH ve intrafoliküler IGF-1 düzeylerini artırarak, foliküler gelişimi ve oosit matürasyonunu etkileyebileceği ileri sürülmüştür. İmmünsüpresif etkisi ile endometrial çevreyi düzenlediği ve implantasyon oranlarını artırdığı ileri sürülmektedir. Yapılan bir çalışmada normal FSH seviyelerine sahip kötü over yanıtlı hastalarda testesteron kullanımının yararlı olabileceği sonucuna varılmış (96). Ancak bir başka çalışmada plazma testesteron sevilerindeki artışın antral folikül sayısında önemli bir artışa yol açmadığı gösterilmiştir (97).

Kötü over yanıtlı hastalarda transdermal testesteron kullanımının değerlendirildiği 3 çalışmayı içeren bir meta-analizde; transdermal testesteron kullanımının canlı doğum oranlarını önemli oranda artırdığı ve kullanılan FSH dozunu azalttığı gösterilmiştir. Toplanan oosit sayısı ve kalitesi üzerinde etkisi gösterilememiştir (98).

Ancak bu meta-analiz klinik heterojenite ve az sayıda çalışmayı içermesi nedeniyle dikkatle yorumlanmalıdır ve gelecekte daha iyi düzenlenmiş çalışmalara ihtiyaç vardır.

L-Arginin Kullanımı

İnsanlarda, doğal ve IVF sikluslarında büyük ve matür folikül seçiminde artmış vaskülarizasyonun kritik rol oynadığı görülmektedir. L-Arginin Nitrik oksit (NO) kaynağı olarak potansiyel bir vazodilatatördür. NO, L-Argininden NO-Sentaz enzimi tarafından üretilir. NO'in foliküler olgunlaşma ve seçiminde rol oynadığı düşünülmektedir. Kötü over yanıtlı hastaların karşılaştırıldığı prospektif randomize bir çalışmada, hastalara GnRH-agonist protokolü uygulanmış ve oral olarak L-arginin verilmiştir. L-arginin verilen grupta toplanan oosit sayısı önemli oranda yüksek ve siklus iptal oranları daha düşük iken, gebelik oranlarında fark saptanmamıştır (99).

GH veya GH-RH ilavesi

GH ovaryen steroidogenezi, foliküler gelişimi stimüle eder ve FSH'ya overyan cevabı artırır. GH gonodotropinlerin granüloza hücreleri üzerindeki etkisini ovaryan IGF-1 sentezini artırarak gösterir. IGF-1, FSH ile sinerjik etki göstererek FSH'nın granüloza ve teka hücreleri üzerindeki etkisini artırır (100).

Genel olarak kullanılan GH dozu subkutan olarak 4-12 IU dir. Yapılan bazı çalışmalarda daha yüksek sayıda oosit toplandığı ve gebelik oranlarının arttığı gösterilmiş (101,102).

Ancak GH nun adjuvan tedavi olarak kullanıldığı ovulasyon indüksiyonu yapılan kadınları içeren tüm çalışmaların meta-analizinde, folikül ve oosit sayısı veya kullanılan gonadotropin miktarında anlamlı bir fark olmadığı bulundu (103).

Böylece yayınlanmış veriler kötü yanıt protokollerinde GH ya da GH-RH ilavesinin faydalı olduğunu desteklemez.

Asisted Hatching

İn vitro koşullarda fertilizasyon sonrasında zona pellucidada elastisite kaybı olabilir ve implantasyon sırasında zona pellucida da oluşan doğal yarıklanma işlemi engellenebilir. Bu nedenle Asisted Hatching denilen zonayı yarıklama işlemi yapılabilir. Birden fazla tüp bebek başarısızlığı olan veya 38 yaşın üzerinde olan kadınlarda bu tekniğin standart

olarak uygulanmasının yararlı olabileceği öne sürülmesine rağmen rutin kullanımı halen tartışmalıdır (104).

Kötü over yanıtlı 33 hastanın değerlendiridiği prospektif bir çalışmada implantasyon ve gebelik oranları anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (105). 31 randomize çalışmayı içeren bir meta-analizde Asisted Hatching tekniğinin canlı doğum oranlarında fark yaratmadığı gösterilmiştir (106).

Kötü over yanıtlı hastalarda reprodüktif sonuçlara etkisini değerlendirmek için iyi düzenlenmiş çalışmalara ihtiyaç vardır.

Oosit Vitrifikasyonu

Birkaç stimülasyon siklusunda metafaz-II oositler vitrifiye edililerek birikim yapılabilir. Vitrifikasyon sonrası verilen çok yüksek yaşam oranları kötü yanıtlı hastalar için alternatif bir strateji olabilir.

Prospektif randomize kohort çalışmasında vitrifiye oosit ve fresh ET yapılan iki grup karşılaştırılmış. Hasta başına (30.2 vs. 22.4%; $p < 0.05$) ve kümülatif canlı doğum (36.4 vs. 23.7%; $p < 0.05$) oranları oosit vitrifikasyon grubunda daha yüksek bulunmuş (64).

Ayrıca, oosit vitrifikasyonu zamanla over potansiyelini kaybetme riski olan tüm kadınların doğurganlığını korumak için kullanılabilir.

2.4 GRANÜLOZA HÜCRE APOPİTOZİSİ

Ovaryum rezervinde oositlerin dışında, follikül ve granüloza hücreleri de bulunmaktadır. Foliküler stratum granülozum tabakasından kaynaklanan hücreler ikiye ayrılır (107):

1) Gelişen oositin sitoplazmik çıkıntıları ile fiziksel temas içinde olan ve oosit gelişimi ile ilişkili olan kümülüs granuloza hücreleri,

2) Östrojen üretimi ve foliküler rüptür için gerekli olan duvar granüloza hücreleridir.

Yetişkin insan overinde, oosit ve granüloza hücreleri arasında oosit ve folikül büyümesi ve gelişimi boyunca parakrin iletişim vardır. Granüloza hücreleri, oosite yalnızca fiziki olarak destek sağlamakla kalmayan aynı zamanda oositin regulasyonunda ve

beslenmesinde de önemli rol oynayan hücrelerdir. Bunun yanı sıra granüloza hücrelerinin yaşaması ve farklılaşmasında oositin önemli rolü vardır. Granuloza hücrelerin yokluğunda primordial foliküllerden oositin in vitro gelişimi başarısızdır (6). Apopitoz, hücre ölümünün kontrollü şekilde gerçekleşmesidir. Genellikle etrafı canlı hücrelerle çevrili tek bir hücrede başlar. Gelişmekte olan follikülde streoid hormonların, glikoproteinlerin, büyüme hormonlarının üretiminin ve granüloza hücre proliferasyonunun artması apopitoza neden olabilmektedir. Gonodotropinler ve östrojen granüloza hücrelerinin apopitozisini engeller ve onların mitotik aktivitesini stimüle eder, oysa androjenler granülosa hücrelerinin ölümünü apopitosis mekanizması ile artırır. Folliküler atrezinin bir göstergesi olan granüloza hücrelerindeki apopitoz bütün yaşam boyunca devam eden bir süreçtir. Apopitoz, atretik folliküllerdeki granüloza hücre sayısı ve östrojen üretimindeki azalma ile karakteristiktir(108).

Granüloza hücrelerindeki bu süreç ise oosit maturasyonunu doğrudan etkiler, ve apopitoz oosit ve embriyo kalitesini etkileyebilir.

IVF sikluslarında granüloza hücrelerindeki yüksek apopitotik hücre insidansının sikluslarda kötü prognoza sebep olabileceği yapılan çalışmalarda gösterilmektedir (7,109).

Kötü ovaryen yanıt gösteren kadınların overlerindeki foliküllerin sayısında azalmanın, granüloza hücre sayısında ve oosit kalitesinde azalma ile birliktelik gösterdiği bilinmektedir. Granüloza hücrelerin yokluğunda primordial foliküllerden oositin in vitro gelişimi başarısızdır. Apoptotik granüloza hücrelerinin fazla olması boş folikül, daha az ve kalitesiz oosit oluşumu, düşük fertilizasyona ve kalitesiz embriyo gelişimine neden olmaktadır (7,8).

Ayrıca, farklı over stimülasyon protokolleri apoptotik granüloza hücrelerinin sıklığı etkiler(9). Bununla birlikte apopitozun gonadotropin hiperstimülsayonu yapılan hastalardaki gebelik oranlarına etkisi halen tartışma konusudur.

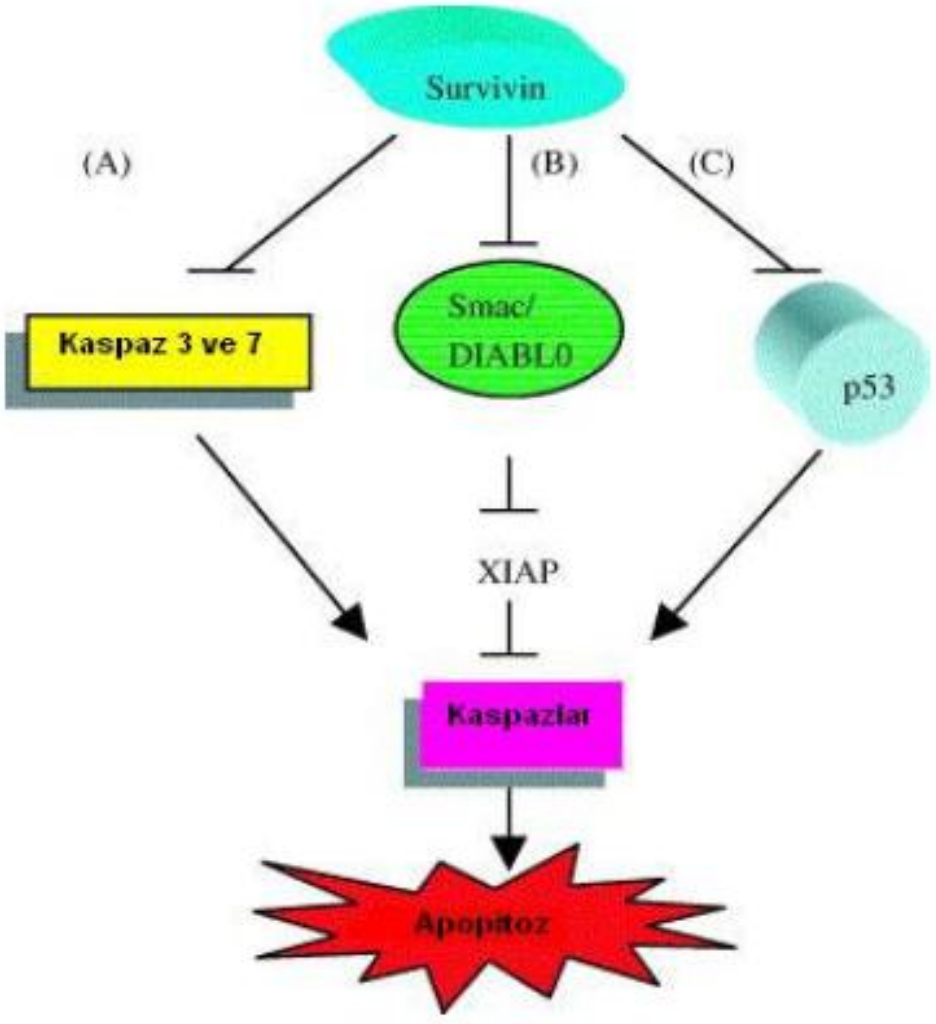
2.5. SURVİVİN

Survivin, apopitoz inhibitör protein ailesinin bir üyesi olup hücre bölünmesini kontrol eden ve apopitozisi baskılayan bifonksiyonel bir proteindir(110). İlk defa 1997'de Ambrosini ve arkadaşları tarafından fetal ve embriyonik dokularda varlığı

gösterilmiştir. İnhibitör apopitotik proteinler (IAP) orijinal olarak baculovirüslerden identifiye edilmiştir.

Survivivn 17. Kromozomda lokalize,142 aminoasit içeren 16.3 kilodalton (kDa) ağırlığında, hücre siklusunu G2/M evresinde denetleyen multifonksiyonel bir proteindir(111). Apopitoz inhibisyon mekanizmaları tam olarak anlaşılmış değildir. Mitokondride yerleşim gösterir ve terminal efektör kaspaslar 3, 7 ve 9'un gerçekleştirdiği postmitokondrial olayları durdurarak apopitozu inhibe eder (110,112).

Survivin sitoplazma içine sitokrom c salınımını bloke ederek ve p53 inhibisyonu yaparak apopitoz inhibisyonunu gerçekleştirir. İnsan kanserlerindeki apopitoz inhibisyonuna ek olarak, hücresel proliferasyonunun düzenlenmesi ve anjiogenezde rolü vardır (113).



Şekil 1. Survivin ile apopitoz inhibisyon modeli (110)

Diğer IAP proteinlerin aksine, survivin embriyonik ve fetal gelişim sırasında bulunan, normal yetişkin dokularda saptanamayacak kadar az bulunur ve insan kanserlerinin tümünde belirgin expresse olur (12). Buna karşılık, yakın zamandaki raporlar survivinin aynı zamanda, deri, endotel hücreleri, endometriyum ve granuloza hücreleri gibi normal dokularda eksprese edildiğini göstermiştir. Johnson ve arkadaşları hücre döngüsü regulasyonu ile ilişkili bir protein ve apoptozun inhibisyonu olarak hareket eden survivin granüloza hücrelerinde önemli bir rol oynayabileceğini belirtti. Bu nedenle, survivin granüloza hücrelerinin apopitozdan korunmasıyla yakından bağlantılı ve IVF-ET sonucunu etkiliyor olabilir (13).

3.YÖNTEM VE GEREÇLER

Bu çalışma Nisan 2013 ve Nisan 2015 tarihleri arasında infertilite şikayeti ile Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tüp Bebek Ünitesi'ne başvuran, muayene ve laboratuar bulguları ile kötü over yanıtlı olduğu tespit edilen 30 hasta ve normal overyan yanıtlı 11 hasta ile yapılmıştır.

Çalışma prospektif, randomize kontrollü ve tek merkezli olarak yürütülmüştür. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu iznini takiben tüp bebek tedavisi için başvuran çiftler, çalışma hakkında bilgilendirilerek onamları alınmıştır.

Endometrioma, Hipogonadotropik Hipogonadizm ve Polikistik Over Sendromu olan hastalar çalışma dışı bırakılırken, çalışmaya dahil edilen kötü over yanıtlı hastalar seçilmesinde Bologna kriterleri kullanıldı.

Bunlar: 1) İleri maternal yaş (>40 yaş) ya da zayıf overyan yanıt için diğer risk faktörlerinin olması, 2) Daha önce IVF denemesinde zayıf ovaryen yanıt öyküsünün olması (konvansiyonel ovaryen hiperstimulasyon yöntemleri ile üçten az oosit toplanmış olması, 3) Anormal ovaryen rezerv testi olmasıdır (6).

İlk başvuruda tüm hastalar anamnez, jinekolojik muayene ve transvajinal USG ile değerlendirildi. Hastalara hangi tedaviyi başlayacağımız daha önceden oluşturulmuş zarflar hastalara seçtirilerek belirlendi. Düşük doz gonadotropinler ile KOH yapılacak hastalar 1. Grup, yüksek doz gonadotropinler ile KOH yapılacak hastalar ise 2.Grup içerisine dahil edildi.

1. Gruba dahil edilen 16 hastanın 2'sinde KOH ile folikül gelişimi olmadı, 2 hastada matür oosit çıkmadı ve 1 hastada ise bir folikül gelişimi olduğu için siklusu iptal edildi ve bu hastalar çalışma dışı bırakıldı. Geriye kalan 11 hastadan analiz için folikül sıvısı alındı. Ancak 2 hastaya fertilizasyon olmadığı için, 3 hastaya da matür oosit çıkmadığı için, transfer işlemi yapılmadı.

2. Gruba dahil edilen 24 hastanın 3'ünde KOH ile folikül gelişimi olmadığı ve 2 hastada oosit çıkmadığı için bu hastalar çalışma dışı bırakıldı. Geriye kalan 19 hastadan analiz için folikül sıvısı alındı. Ancak 3 hastaya fertilizasyon olmadığı için, 4 hastaya matür oosit çıkmadığı için ve 1 hastanın ise eşinden sperm alınamadığı için transfer işlemi yapılamadı.

Kontrol grubu olarak çalışmaya alınan 11 hastadan analiz için folikül sıvısı alındı. Ancak 2 hastaya fertilizasyon olmadığı için transfer yaplmadı.

Hastaların, yaş, boy, kilo, vücut kitle indeksi, tıbbi öyküleri, sistemik hastalıkları, infertilite öyküleri, sigara kullanımı, daha önce geçirdiği operasyonlar, daha önce aldığı tedaviler, bazal hormon değerleri, jinekolojik muayeneleri, ovaryan stimulasyon süresi, kullanılan toplam gonadotropin miktarı, aspire edilen folikül sayısı, alınan oosit sayısı ve toplanan matür oosit sayıları etik kurul onayıyla hazırlanılan hasta takip formlarına kaydedildi.

1. Gruba dahil edilen hastalara menstrual siklusun 2. gününden başlayarak 5 gün süreyle 100 mg Klomifen sitrat başlandı. Siklusun 6.günü 187.5 IU/gün rFSH +75 IU/gün rLH başlandı ve dominant folikül >14 mm ve/veya E2 >400 pg olduğunda hCG gününe kadar 0.25 mg/gün GnRH antagonisti eklendi.

2. Gruba dahil edilen hastalara ise menstrual siklusun 3. günü 375 IU FSH+75 IU LH başlandı dominant folikül >14 mm veya E2 >400 pg olduğunda hCG gününe kadar 0.25 mg/gün GnRH antagonisti eklendi.

Kontrol grubu olarak erkek infertilitesi nedenli IVF planlanan normal overyan yanıtlı hastalara da 225 IU FSH+75 IU LH başlandı.

Tüm hastaların Estradiol ve Progesteron düzeylerine siklusun 2-3. günü ve 7-8. günü, daha sonra 2 gün arayla bakıldı. Folikül boyutunu takip etmek amacıyla hastalara

günlük TVUSG yapıldı, İki yada daha fazla >18 mm folikül saptandığında ovulasyonu uyarmak amacıyla choriogonadotropin alpha (Ovitrelle 250 mcg enjektör, Serono) yapıldı.

Ovitrelle yapıldıktan 36 saat sonra TVUSG eşliğinde oocyte pick-up (OPU) işlemi gerçekleştirildi. OPU işleminden 2-5 gün sonra da embriyo transferi gerçekleştirildi. OPU ve embriyo transferi her defasında aynı 3 kişi tarafından yapıldı. Transferden sonraki 14. günde kanda kantitatif beta-human chorionic gonadotropin (hCG) ölçümü yapıldı. Eğer testin sonucu pozitif olarak gelirse 2 gün sonra tekrarlanarak artışın sağlıklı olup olmadığı değerlendirildi. Sağlıklı bir artış gözlendi ise hastalar 15 gün sonra USG kontrolüne çağırıldı. USG kontrolünde endometrial kavitede gebelik kesesi ve kardiyak aktivite izlenen olgular klinik gebelik olarak değerlendirildi.

OPU işlemi yapıldıktan sonra Granüloza hücreleri hyaluronidaz içeren modifiye insan tubal sıvısı ortamında oositten açığa çıkarıldı. Granüloza hücrelerinden RNA izolasyonları yapıldı, elde edilen RNA örneklerinden cDNA sentezi yapıldı ve sentezlenen cDNA -20 dercede saklandı. Çalışmanın sonunda cDNA örneklerinden Real Time PCR ile Survivin gen ekspresyonu belirlendi.

Granüloza hücrelerinden RNA izolasyonu;

1. Örneğimize 100 µl RLT buffer eklenir ve vortekslenir.
2. 5 µl Carrier RNA eklenir.
3. 5dk oda sıcaklığında soğuk blok üzerinde bekletilir ve vortekslenir.
4. 100 µl %70 'lik ethanol eklenir ve vortekslenir.
5. Kolonlu tüpe alınır.
6. 8400 g de 20sn santrifüj edilir.
7. 350 µl Buffer RW1 eklenir.
8. 8400 g de 20 sn santrifüj edilir.
9. PCR tüpüne, 10 µl DNase ve 70 µl Buffer RDD oluşan mix hazırlanır.
10. 80 µl mix kolonlu tüpe alınır.
11. 15 dk oda sıcaklığında soğuk blok üzerinde bekletilir.
12. 350 µl RW1 Buffer eklenir.
13. 8400 g de 20 sn santrifüj edilir.
14. 500 µl Buffer RPE eklenir.

15. 8400 g de 20 sn santrifüj edilir.

16. 500 µl %80'lik Ethanol eklenir.

17. 8500 g de 2dk santrifüj edilir.

18. Maksimum devirde 5dk santrifüj edilir.

19. 16 µl RNase free-water eklenir.

20. 2 dk max devirde santrifüj edilir.

21. RNA İzole edilmiş olur.

cDNA sentezi;

Roche High Fidelity cDNA Synthesis Kit kullanılmıştır. Aşağıdaki prokol uygulanmıştır.

Random Primer	1 µl
PCR Grade Water	3,4 µl
RNA	7 µl

4,4 µl mix dağıtılır. 7 µl RNA dağıtılır. 65 °C'de 10 dk inkübe edilir.

Reaction Buffer	4 µl
Protector RNase İnhibitör	0,5 µl
Deoxynucleotide Mix	2 µl
DTT	1 µl
Reverse Transcriptase	1,1 µl
Toplam Mix	8,6 µl

8,6 µl mix dağıtılır.

PCR Programı

29 °C'de 10 dk, 48 °C'de 60 dk,85 °C'de 5 dk PCR islemi sonrasında sentezlenen cDNA -20'de saklandı.

Preamplifikasyon;

Real-Time ready cDNA Pre-Amp Master kit (Roche) kullanılmıştır.

Primerler %10 seyreltilir. Aşağıdaki protokol uygulanmıştır.

cDNA Preamp Master Mix	5 µl
%10 Survivin	1,4 µl
%10 Actb	1,4 µl
PCR Grade Water	12,2 µl
Cdna	5 µl

PCR Programı;

95°C 1dk
95°C 15 sn } 13 Döngü
60°C 4dk

cDNA örnekleri preamplifiye edilmiş olur.

Ekspresyon çalışması;

LightCycler 480 II (Roche) Real-Time PCR cihazı kullanılmıştır.

1. Preamp cDNA örnekleri 1/20 oranında Nuclease Free Water ile seyreltilmiştir.
2. Aşağıdaki miktarlarda reaksiyon plate (Roche) üzerine dağıtılmıştır.

2X Probe Master Mix	10 µl
Primer/Probe	1 µl
Nuclease Free Water	4 µl
Preamp cDNA	5µl

3. LightCycler 480 II (Roche) Real-Time PCR cihazında aşağıdaki programa koyulmuştur.

95° C 10 dk
95° C 10saniye
60° C 30 saniye } 45 Döngü
72 ° C 1dk
40° C 30 saniye

4. Her bir örnek çift çalışılmıştır.
5. Housekeeping gen olarak beta-actin kullanılmıştır.
6. Veriler delta delta ct metodu kullanılarak hesaplanmıştır.
7. Veriler normalize edilmiştir.

İstatistisel analiz

Çalışmaki veriler IBM SPSS 22 programı kullanılarak analiz edilmiştir. Verilerin dağılımına Shapiro Wilks Test istatistiği ile bakılmıştır. İki bağımsız grup karşılaştırılmalarında non parametrik yaklaşımlardan Mann Whitney U test istatistiği kullanılmıştır. İkiden fazla grup karşılaştırılmasında Kruskal Wallis test istatistiği kullanılmış. Post hoc karşılaştırılmalarında Tukey test istatistiği kullanılmıştır. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında Pearson Ki kare test istatistiği kullanılmıştır. Anlamlılık düzeyi $p<0.05$ kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen hastaların demografik özellikleri ve bazal hormon değerleri Tablo 4'de gösterilmiştir. Tabloda da görüldüğü gibi 1.Grup ve 2.Grup hastaların yaşları ve bazal FSH değerleri arasında fark olmamasına rağmen ($p>0.05$), 1. Grup hastaların yaş ortalaması ve bazal FSH değerleri kontrol grubu hastalara göre daha yüksektir ($p<0,05$). Tüm gruplar arasında ortalama BMI, infertilite süreleri, bazal E2, TSH ve prolaktin değerleri arasında fark izlenmedi ($p>0.05$). 1.Grup ve 2.Grup hastaların antral folikül sayıları arasında fark yokken ($p>0.05$), her iki grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p<0.05$).(Tablo 4)

Tablo 4. Hastaların demografik özellikleri ve bazal hormon değerleri

	Kötü Over Yanıtlı Hastalar				**Normal Over Yanıtlı Hastalar**		
	Düşük Doz (Grup 1) Ort±s.s n=11	Med. (25p-75p)	Yüksek Doz (Grup 2) Ort±s.s n=19	Med.(25p-75p)	Kontrol Ort±s.s n=11	Median(25p-75p)	P Değeri
Yaş (Yıl)	36 ± 5,5	37 (31-41)[a]	34,1 ± 6,1	35 (29-37)[a,b]	28,4±3,5	29 (25-32)[b]	0,001
BMI (kg/m^2),	24 ± 3,3	25 (20-27)	26,4 ±3,8	27 (23-29)	24,3 ±2,7	24 (23-27)	0,122
İnfertilite süresi(yıl)	4,2 ± 2,6	4(2,5-5)	7,9 ± 4,9	7,5 (5-10)	6,4 ± 3,1	6(3,5-8)	0,054
Bazal FSH	16,6 ±12,1	12,9 (8,2-19,1)[a]	11,2±6,9	10,1(7,1-14,2)[a,b]	7,1± 1,2	7,07(6,3-8,5)[b]	0,006
Bazal LH	7,2 ± 5,1	6,2 (4,2-7,1)	6,4±4,2	5,2(3,6-7,2)	5 ± 1,7	4,1(3,8-7,24)	0,230
Bazal E2	75,8 ± 51	71 (31-94)	47,1±25	39(24-62,6)	43,6 ± 18,4	44,2(28-62,8)	0,435
AFS	4,5 ± 1,6	4 (3-6)[a]	4,6 ± 1,5	5(4-5)[a]	11,2± 4	11(8-15)[b]	0,000
TSH	2,2 ± 1,4	1,8 (1,6-2,9)	1,7±0,7	1,6(1,4-2,3)	2,5 ± 1	2,6 (2,1-2,9)	0,232
Prolaktin	16,1± 5,3	16,7 (10,5-21,5)	16,1±8,1	12,9(10,1-22,9)	18,1± 8,7	15,2(12,7-27,2)	0,507

** Aynı harfler gruplar arasında istatistiksel benzerliği gösterirken (p>0,05), farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı göstermektedir (p<0,05).*

Stimülasyon süreleri, düşük ve yüksek doz tedavi verilen hastalar ve normal over yanıtlı hastalar arasında benzer olarak izlendi., 1.grupta toplam kullanılan gonadotropin dozu 2. grup ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede az olarak bulundu. HCG günü E2, P4, aspire edilen folikül sayısı, toplanan oosit sayısı ve matür oosit sayısında, düşük ve yüksek doz tedavi alan hastalar arasında fark izlenmezken (p>0,05), normal over yanıtlı hastalarda, diğer gruplara göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (p<0,05). Düşük doz tedavi alan grupta 3 hastada matür oosit çıkmaması ve 2 hastada fertilizasyon olmaması nedeni ile toplam 5 hastada, yüksek doz tedavi alan grupta 1 hastada sperm alınamaması, 3 hastada fertilizasyon olmaması, 4 hastada matür oosit çıkmaması nedeni ile toplam 8 hastada, normal over yanıtlı hastalardan ise 2 hastada fertilizasyon olmaması nedeni ile siklus iptali yapılmıştır.(Tablo 5)

Tablo 5. Grupların kullanılan r-FSH dozu ve stimülasyon süreleri, HCG günü E2 ve p4 açısından karşılaştırılması Aspire edilen folikül sayısı, Toplanan oosit sayısı, matür oosit sayısının gruplara göre dağılımı

	Kötü Over Yanıtlı Hastalar		**Normal Over Yanıtlı Hastalar**	
	Düşük Doz (Grup 1) Ort±s.s n=11 Med.(25p-75p)	Yüksek Doz (Grup 2) Ort±s.s n=19 Med. (25p-75p)	Kontrol Ort±s.s n=11 Med.(25p-75p)	P Değeri
Stimülasyon süresi (gün)	10,5 ± 1,3 10 (10-12)	10,8 ± 2,8 11(8-12)	9,8 ±1,4 10(9-10)	0,173
Toplam FSH dozu (IU)	1312,5 ± 423 1312,5(1050-1837,5)[a]	4452 ±1254 4500(3150-4950)[b]	2727,2±454 2700(2400-2700)[c]	0,000
HCG günü E2	1198 ± 826 1071(635-1519)[a]	942 ±529 891(472-1206)[a]	1952±974 1672(1305-2498)[b]	0,003
P4	0,7 ± 0,5 0,45(0,23-1,43)[a]	0,8 ± 0,4 0,7(0,5-0,92)[a]	1,1±0,4 1.12(0,9-1,6)[b]	0,022
Aspire edilen folikül sayısı	3,3 ±1,5 4(2-4)[a]	4 ± 1,4 4(3-5)[a]	11,2 ± 4,2 11 (5-18)[b]	0,000
Toplanan oosit sayısı	1,8 ± 1 1 (1-3)[a]	2,3 ± 1,2 2(1-4)[a]	5,9 ± 3,2 6(3-8)[b]	0,012
Matür oosit sayısı	1,2 ± 1 1(0-2)[a]	1,4 ± 1,1 1(1-2)[a]	4,2 ± 2 4 (2-6)[b]	0,002
Siklus iptali	5 (%45,4)	8 (%42,1)	2 (%18)	
Sperm alınamadı	0 (%0)	1(%12,5)	0(%0)	
Fertilizasyon yok	2 (%40)	3(%37,5)	2(%100)	
Matür oosit yok	3 (%60)	4 (%50)	0(%0)	

**Aynı harfler gruplar arasında istatistiksel benzerliği gösterirken (p>0,05), farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı göstermektedir (p<0,05).*

Tüm gruplarda matür oosit elde edilen hastalarda fertilizasyon oranları, transfer edilen embriyo sayıları, transfer günü, transfer başına ve siklus başına klinik gebelik oranları arasında fark bulunmadı (p>0.05). 1. Grup ve 2.Grup hastalar arasında oluşan embriyo sayılarında fark yokken, kontrol grubunda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. (Tablo 6)

Tablo 6. Gruplar arasında fertilizasyon oranı, oluşan embriyo sayısı ,transfer edilen embriyo sayısı ve transfer günü

	Kötü Over Yanıtlı Hastalar		**Normal Over Yanıtlı Hastalar**	
	Düşük doz (Grup1) n:8 Ort±s.s Med.(25p-75p)	Yüksek doz (Grup2) Ort±s.s n=15 Med.(25p-75p)	Kontrol Ort±s.s n=11 Med.(25p-75p)	P değeri
Fertilizasyon oranı (%)	68,7 100(12,5-100)	64,4 100(0-100)	58,9 66,6(14,2-100)	0,725
Oluşan embriyo sayısı	1,33 ± 0,5 1(1-2)[a]	1,45 ± 0,9 1(1-2)[a]	2,7 ± 1,3 3(1,5-4)[b]	0,027
Transfer edilen embriyo sayısı	1,3±0,5 1(1-2)	1,3±0,5 1(1-2)	1,6±0,5 2(1-2)	0,324
Transfer günü	2,5 ± 0,5 2,5(2-3)	2,3 ±0,5 2(2-3)	3,2 ±1 3(2,5-4)	0,098
Klinik gebelik/ siklus başına%	9,1	5,3	18,2	0,515
Klinik gebelik /transfer başına%	16,7	9,1	22,2	0,717

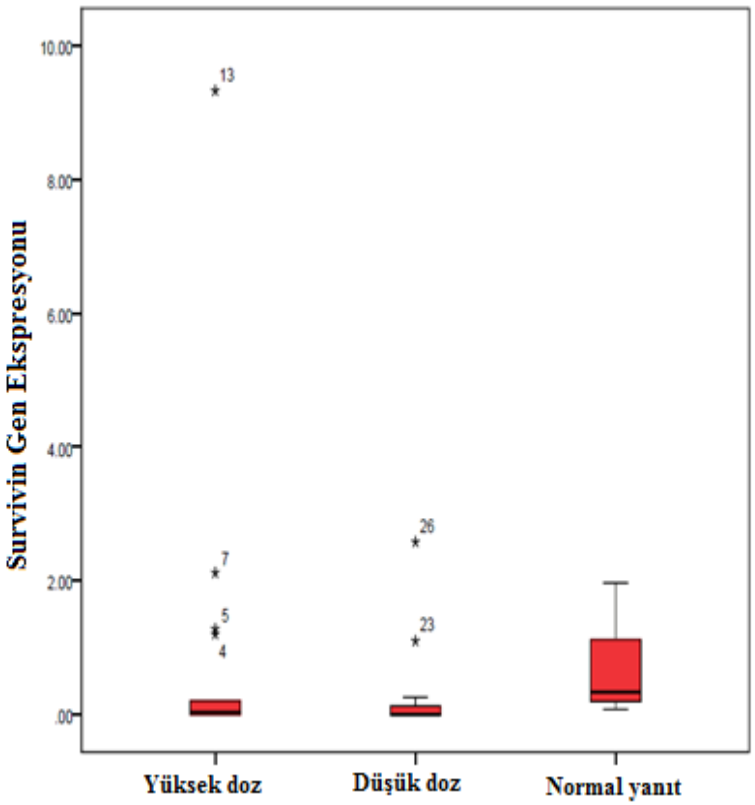
**Aynı harfler gruplar arasında istatistiksel benzerliği gösterirken (p>0,05), farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı göstermektedir (p<0,05).*

Çalışmaya alınan yüksek doz tedavi başlanmış 19 hastadan 1 tanesinde granüloza hücrelerinden survivin ekspresyonu için sonuç alınamadı. 1.Grup ve 2.Grup hastalarda survivin ekspresyonları arasında fark izlenmemiştir. Ancak kontrol grubunda survivin ekspresyonu 1.Gruba göre daha yüksek, 2.Gruba göre ise daha düşük olarak bulunmuştur.(Tablo 7) (Şekil 2-3)

Tablo 7. Kötü over yanıtlı ve normal over yanıtlı hastalarda survivin ekspresyon seviyesinin karşılaştırılması

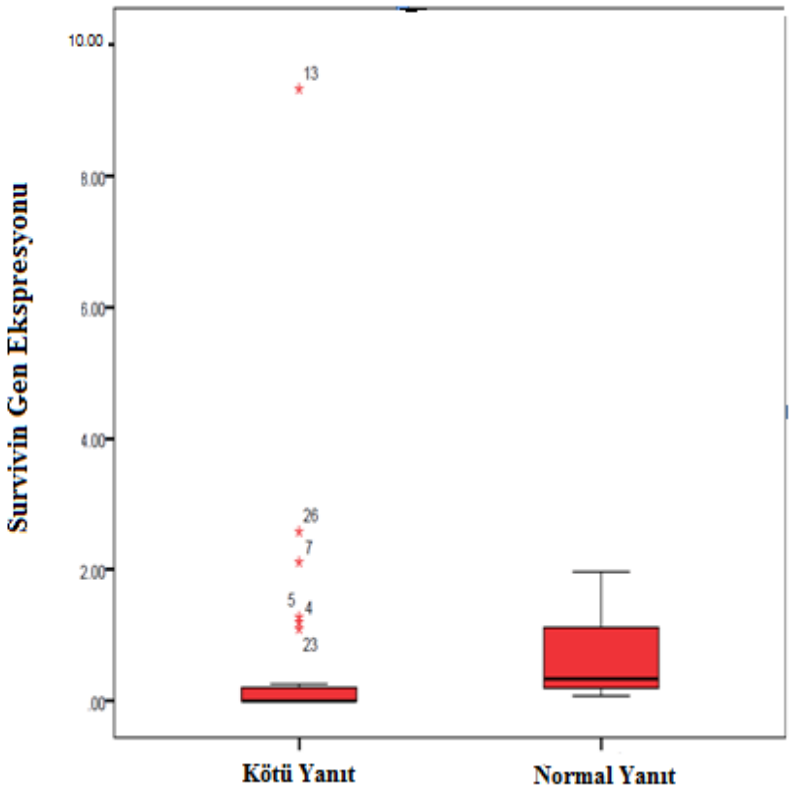
	Kötü Over Yanıtlı Hastalar		**Normal Over Yanıtlı Hastalar**	
	Düşük doz (Grup1) n=11 Ort±s.s Med.(25p-75p)	**Yüksek doz (Grup2)** Ort±s.s n=18 Med.(25p-75p)	**Kontrol** Ort±s.s n=11 Med.(25p-75p)	P değeri
Survivin	0,35 ± 0,8 0 (0-0,25)[a]	0,81 ± 2,2 0,37 (0-0,45)[a]	0,68 ± 0,65 0,33 (0,14-1,21)[b]	0,031
	0,63 ± 1,7 0 (0-0,23)[a]		0,68 ± 0,65 0,33 (0,14-1,21)[b]	0,006

**Aynı harfler gruplar arasında istatistiksel benzerliği gösterirken (p>0,05), farklı harfler gruplar arasındaki farklılığı göstermektedir.*



Şekil 2. Gruplar arasında survivin ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması

**Uç noktalar maksimum değerleri yansıtırken, sütun içerisindeki yatay çizgiler median değerleri, sütünların alt ve üst sınırları ise 25-75 persentil değerlerini yansıtmaktadır.*
Yüksek –düşük doz (p>0,05). Düşük doz-Normal yanıt(p<0,05).Yüksek doz-normal yanıt(p<0,05).



Şekil 3. Kötü over yanıtlı ve normal over yanıtlı hastalarda survivin ekspresyon seviyesinin karsılastırılması

**Uç noktalar maksimum değerleri yansıtırken, sütun içerisindeki yatay çizgiler median değerleri, sütünların alt ve üst sınırları ise 25-75 persentil değerlerini yansıtmaktadır.*
Kötü yanıt-normal yanıt($p<0,05$).

Düşük doz ve yüksek doz tedavi verilen kötü over yanıtlı ve normal over yanıtlı hastalarda gebelik olan ve olmayan hastalar arasında survivin ekspresyonu için istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi. (Tablo 8)

Tablo 8: Gruplarda gebelik olan ve olmayan hastalarda survivin düzeylerinin karşılaştırılması

Kötü Over Yanıtlı Hastalar *Ort±s.s Med.(25p-75p)*	**SURVİVİN**	**P değeri**
Düşük doz tedavi		
Gebelik		
Var	0 ± 0 0(0-0)	0,546
Yok	0,39±0,84 0(0-0,46)	
Yüksek doz tedavı		
Ort±s.s Med.(25p-75p)		
Gebelik		
Var	0 ± 0 0(0-0)	0,354
Yok	0,85±2,2 0,7(0-0,7)	
Normal Over Yanıtlı Hastalar *Ort±s.s Med.(25p-75p)*		
Gebelik		
Var	0,94 ±0,86 0,94(0,33-1,55)	0,346
Yok	0,62 ± 0,64 0,32(0,11-1,11)	

Düşük ve yüksek doz tedavi verilen gruplarda matür oosit alınan ve alınmayan hastalarda survivin ekspresyonları arasında anlamlı farklılık izlenmedi. (Tablo 9)

Tablo 9: Düşük ve yüksek doz tedavi verilen hastalarda matür oosit alıan ve matür oosit alınmayan hastalarda survivin seviyelerinin karşılaştırılması

Düşük doz tedavi(Grup1) *Ort±s.s Med.(25p-75p)*	**SURVİVİN**	**P değeri**
Matür oosit		
Var	0,45± 0,93 0 (0-0,82)	0,661
Yok	0,08±0,14 0 (0-0,2)	
Yüksek doz tedavi *Ort±s.s Med.(25p-75p)*		
Matür oosit		0,324
Var	0,95 ± 2,4 0,07 (0-1,2)	
Yok	0,06±0,1 0 (0-0,2)	

5.TARTIŞMA

Normal popülasyonda gebe kalma yaşı giderek artmakta ve bunun sonucunda yardımcı üreme tekniklerinden (YÜT) yararlanan ileri yaştaki hasta sayısı giderek artmaktadır. Bu hastalarda kötü yanıtın oluşmasının nedeni, yaşa bağlı olarak ortaya çıkan over rezervindeki azalmadır. Kötü ovaryen yanıt, genellikle, artmış yaşla ilişkili olmasına rağmen; genç yaşta da görülebilmektedir.

Ovaryen yanıtın tedaviye başlanmadan ön görülmesi; siklus iptallerinin oranlarını azaltmakta, aynı zamanda hekime uygun tedavi stratejileri geliştirme imkanı sağlayabilmektedir. Bu nedenle zahmetli ve pahalı bir infertilite tedavi programına girmeden önce over rezervinin bir tarama testi ile değerlendirilmesi gerekir. Ayrıca fertilite tedavisine başlanmadan önce, kadının yeterli over rezervine sahip olup olmadığının değerlendirilmesi hem klinik başarının artırılması hem de ekonomik kayıpların önlenmesi açısından önem taşır.

Over rezerv testleri genellikle azalmış over rezervi için tarama testi olarak kullanılmaktadır. Gonadotropin stimulasyonuna verilen yanıtı ve klinik gebelik elde edebilme şansını ön görebilmek için günümüze kadar yaş, bazal serum FSH, bazal serum estradiol, bazal serum inhibin-B, bazal antimüllerian hormon, bazal ovaryen hacim, bazal antral folikül sayısı, ovaryen stromal kan akımı, ovaryen biyopsi, Klomifen sitrat challange test (CCCT), GnRH agonist Stimulasyon test (GAST), Eksojen FSH ovaryen rezerve test (EFORT) gibi over rezervinin indirekt göstergesi olan birçok test kullanılmıştır. Ancak bu testlerin hiçbiri tek başına yeterli etkinlikte değildir.

Biz çalışmamızda over rezervini değerlendirmek amacı ile, yaş, bazal FSH, bazal estradiol, bazal antral folikül sayısını kullandık.

YÜT'de tedavi başarısı, overlerin gonadotropin stimulasyonuna verdiği yanıtla ilişkilidir. Kötü over yanıtlı olgularda overlerin gonadotropin stimulasyonuna yanıtının az olmasına bağlı olarak, siklus iptallerinin daha sık, toplanan oosit sayısı ve transfer edilen embriyo sayısının daha az, klinik gebelik oranlarının daha düşük olduğu gözlenmektedir.

Bahçeci ve arkadaşlarının yaptığı kötü ve normal yanıtlı hastaların karşılaştırıldığı çalışmada, kötü over yanıtlı hastalarda alınan oosit sayısı, transfer edilen embriyo sayısı ve HCG günü E2 düzeyi, normal over yanıtlı hastalara göre daha az bulunurken, toplam kullanılan gonadotropin dozu anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (114).

Bizim çalışmamızda da kötü over yanıtlı hastalar, normal over yanıtlı hastalar ile karşılaştırıldığında, aspire edilen folikül sayısı, alınan matür oosit sayısı, oluşan embriyo sayısı, HCG günü E2 düzeyi, kötü over yanıtlı hastalarda anlamlı olarak düşük bulunmuştur.

KOH'a kötü ovaryan yanıt, tüm IVF sikluslarında % 9-24 oranında görülmekte ve bu grupta (5-6) başarılı gebelik oranları % 2-4 gibi düşük hızlarda bildirilmektedir (7). Kötü over yanıtını tanımlamada çeşitli çalışmalarda çok farklı tanımlar kullanılmıştır. Toplanan oosit sayısı, bazal FSH, antral folikül sayısı, yaş, maksimum estradiol düzeyi, önceki IVF sikluslarına kötü yanıt alınması, toplam kullanılan gonadotropin dozu ve ortalama gonadotropin dozunu, referans alan çalışmalar mevcuttur.

European Society for Human Reproduction and Embryology/ American Society for Reproductive Medicine zayıf ovaryen yanıtı tanımlayan krıterler için bir konsensusa varmıştır. Bologna kriterleri olarak bilinen bu üç kriterden ikisinin olması zayıf ovaryen yanıt için yeterli kabul edilmiştir.

Bunlar:

1) İleri maternal yaş (>40 yaş) yada zayıf overyan yanıt için diğer risk faktörlerinin olması,

2) Daha önce zayıf ovaryen yanıt öyküsünün olması (konvansiyonel ovaryen hiperstimulasyon yöntemleri ile üçten az oosit toplanmış olması,

3) Anormal ovaryen rezerv testi olmasıdır (6).

İleri maternal yaş veya anormal ovaryan rezerv test yokluğunda, maksimal stimülasyona rağmen iki kez kötü ovaryan yanıt oluşması da bu hastalara "Poor Responder" demek için yeterlidir.(6)

Bizim çalışmamızda hastalar Bologna kriterleri esas alınarak çalışmaya dahil edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen 9 hastamız >40 yaş olup bozuk over rezerv testi olan, 12 hastamız daha önceki IVF siklusuna kötü yanıt alınan ve bozuk over rezerv testi olan, 9 hastamızda daha önce 2 defa IVF sikluslarında kötü yanıt alınmış hastalardır.

Kötü over yanıt gösteren hastalar bugün için tedavi sonuçları en kötü ve en çok araştırma yapılan hasta grubunu oluşturmaktadır. Bu nedenle düşük over rezervli ve ileri yaş hastalarda gebelik oranlarının artması için YÜT tedavilerinde yeni protokollere ihtiyaç duyulmaktadır. GH tedavisi veya piridostigmin, oral L-arginin, ve transdermal testosteron gibi KOH için adjuvan tedaviler kötü over yanıtnında gebelik oranlarını artırmak için başarısız olmuştur. Buna ek olarak, mild prtokol, GnRH antagonistleri ve GnRH agonistlerinin kullanıldığı protokollerde de gebelik oranlarında herhangi bir iyileşme gösterilememiştir (115).

Kötü over yanıtına sahip bazı hastaların uzun GnRHa protokolü sırasında aşırı süpresyona bağlı olarak yanıt vermediği gözlenmiştir. Bu nedenle GnRH antagonistlerinin kullanımı, GnRH agonistleri ile karşılaştırıldığında kötü overyan yanıt yönetiminde umut olmuştur. GnRHa kullanılan sikluslarda 3.gün FSH ve LH seviyeleri aşırı baskılanmış olmasına rağmen, GnRH antagonist sikluslarında ovaryan stimulasyona başlandığında FSH seviyesi normal değerler arasındadır. Özellikle over rezervi azalmış hastalarda yüksek FSH ve LH seviyelerinin endojen gonadotropin havuzuna katkıda bulunabileceği ileri sürülmektedir. Antagonist ile tedavi süresi boyunca prematüre luteinizasyon belirgin olarak azalır (107).

Bu bağlamda çalışmamızda kötü over yanıtlı hastalarda agonist kullanımı yerine antagonist protokol kullanımının daha uygun olacağını düşündük.

Son yapılan randomize kontrollü bir çalışmada 111 kötü over yanıtlı hastada uzun GnRHa, kısa GnRHa ve GnRH antagonist protokolü karşılaştırılmış. Uzun ve kısa GnRHa protokolünde devam eden gebelik oranları %8.1 iken antagonist protokolünde istatistiksel olarak anlamlı olmasada %16,2 olarak daha fazla olduğu belirtilmiştir (116).

Bu hastaların yönetiminde ana hedeflerden biri de tedavi yükünün azaltılması olmalıdır. Tedavi yükünü ve maliyetini azaltmak için, mild stimülasyon kullanılabilir.

International Society for Mild Approaches in Assisted Reproduction'a göre Mild stimülasyon protokolü, GnRH antagonist sikluslarda antiöstrojen ile birlikte ya da tek başına, FSH/hMG'nin düşük dozda kullanılarak 2-7 oosit elde edilmesinin hedeflenmesi anlamına gelmektedir (117).

Son zamanlarda, mild ovaryan stimülasyonunun mozaik embriyo ve anöploidilerin oranını da azaltabildiği öne sürülmüştür (118).

Baart ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada normal over yanıtlı 159 hastaya GnRHa protokolü, 143 hastaya mild protokol başlanmış, GnRHa kullanan grupta hasta başına elde edilen oosit sayısı 12,1, mild protokol kullanan grupta ise 8,2 olarak belirtilmiş ve konvansiyonel stimülasyon yapılan grupta anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Ancak oosit sayısı daha fazla olmasına rağmen kromozomal olarak normal embriyo sayısı GnRHa kullanan grupta 61/159 (%38) iken mild protokolde 71/143 (%50) olarak bulunmuş ve embriyo kalitesi açısından mild protokolünün daha iyi olduğu belirtilmiştir (90).

Yoo ve arkadaşlarının kötü over yanıtlı hastalarda mild protokol ve yüksek doz gonadotropinlerin kullanıldığı konvansiyonel stimülasyon protokolünü karşılaştırdığı bir çalışmada; stimülasyon süresi, kullanılan toplam gonadotropin dozu, hCG gününde serum E2 düzeyi, oosit sayısı ve matür oosit sayısının mild stimülasyon grubunda daha düşük olduğu bulunmuş. Ancak, kaliteli embriyo sayısı, transfer edilen embriyo sayısı, siklus iptal oranı, veya klinik gebelik oranı açısından anlamlı bir fark bulunamamış. 37 yaşın üzerinde konvansiyonel grup ile karşılaştırıldığında, klinik gebelik oranı ve canlı doğum oranı mild grubunda yüksek olmasına rağmen sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış. Bunun sonucunda hafif over stimülasyonun maliyet açısından ve hasta memnuniyeti açısından daha uygun olduğu belirtilmiştir (94).

Birçok çalışmada, kötü ovaryan yanıtlı hastada yüksek doz gonadotropin (450 IU) kullanımının standart dozlar (225 IU) ile karşılaştırıldığında alınan oosit sayısı ve gebelik oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olmadığı belirtilmiştir. (119-120).

Bu bağlamda bizde çalışmamızda kötü over yanıtlı hastalarda düşük doz ve yüksek doz gonadotropin kullanımının klinik sonuçlar üzerindeki etkilerini karşılaştırmayı, bu klinik sonuçları normal over yanıtlı hastalarla karşılaştırmayı, beraberinde farklı stimülasyon protokollerinin granüloza hücre apopitozisini engelleyen, antiapopitotik survivin gen ekspresyon seviyeleri üzerine olan etkilerini karşılaştırmayı amaçladık.

Shvetha ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, kötü over yanıtlı hastalarda mild stimülasyon protokolü ile standart protokol karşılaştırılmıştır. Standart protokolde, siklusun 3.günüden başlayarak günlük 300 IU FSH ile 150 IU hMG başlanmış ve 8. günde ortalama 5 doz olarak günlük 0.25 mg ganirelix asetat eklenmiştir. Mild protokol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak daha fazla gonadotropin (9,7±3 flakon, 49,8±7,4 flakon) kullanılmış daha fazla sayıda olgun oosit (2,4±1,6; 3,8±2,3) alınmıştır, ancak siklus başına (%38; %36) ve transfer başına klinik gebelik oranı (%42; %47) benzer bulunmuştur (121).

Land ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kötü over yanıtlı hastalarda 225 IU hMG kullanan gruba göre 450 IU hMG kullanan grupta folikül sayısında ve alınan oosit sayısında artış olduğu gösterilmiştir. Ancak, embriyo sayısı iki grup arasında benzer bulunurken, siklus başına klinik gebelik oranı 450 IU hMG alan grupta beklenmedik şekilde düşük bulunmuş.

Yüksek doz gonadotropin embriyo sayısını ve gebelik oranlarını artırmamış, düşük doz gonadotropin yönetim protokolünde ise gebelik oranı daha yüksek olmakla birlikte, düşük doz yönetim protokolü maliyet yönünden daha uygun bulunmuştur.(66).

Oride ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 13 kötü over yanıtlı hastada CC+hMG kullanılan 46 siklus ve sadece hMG kullanılan 20 siklus karşılaştırılmış. Hasta başına kullanılan total hMG dozu CC+hMG grubunda daha düşük bulunmuştur. Oositlerin toplandığı gün ortalama estradiol seviyesi ve alınan oosit sayıları her iki grupta benzer bulunmuştur. 13 hastanın 4‘ ü CC+hMG ile gebe kalırken sadece hMG nin kullanıldığı

sikluslarda gebelik elde edilememiştir. Bu bulgular da kötü overyan yanıt için CC+hMG stimülasyonunun daha yararlı olduğunu düşündürmektedir(122).

Lazer ve arkadaşları kötü over yanıtlı hastalarda düşük ve yüksek doz gonadotropin kullanımını karşılaştırmışlar. Minimal stimülasyon grubuna 2,5 mg letrozol ve 150-225 IU HMG, yüksek doz tedavi grubuna ise >300 IU HMG başlanmış ve dominant folikül >14mm olduğunda 0.25 mg GnRH antagonisti (cetrotide) başlanmış. Maksikum E2 düzeyi, toplam kullanılan gonadotropin dozu minimal stimülasyon grubunda daha az bulunurken, siklus iptal oranları, alınan oosit sayısı ve fertilize oosit sayıları iki grup arasında benzer bulunmuştur. Siklus başına klinik gebelik oranı ve canlı doğum oranı minimal stimülasyonda daha yüksek bulunmuştur (123).

Yapılmış olan bu çalışmalarda bizim çalışmamıza benzer şekilde hastaların bir grubuna düşük doz FSH diğer gruba da daha yüksek doz FSH verilmiştir. Ancak bizim çalışmamızda bu çalışmalardan farklı olarak her iki gruba FSH ile birlikte LH verilmiş ve düşük doz gonadotropin kullanılan grupta öncelikle CC ve ardından gonadotropin verilmiştir.

Bizim çalışmamızda düşük doz gonadotropin ve yüksek doz gonadotropin kullanan gruplar arasında diğer çalışmalardan farklı olarak stimülasyon süresi, HCG günü E2, aspire edilen folikül sayısı, alınan matür oosit sayıları arasında fark izlenmemiştir. İki grup arasında siklus iptal oranları da benzer olarak bulunmuştur. Land ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya benzer şekilde yüksek doz gonadotropin kullanımı embriyo sayısını ve klinik gebelik oranlarını artırmamıştır. Ancak kullanılan gonadotropin miktarının ve maliyetin artmasına neden olmuştur.

Kötü overyan yanıt gösteren kadınların overlerindeki folikül sayısındaki azalmanın, granüloza hücre sayısında ve oosit kalitesinde azalma ile birliktelik gösterdiği bilinmektedir. Granüloza hücrelerin yokluğunda primordial foliküllerden oositin in vitro gelişimi başarısızdır. Kümülüs hücreleri oosit matürasyonunda önemli rol oynar. Gonodotropinler ve östrojen granüloza hücrelerinin apopitozisini engeller ve onların mitotik aktivitesini stimüle eder, oysa androjenler granüloza hücrelerinin ölümünü apopitosis mekanizması ile artırır.

Granüloza hücrelerindeki apoptozis, IVF sonuçları üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir. Apoptotik granüloza hücrelerinin fazla olması boş folikül, daha az ve kalitesiz oosit

oluşumu, düşük fertilizasyona ve kalitesiz embriyo gelişimine neden olmaktadır (8-9). Ayrıca, farklı over stimülasyon protokolleri apoptotik granüloza hücrelerinin sıklığını etkiler(10).

Kaneko ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada normal ovaryan cevaplı hastalarda GnRHa+hMG+hCG nin kullanıldığı, hMG+hCG' nin kullanıldığı sikluslar ve doğal sikluslar karşılaştırılmış. GnRHa+hMG+hCG' nin kullanıldığı sikluslarda daha fazla oosit alınmasına rağmen, matür oosit oranı hMG+hCG kullanılan sikluslarda daha fazladır. Aynı zamanda apopitotik granüloza hücre insidansı en fazla GnRHa+hMG+hCG sikluslarında, en az ise hMG+hCG sikluslarında görülmüştür (10).

Yardımla üreme tedavi (YÜT) sikluslarında kümülüs granüloza hücrelerindeki gen ekspresyon çalışmaları oosit bütünlüğünü bozmadan bireysel fertiliteyi değerlendirmek için cazip non-invaziv yaklaşımlardır, çünkü kümülüs hücreleri gen ekspresyonunun herhangi bir anormal paterni anormal oosit gelişim nedenleri ya da sonuçları da olabilir. (7).

Genellikle embriyonik dokuların gelişimi sırasında eksprese edilen ve tamamen farklılaşmış dokularda tespit edilemeyen survivin, apopitoz inhibitör protein ailesinin bir üyesi olan hücre bölünmesini kontrol eden ve apopitozisi baskılayan bifonksiyonel bir proteindir. Çok sayıda çalışma, survivinin insan tümörlerinin hemen hemen hepsinde belirgin eksprese edildiğini göstermektedir. Kanser hücrelerinde, survivin aşırı ekspresyonu kötü klinik sonuç, tümör nüksü, kısalmış survey ve kemoterapi ve radyasyon direnci ile ilişkilidir. (124-125)

Tümör ve normal dokulardaki farklı survivin ekspresyonu, araştırmacıları survivin hedefli tedavi stratejileri geliştirmeye yönlendirmektedir. In vitro ve in vivo çalışmalar survivin down-modülasyonunun tümör hücrelerini kemoterapötik ajanlara duyarlı hale getirdiğini tümör büyümesini azalttığını göstermiştir. Survivine yönelik Transkripsiyonel önleyicisi YM155, antisens oligonükleotid (ASO), immünoterapi ve gen terapisi dahil olmak üzere çeşitli stratejiler tasarlanmıştır, (126-128) ve bunlardan bazıları çok çeşitli klinik araştırmalar kapsamındadır Ancak henüz kanser tedavisi için onaylanmış bir Survivin-hedefli tedavi bulunmamaktadır.

Yapılan çalışmalarda hücre döngüsü regülasyonu ile ilişkili bir protein ve apoptozun inhibisyonu olarak hareket eden survivin geninin granüloza hücrelerinde önemli bir rol

oynayabileceği belirtilmiş. Bu nedenle, survivin granüloza hücrelerinin apopitozdan korunmasıyla yakından bağlantılı ve IVF-ET sonucunu etkiliyor olabileceği düşünülmektedir (13).

Kumazawa ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada fare ve insan granüloza hücrelerinde survivin gen ekspresyonu ve HCG' nin gen ekspresyonu üzerine etkisi araştırılmış. İnsan granüloza hücrelerinde HCG' nin Survivin mRNA' sını artırıp artırmadığını belirlemek için, 24 saat boyunca HCG' nin çeşitli konsantrasyonları ile uyarılmıştır. 10 ile 100 IU/ml HCG' nin survivin ekspresyonunu önemli derecede artırdığı gösterilmiştir. Bu gözlemler insan korpus luteumunda antiapoptotik faktör olarak HCG'nin fonksiyonu olduğunu göstermektedir. Gelecekteki çalışmalarda da granüloza hücrelerinde apoptoz inhibisyonunda gonadotropinlerin survivin üzerindeki etkisini açıklamak gerektiğini belirtmişlerdir (129).

Başarılı folikül gelişimi, folikül büyümesini teşvik eden ve hücreleri apoptozdan koruyan sağkalım faktörlerin varlığına bağlıdır. Bu faktörlerin çoğu FSH ve LH tarafından düzenlenir. Yeterli FSH konsantrasyonları foliküllerin yaşamı için kritik öneme sahiptir.

Bu bağlamda biz çalışmamızda düşük ve yüksek doz gonadotropin kullanımının, antiapopitotik survivin gen ekspresyon seviyeleri üzerine olan etkisini karşılaştırmayı amaçladık.

Literatürde farklı stimülasyon protokollerinin survivin üzerine etkisini gösteren ve kötü ve normal over yanıtlı hastalarda survivin ekspresyonunu karşılaştıran bir çalışma yoktur ve bizim çalışmamız literatürde ilkdir.

Bizim çalışmamıza benzer şeklilde Kuniko ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tubal faktör, endometriozis ve erkek faktör nedeni ile IVF yapılan normal over yanıtlı hastalar karşılastırılmış. Endometriyozis hastalarında survivin gen ekspresyon seviyesi erkek faktörü olan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunmuş. Endometriyozis hastalarında survivin gen ekspresyon seviyesi tubal faktörü olan hastalara göre de daha düşük olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı izlenmemiş. Tubal faktör ve erkek faktörü olan hastalar arasında survivin ekspresyonu için istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiş. Gebe olan ve gebe olmayan hastalar

karşılaştırıldığında survivin ekspresyonu gebe olanlarda daha yüksek olarak bulunmuş. Buna bağlı olarak da suvivinin IVF başarısını gösterdiği vurgulanmıştır(130).

Varras ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tubal faktör ve erkek infertilitesi nedeni ile IVF/ICSI yapılan hastalar karşılaştırılmış. Tüm hastaların %93'ünde survivin ekspresyonu olduğu gösterilmiş. Tubal faktörü olan hastalarda survivin ekspresyon seviyeleri anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Survivin gen ekspresyon seviyesi ile yaş, VKİ, infertilite nedenleri ve süresi, bazal serum FSH ve LH seviyeleri, PRL ve AMH düzeyleri, toplam rFSH dozu, tedavi süresi, alınan oositlerin toplam sayısı, aspire edilen folikül sayısı, olgun oosit oranı, embriyo kalitesi, pozitif gebelik testi ve klinik gebelik varlığı arasında anlamlı bir fark bulunmamış (131).

Oosit ve granüloza hücrelerinde bulunan survivin kadın fertilitesi için gereklidir. Buna ek olarak, granüloza hücrelerinde Survivin ekspresyonunun olmaması over fonksiyonunun bozulmasına neden olarak foliküler gelişmeyi tehlikeye sokar, ovulasyonu azaltır, bozulmuş luteinization neden olur ve kadın subfertilitesine yol açar.

Çalışmamızda yüksek doz gonadotropin kullanan hastalarda survivin ekspresyonu düşük doz tedavi alan hastalara göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ancak kötü over yanıtlı hastalar normal over yanıtlı hastalar ile karşılaştırıldığında, survivin ekspresyonunun anlamlı olarak daha düşük olduğu bulundu. Bu da azalmış survivin ekspresyonunun, azalmış over rezevi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Düşük doz tedavi verilen hastalar, yüksek doz tedavi verilen hastalar ve normal over yanıtlı hastalarda survivin ekspresyonu düzeyleri için gebelik olan ve olmayan hastalar arasında farklılık izlenmedi. Matür oosit alınan ve alınmayan hastalar arasında da survivin ekspresyonu açısından farklılık izlenmedi.

Sonuç olarak, çalışmamızda yüksek doz gonadotropin kullanımının survivin ekspresyon düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı olmasada artırdığı gösterilmiştir. Bu sonuç çalışmadaki hasta sayısının az olmasına bağlanmıştır. Bu bağlamda survivin ekspresyonundaki artış alınan matür oosit sayısını artırarak IVF-ET başarısına katkı sağlayabilir. Ancak daha geniş randomize kontrollü çalışmalar yapılması gerekmektedir.

6. SONUÇLAR

1- Düşük ve yüksek doz gonadotropin kullanan kötü over yanıtlı hastaların klinik sonuçları benzerdir.

2- Yüksek doz gonadotrpin kullanımı klinik sonuçlara katkı sağlamamakla birlikte maliyetin artmasına neden olmaktadır.

3-Yüksek doz gonadotropin kullanımı granüloza hücrelerinde antiapopitotik survivin gen ekspresyon seviyelerini artırmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

4- Kötü over yanıtlı hastalarda, normal over yanıtlı hastalara göre survivin ekspresyonunun daha düşük seviyelerde olmasının azalmış over rezervine bağlı olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1- Speroff L, Glass NH, Kase RG. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. 7nd edition. 2007.

2- Kamel RM. Management of the infertile couple: an evidence-based protocol. RB&E 2010;8:1-7.

3- Mohamed KA, Davies WAR, Allsopp J, Lashen H. Agonist "flare-up" versus antagonist in the management of poor responders undergoing in vitro fertilization treatment. Fertil Steril 2005;83:331-5.

4- Ulug U, Ben-Shlomo J, Turan E, Erden HF, Akman NA, Bahceci M. Conception rates following assisted reproduction in poor responder patients: a retrospective study in 300 concecutive cycles. Repro Biomed Online 2003;6:439–43.

5- Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BC et al. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. Hum Reprod 2011;26:1616-24.

6- Zhang X, Jafari N, Barnes RB, Confino E, Milad M, Kazer RR. Studies of gene expression in human cumulus cells indicate pentraxin 3 as a possible marker for oocyte quality. Fertil Steril 2005, 83:1169–79.

7- Nakahara K, Saito H, Saito T, et al. The incidence of apoptotic bodies in membrana granulosa can predict prognosis of ova from patients participating in in vitro fertilization programs. Fertil Steril 1997;68:312–7.

8- Jancar N, Kopitar AN, Ihan A, Virant KI, Bokal EV. Effect of apoptosis and reactive oxygen species production in human granulosa cells on oocyte fertilization and blastocyst development. J Asist Reprod Genet 2007;24:91–7.

9- Kaneko T, Saito H, Takahashi T, Ohta N, Saito T, Hiroi M. Effects of controlled ovarian hyperstimulation on oocyte quality in terms of the incidence of apoptotic granulose cells. J Assist Reprod Genet 2000;17:580–5.

10- Tamm I, Wang Y, Sausville E, et al. IAP-family protein survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases, and anticancer drugs. Cancer Res 1998;58:5315–20.

11- Nassar A, Sexton D, Cotsonis G, Cohen C. Survivin expression in breast carcinoma: correlation with apoptosis and prognosis. Appl Immunohistochem Mol Morphol 2008;16:221–6.

12- Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. Nat Med 1997;3:917–21.

13- Johnson AL, Langer JS, Bridgeham JT. Survivin as a cell cycle-related and antiapoptotic protein in granulosa cells. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2002;143:3405–13.

14- Krausz C. Male infertility: Pathogenesis and clinical diagnosis. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2011;25:271–85.

15- Ammar T, Sidhu PS, Wilkins CJ. Male infertility: the role of imaging in diagnosis and Management Br J Radiol. 2012;85:59-68.

16- Fairley DH, Taylor A. ABC of subfertility Anovulation. BMJ 2003;327:546-9.

17- Berek JS, Novak E: Berek & Novak's gynecology. 14th edition 2007.

18- Forti G, Krausz C. Evaluation and treatment of the infertile couple. J Clin Endocrinol Metab. 1998;83:4177-88.

19- Yumru AE, Öndeş B. İnfertil Çifte Yaklaşım ve İn Vitro Fertilizasyon'a Doğru Hasta Seçimi. Jarem 2007;1:57-60.

20- Brannstorm M, Zackrisson U, Hagstrom HG, et al. Preovulatuar changes of blood flow in different regions of the human follicle. Fertil Steril 1998;69:435-42.

21- Duggan MA, Brashert P, Ostor A, et al. The accuracy and interobserver reproducibility of endometrial dating. Pathology 2001;33:292-7.

22- WHO Laboratory Manuel fort he Examination and processing of human semen 5th edition Brazil 2010.

23- Hendriks Dj, Broekmans Fj, Bancsi lF, Looman CW, Dejong FH, Tevelde ER. Single and repeated GnRH agonist stimulation tests compared with basal markers of ovarian reserve in the prediction of outcome in IVF. J Assist Reprod Genet 2005;22:65-73.

24- Castelbaum AJ, Wheeler J, Coutifaris CB, Mastroianni L, Lessey BA. Timing of the endometrial biopsy may be critical for the accurate diagnosis of luteal phase deficiency, Fertil and Steril 1994;61:443-7.

25- Guzick DS, Sullivan MW, Adamson GD, et al. Efficacy of treatment for unexplained infertility, Fertil and Steril 1998;70:207-13.

26- O'Connor KA, Holman DJ, Wood JW. Declining fecundity and ovcarian ageing in natural fertility populations. Maturitas 1998;30:127-36.

27- Bancsi LF, Broekmans FJ, Mol BW, Habbema JDF, te Velde ER. Performance of basal follicle stimulating hormone in the prediction of poor ovarian response and failure to become pregnant after in vitro fertilization: a meta-analysis. Fertil Steril 2003;79:1091-100.

28- Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. Hum Reprod Update 2006;2:685-718.

29- Van Rooij IA, Bancsi LF, Broekmans FJ, et al. Women older than 40 years of age and those with elevated follicle-stimulating hormone levels differ in poor response rate and embryo quality in in vitro fertilization. Fertil Steril 2003;3:482-8.

30- 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;64:1136-40.

31- Seifer DB, Scott RT Jr, Bergh PA, et al. Women with declining ovarian reserve may demonstrate a decrease in day 3 serum inhibin B before a rise in day 3 folliclestimulating hormone. Fertil Steril 1999;72:63-5.

32- Marc AF, Speroff L. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility, 8th edition 2011.

33- Eldar-Geva T, Ben-Chetrit A, Spitz IM, et al. Dynamic assays of inhibin B, anti-Mullerian hormone and estradiol following FSH stimulation and ovarian ultrasonography as predictors of IVF outcome. Hum Reprod 2005;20:3178-83.

34- McIlveen M, Skull JD, Ledger WL. Evaluation of the utility of multiple endocrine and ultrasound measures of ovarian reserve in the prediction of cycle cancellation in a high-risk IVF population. Hum Reprod 2007;22:778-85.

35- Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, et al. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. Mol Hum Reprod 2004;10:77-83.

36- La Marca A, Giulini S, Orvieto R, De Leo V, Volpe A. Anti-Müllerian hormone concentrations in maternal serum during pregnancy. Hum Reprod 2005;20:1569-72.

37- Durdag G.D, Berker B. Over Rezervinin Değerlendirilmesi Turkiye Klinikleri J Gynecol Obst 2008;18:254-65.

38- La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, et al. Anti Müllerian hormone (AMH) as apredictive marker in assisted reproductive technology (ART). Hum Reprod Update 2010;16:113-30.

39- Honnma H, Baba T, Sasaki M, et al. Serum Anti-mullerian Hormone Levels Affect the Rate of Ongoing Pregnancy After In Vitro Fertilization. Reprod Sci 2013;20:51-9 .

40- Ng EH, Yeung WS, Fong DY, Ho PC. Effects of age on hormonal and ultrasound markers of ovarian reserve in Chinese women with proven fertility. Hum Reprod 2003;18:2169-74.

41- Jayaprakasan K, Chan Y, Islam R, et al. Prediction of in vitro fertilization outcome at different antral follicle count thresholds in a prospective cohort of 1,012 women. Fertil Steril 2012;98:657-63

42- Chang MY, Chiang CH, Hsieh TT, Soong YK, Hsu KH. Use of the antral follicle count to predict the outcome of assisted reproductive technologies. Fertil Steril 1998;69:505–10.

43- Erdem M, Erdem A, Gürsoy R, Biberoğlu K. Comparison of basal and clomiphene citrate induced FSH and inhibin-B, ovarian volume and antral follicle counts as ovarian reserve tests and predictors of poor ovarian response in IVF. J Assist Reprod Genet 2004:21;37-45.

44- Kwee J, Elting mE, Schats R, mcDonnell J, lambalk CB. Ovarian volume and antral follicle count for the prediction of low and hyperresponders with in vitro fertilization. Reprod Biol Endocrinol 2007;15;1-10.

45- Erdem M, Erdem A, Biberoğlu K, Arslan M. Age-related changes in ovarian volume, antral follicle counts and basal follicle stimulating hormone levels: Comparison between fertile and infertile women. Gynecol Endocrinol 2003:17;199-205.

46- Syrop CH, Dawson JD, Husman KJ, Sparks AE, Van Voorhis BJ. Ovarian volume may predict assisted reproductive outcomes better than follicle stimulating hormone concentration on day 3. Hum Reprod 1999;14:1752-6.

47- Sharara FI, McClamrock HD. The effect of aging on ovarian volume measurements in infertile women. Obstet Gynecol 1999;94:57-60.

48- Engmann L, Sladkevicius P, Agrawal R, Bekir JS, Campbell S, Tan SL. Value of ovarian stromal blood flow velocity measurement after pituitary suppression in the prediction of ovarian responsiveness and outcome of in vitro fertilization treatment. Fertil Steril 1999;71:22–9.

49- Kupesi S, Kurjak A. Predictors of IVF outcome by three-dimensional ultrasound. Hum Reprod 2002;17:950-5.

50- Jadaon JE, Ben-Ami M, Haddad S, Radin O, Bar-Ami S, Younis JS. Prospective evaluation of early follicular ovarian stromal blood flow in infertile women undergoing IVF-ET treatment. Gynecol Endocrinol 2012;28:356-9.

51- Lass A, Silye R, Abrams DC, et al. Follicular density in ovarian biopsy ofinfertile women: a novel method to assess ovarian reserve. Hum Reprod 1997;12:1028-31.

52- Lambalk CB, de Koning CH, Flett A, Van Kasteren Y, Gosden R, Homburg R. Assessment of ovarian reserve. Ovarian biopsy is not a valid method for the prediction of ovarian reserve. Hum Reprod 2004;19:1055–9.

53- Hendriks Dj, Broekmans Fj, Bancsi lF, de Jong FH, Looman CW, Te Velde ER. Repeated clomiphene citrate challenge testing in the prediction of outcome in IVF: a comparison with basal markers for ovarian reserve. Hum Reprod 2005;20:163-9.

54- Scott RT Jr, Hofmann GE. Prognostic assessment of ovarian reserve. Fertil Steril 1995;63:1-11.

55- Ravhon A, Lavery S, Michael S, et al. Dynamic assays of inhibin B and oestradiol following buserelin acetate administration as predictors of ovarian response in IVF. Hum Reprod 2000;15:2297-301.

56- 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;9:1607-11.

57- Garcia JE, Jones GS, Acosta AA, Wright G Jr. Human menopausal gonadotropin/ human chorionic gonadotropin follicular maturation foroocyte aspiration: phase II, Fertil Steril 1983;39:174-9.

58- Tarlatzis BC, Zepiridis L, Grimbizis G, Bontis J. Clinical management of low ovarian response to stimulation for IVF: a systematic review. Hum Reprod Update 2003;9:61–76.

59- Loutradis D, Vomvolaki E, Drakakis P. Poor responder protocols for in-vitro fertilization: 0ptions and results. Curr Opin Obstet Gynecol 2008;20:374–8.

60- Pandian Z, McTavish AR, Aucott L, Hamilton MP, Bhattacharya S. Intervention for poor responders to controlled ovarian hyper stimulation in IVF. Cochrane Database Syst Rev. 2010;20:CD004379

61- KambleL, Gudi A, Shah A, Homburg R. Poor responders to controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilisation Hum Fertil, 2011;14:230–45.

61- Üstüner I, Sönmezer M, Ünlü C.Over rezervinin değerlendirilmesi ve kötü over yanıtlı olgulara yaklaşım.Türkiye Klinikleri J Gynecol Obstetric 2005;15:205-13.

63- Ubaldi F, Vaiarelli A, D'Anna R, Rienzi1 L. Management of Poor Responders in IVF: Is There Anything New? Biomed Res Int 2014;20:1-10.

64- Polat M, Bozdag G, Yarali H. Best Protocol for Controlled Ovarian Hyperstimulation in Assisted Reproductive Technologies: Fact or Opinion? Semin Reprod Med 2014;32:262–711.

65- Ben-Rafael Z, Benadiva CA, Ausmanas M, et al. Dose of human menopausal gonadotropin influences the outcome of an in vitro fertilization program. Fertil Steril 1987;48:964–8.

66- Land, J, Yarmolinskaya, M, Dumoulin J, and Evers, J. High-dose human menopausal gonadotropin stimulation in poor responders does not improve in vitro fertilization outcome. Fertil. Steril 1996;65:961-5.

67- Berkkanoglu M, Ozgur K, What is the optimum maximal gonadotropin dosage used in microdose flare-up cycles in poor responders? Fertil and Steril 2010;94:662–5.

68- Daya, S. and Gunby, J. Recombinant versus urinary follicle stimulating hormone for ovarian stimulation in assisted reproduction cycles Cochrane Database Syst Rev. 2000;4:CD002810.

69- Raga F, Bonilla-Musoles F, Casan EM, Bonilla F. Recombinant follicle stimulating hormone stimulation in poor responders with normal basal concentrations of follicle stimulating hormone and oestradiol: improved reproductive outcome. Hum. Reprod 1999;14:1431-4.

70- Eskandar M, Jaroudi K, Jambi A, Archibong EI, Coscun S, Sobande AA. Is recombinant follicle-stimulating hormone more effective in IVF poor responders than human menopausal gonadotrophins? Med Sci Monit 2004;10:16–9.

71- van Wely M, Kwan I, Burt AL. Recombinant versus urinary gonadotrophin for ovarian stimulation in assisted reproductive technology cycles. A Cochrane review. Hum Reprod Update 2012;18:111.

72- Polyzos NP, Devos M, Humaidan P, et al. Corifollitropin alfa followed by rFSH in a GnRH antagonist protocol for poor ovarian responder patients: an observational pilot study, Fertil and Steril 2013;99:422–6.

73- Polyzos NP, De Vos M, Corona R et al. Addition of highly purified HMG after corifollitropin alfa in antagonist-treated poor ovarian responders: a pilot study. Hum Reprod 2013;28:1254–60.

74- Healy S, Tan SL, Tulandi T, Biljan MM. Effects of letrozole on superovulation with gonadotropins in women undergoing intrauterine insemination. Fertil Steril 2003;80:1325–9.

75- Goswami SK, Das T, Chattopadhyay R, et al. A randomized single-blind controlled trial of letrozole as a low-cost IVF protocol in women with POR: a preliminary report. Hum Reprod 2004;19:2031–35

76- Lee VC, Chan CC, Ng EH, Yeung WS, Ho PC.. Sequential use of letrozole and gonadotrophin in women with poor ovarian reserve: a randomized controlled trial Reprod Biomed Online 2011;23:380-8.

77- Garcia-Velasco JA, Isaza V, Requena A, et al. High doses of gonadotrophins combined with stop versus non-stop protocol of GnRH analogue administration in low responder IVF patients: a prospective, randomized, controlled trial. Hum Reprod 2000;15:2292–6

78- Dirnfeld M, Fruchter O, Yshai D, Lissak A, Ahdut A, Abramovici H. Cessation of gonadotropin-releasing hormone analogue (GnRHa) upon down-regulation versus conventional long GnRH-a protocol in poor responders undergoing in vitro fertilization. Fertil Steril 1999;72:406–11.

79- Surrey ES, Bower JA, Hill DM, Ramsey J, Surrey MW. Clinical and endocrine effects of a microdose GnRH agonist "flare" regimen administered to poor responders who are undergoing in vitro fertilization. Fertil Steril 1998;69:419–24.

80- Mohsen IA, EL Din RE, Minimal stimulation protocol using letrozole versus microdose flare up GnRH agonist protocol in women with poor ovarian response undergoing ICSI. Gynecol Endocrinol 2013;29:105-88.

81- Copperman AB. Antagonists in poor-responder patients. Fertil Steril 2003;80:16-24.

82- Messinis IE, Loutradis D, Domali E , et al. Alternate day and daily administration of GnRH antagonist may prevent premature luteinization to a similar extent during FSH treatment. Hum Reprod 2005;20:3192–7.

83- Loutradis D, Stefanidis K, Drakakis P, Milingos S, Antsaklis A, Michalas S. A modified gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist protocol failed to increase clinical pregnancy rates in comparison with the long GnRH protocol. Fertil Steril 2004;82:1446–8.

84- Fasouliotis SJ, Laufer N, Sabbagh-Ehrlich S, Lewin A, Hurwitz A, Simon A. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-antagonist versus GnRH-agonist in ovarian stimulation of poor responders undergoing IVF. J Assist Reprod Genet 2003;20:455-60.

85- Griesinger G, Diedrich K, Tarlatzis BC, Kolimbianakis EM. Gn RH-antagonists in ovarian stimulation for IVF in patients with poor response to gonadotrophins, polysystic ovary syndrome, and risk of ovarian hyperstimulation: a meta-analysis. Reprod Biomed Online 2006;13:628–38.

86- Demirol A, Gurgan T. Comparison of microdose flare-up and antagonist multiple-dose protocols for poor-responder patients: a randomized study. Fertil Steril 2009;92:481–5

87- Kucuk T, Göktolga U, Sozen E. Efficiency of follicle-stimulating hormone, commenced in the luteal phase, for overcoming a poor response in assisted reproduction. J Obstet Gynaecol Res 2008;34:574-7.

88- Esposito MA, Barnhart KT, Coutifaris C, Patrizio P. Role of periovulatory luteinizing hormone concentrations during assisted reproductive technology cycles stimulated exclusively with recombinant follicle-stimulating hormone. Fertil Steril 2001;75:519–2.

89- Barrenetxea G, Agirregoikoa JA, Jime´nez MR, de Larruzea AL, Ganzabal T, Carbonero K. Ovarian response and pregnancy outcome in poor-responder women: a randomized controlled trial on the effect of luteinizing hormone supplementation on in vitro fertilization cycles. Fertil Steril 2008;89:546–53

90- Baart EB, Martini E, Eijkemans MJ, et al. Milder ovarian stimulation for in-vitro fertilization reduces aneuploidy in the human preimplantation embryo: a randomized controlled trial. Hum Reprod 2007;22:980– 8.

91- Devroey P, Bourgain C, Macklon NS, Fauser BC. Reproductive biology and IVF: ovarian stimulation and endometrial receptivity. Trends Endocrinol Metab 2004;15:84-90.

92- Katz-Jaffe MG, Trounson AO, Cram DS. Chromosome 21 mosaic human preimplantation embryos predominantly arise from diploid conceptions. Fertil Steril 2005;84:634–43.

93- Kolibianakis E, Zikopoulos K, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem A, Devroey P. Modified natural cycle for IVF does not offer a realistic chance of parenthood in poor responders with high day 3 FSH levels, as a last resort prior to oocyte donation. Hum Reprod 2004;19:2545-9.

94- Yoo JH, Cha SH, Park CW, et al. Comparison of mild ovarian stimulation with conventional ovarian stimulation in poor responders Clin Exp Reprod Med 2011;38:159-63.

95- Karimzadeh MA, Mashayekhy M, Mohammadian F, Moghaddam FM. Comparison of mild and microdose GnRH agonist flare protocols on IVF outcome in poor responders Arch Gynecol Obstet 2011;283:1159–64.

96- Balasch J, Fabreques F, Penarruba J, et al. Pretreatment with transdermal testosterone may improve ovarian response to gonadotrophins in poor-responder IVF patients with normal basal concentrations of FSH. Hum Reprod 2006;21:1884–93.

97- Massin N, Cedrin-Durnerin I, Coussieu C, Galey-Fontaine J, Wolf JP, Hugues JN. Effects of transdermal testosterone application on the ovarian response to FSH in poor responders undergoing assisted reproduction technique a prospective, randomized, double-blind study. Hum Reprod 2006;21:1204–11

98- González-Comadran M, Durán M, Solà I, Fábregues F, Carreras R, Checa MA Effects of transdermal testosterone in poor responders undergoing IVF: systematic review and meta-analysis. Reprod BioMed Online 2012;25:450-9.

99- Battaglia, C., Salvatori, M., Maxia, N., Petraglia, F., Facchinotti, F. Volpe, A. Adjuvant L-arginine treatment for in-vitro fertilization in poor responder patients. Hum. Reprod.1999;141:690-7.

100- Barreca A, Artini PG, Del Monte P, et al. In vivo and in vitro effect of growth hormone on estradiol secretion by granulosa cells. J Clin Endocrinol Metab 1993;77:61–7.

101- Kucuk T, Kozinoglu H, Kaba A. Growth hormone co-treatment within a GnRH agonist long protocol in patients with poor ovarian response: a prospective, randomized, clinical trial. J Assist Reprod Genet. 2008;25:123-

102- Eftekhar M, Aflatoonian A, Mohammadian F, Eftekhar T. Adjuvant growth hormone therapy in antagonist protocol in poor responders undergoing assisted reproductive technology. Arch Gynecol Obstet. 2013;287:1017-21.

103- Kotarba D, Kotarba J, Hughes E. Growth hormone for in vitro fertilization Cochrane Database Syst Rev. 2000:CD000099.

104- Stein, A., Rufas, O., Amit, S., et al. Assisted hatching by partial zona dissection of human pre-embryos in patients with recurrent implantation failure after in vitro fertilization. Fertil. Steril 1995;63:838-41.

105- Schoolcraft WB, Schlenker T, Gee M, Jones GS, Jones HW Jr. Assisted hatching in the treatment of poor prognosis in vitro fertilization candidates. Fertil Steril 1994;62:551-4.

106- Carney SK, Das S, Blake D, Farquhar C, Seif MM, Nelson L. Assisted hatching on assisted conception (in vitro fertilisation (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI). Cochrane Database Syst Rev. 2012;12;12:CD001894.

107- Anderson RA, Sciorio R, Kinnell H et al Cumulus gene expression as a predictor of human oocyte fertilisation, embryo development and competence to establish a pregnancy. Reproduction 2009;138:629–37.

108- Yuan W, Giudice LC. Programmed cell death in human ovary is a function of follicle and corpus luteum status. J Clin Endocrinol Metab 1997;82:3148-55.

109- Oosterhuis GJE, Michgelsen HW, Lambalk CB, et al. Apoptotic cell death in human granulosa-lutein cells: a possible indicator of in vitro fertilization outcome. Fertil Steril 1998;4:747-9.

110- Khan Z, Khan JG. Structural functional and therapeutic biology of survivin.Cancer Letters 2006;244:164-71.

111- Akhtar M., Gallagher L., Rohan S. Survivin: Role in diagnosis, prognosis and teratment of bladder cancer. Adv Anat Pathol.2006;13:122-6.

112- Shon DM, Kim SY, Baek MJ, Lim CW, Lee MH. Expression of survivin and clinical corellation in patients with breast cancer. Biomed Pharmacoter 2006;60: 289-92.

113- O'Connor DS, Schechner JS, Adida M, Mersi M. Control of Apoptosis during Angiogenesis by Survivin Expression in Endothelial Cell. Am J. Pathol 2000:156;393-8.

114- Bahçeci M, Ulug U, Turan E, Akman MA. Comparisons of follicular levels of sex steroids, gonadotropins and insulin like growth factor-1 (IGF-1) and epidermal growth factor (EGF) in poor responder and normoresponder patients undergoing ovarian stimulation with GnRH antagonist Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2007:130:93-8.

115- Kyrou D, Kolibianakis EM, Venetis CA, Papanikolaou EG, Bontis J, Tarlatzis BC. How to improve the probability of pregnancy in poor responders undergoing in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis. Fertil Steril 2009;91:749-66.

116- Sunkara SK, Coomarasamy A, Faris R, Braude P, Khalaf Y. Long gonadotropin-releasing hormone agonist versus short agonist versus antagonist regimens in poor responders undergoing in vitro fertilization: a randomized controlled trial. Fertil Steril 2014;101:147–53

117- Nargund G, Fauser BC, Macklon NS, Ombelet W, Nygren K, Frydman R. The ISMAAR proposal on terminology for ovarian stimulation for IVF. Hum Reprod 2007;22:2801–4

118- Verberg MF, Macklon NS, Nargund G, et al. Mild ovarian stimulation for IVF. Hum Reprod Update 2009;15:13-29.

119- Karande VC, Jones GS, Veeck LL, Muasher SJ. High dose follicle-stimulating hormone stimulation at the onset of the menstrual cycle does not improve thein vitro fertilization outcome in low-responderpatients. Fertil Steril 1990;53:486–9.

120- Van Hooff MH, Alberda AT, Huisman GJ, Zeilmaker GH, Leerentveld RA. Doubling the human menopausal gonadotrophin dose in the course of anin-vitro fertilization treatment cycle in low responders:a randomized study. Hum Reprod 1993;8:369–73.

121- Zarek SM, Muasher SJ.Mild/minimal stimulation for in vitro fertilization: an old idea that needs to be revisited. Fertil Steril_ 2011;95:2449–55.

122- A. Oride, H. Kanasaki, and K. Miyazaki Comparison of human menopausal gonadotropin stimulation with and without clomiphene for *in-vitro* fertilisation in poor-responders J Obstet Gynaecol 2015;35:163-7

123- Lazer T, Dar S, Shlush E et all. Comparison of IVF Outcomes between Minimal Stimulation and High-Dose Stimulation for Patients with Poor Ovarian Reserve Int J Reprod Med 2014, 1- 5 pages

124- Zaffaroni N, Daidone MG. Survivin expression and resistance to anticancer treatments: perspectives for new therapeutic interventions. Drug Resist Updat 2002; 5: 65-72.

125- Coumar MS, Tsai FY, Kanwar JR, Sarvagalla S and Cheung CH. Treat cancers by targeting survivin: just a dream or future reality? Cancer Treat Rev 2013; 39: 802-11

126- Rauch A, Hennig D, Schafer C, Wirth et all. Survivin and YM155: how faithful is the liaison? Biochim Biophys Acta 2014; 1845: 202-20.

127- Carter BZ, Milella M, Altieri DC, Andreeff M. Cytokine-regulated expression of survivin in myeloid leukemia. Blood 2001; 97: 2784-90.

128- Kelly RJ, Lopez-Chavez A, Citrin D, Janik JE, Morris JC. Impacting tumor cell-fate by targeting the inhibitor of apoptosis protein survivin. Mol Cancer 2011; 10: 3

129- Kumazawa Y, Kawamura K, Sato T et all. HCG up-regulates survivin mRNA in human granulosa Hum Reprod 2005;11:161–6

130- Fujino K, Yamashita Y, Hayashi A, Asano M, Morishima S, Ohmichi M. Survivin gene expression in granulosa cells from infertile patients undergoing in vitro fertilization–embryo transfer. Fertil Steril.2008; 89:60-5

131- Varras M, Polonifi K, Mantzourani M et all. Expression of antiapoptosis gene survivin in luteinized ovarian granulosa cells of women undergoing IVF or ICSI and embryo transfer: clinical Reprod Biol Endocrinol 2012;:74:1-10

T.C.

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Filiz ÜLKER'e ait "**Düşük Doz ve Yüksek Doz Gonadotropinler ile Ovulasyon İndüksiyonu Yapılan Kötü Over Yanıtlı Hastalarda Luteinize Granüloza Hücrelerinde Survivin Gen Ekspresyonunun, Embriyo Kalitesi ve Gebelik Oranlarına Etkilerinin Araştırılması**" adlı çalışma, jürimiz tarafından **Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı**'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih:.../.../2015

İmza

Başkan : Ercan M Ayaz ....

Üye : Savaş Karakuş ....

Üye : Semih Zeki Uludağ ....