



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

DÜŞÜK OVER REZERVİ TANILI HASTALARDA BÜYÜME HORMON
DÜZEYLERİ VE DİĞER PARAMETRELERLE İLİŞKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Dr. Nergis DÜZOK

UZMANLIK TEZİ

BURSA - 2019



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

DÜŞÜK OVER REZERVİ TANILI HASTALARDA BÜYÜME HORMON
DÜZEYLERİ VE DİĞER PARAMETRELERLE İLİŞKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Dr. Nergis DÜZOK

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Gürkan UNCU

BURSA - 2019

İÇİNDEKİLER

Özet.....	iii
İngilizce Özet	v
Tablolar Dizini.....	vii
Grafikler Dizini.....	viii
Şekiller Dizini.....	ix
Giriş	1
Genel Bilgiler.....	4
İnfertilite.....	4
İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi	4
İnfertilite Nedenleri	5
Düşük Over Rezervi (DOR)	5
Açıklanamayan İnfertilite.....	8
Ovulatuvar Disfonksiyon.....	8
Tubal Faktör.....	9
Uterin Anomali.....	9
Erkek Faktör.....	9
Folikülogenezis ve Oosit Maturasyonu.....	11
Overin yapısı ve Folikülogenezis.....	11
Foliküler Faz.....	14
Primordial Folikül.....	14
Primer Folikül.....	15
Sekonder Folikül	16
Tersiyer (Graaf) Folikül.....	17
Ovulasyon.....	17
Luteal Faz.....	17

Atrezi Süreci.....	18
Anti-Müllerian Hormon (AMH).....	19
AMH'nın Sentez ve Salınımı.....	19
Over Rezervi ve AMH İlişkisi.....	20
Büyüme Hormonu (GH).....	21
GH'ın Sentez ve Salınımı.....	22
GH'ın Etki Mekanizması.....	24
İnsülin Benzeri Büyüme Faktörleri (IGF I-II).....	24
GH'ın Ovarian Etkileri.....	25
Gereç – Yöntem.....	28
Araştırma Yeri ve Zamanı.....	28
Etik Kurul İzni.....	28
Araştırma Tipi ve Değişkenleri.....	29
Araştırmaya Dahil Etme ve Dışlama Kriterleri.....	29
Materyallerin Toplanması.....	30
GH Düzey Ölçümü.....	32
AMH Düzey Ölçümü.....	32
Verilerin Toplanması ve Veri Toplama Aracı.....	33
Verilerin Analizi.....	33
Araştırma İnsan Gücü Ve Bütçesi.....	34
Bulgular.....	35
Tartışma.....	46
Kaynaklar.....	50
Teşekkür.....	60

ÖZET

AMAÇ: Düşük over rezervi (DOR) tanılı IVF tedavisi planlanan hastalarda GH düzeylerinin belirlenmesi, over rezervinin biyokimyasal belirteci olan serum AMH düzeyi ve diğer parametrelerin serum GH düzeyi ile arasındaki ilişkinin araştırılması ve bu sayede DOR olgularında GH' nun yerini belirlenmesi amaçlandı.

GEREÇ-YÖNTEM: Prospektif kesitsel bir çalışma olarak tasarlandı. Çalışmada olgular Şubat 2019 – Nisan 2019 tarihleri arasında Bursa Uludağ Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı bünyesinde genel jinekoloji ve infertilite polikliniklerine başvuran hastalar arasından seçildi. Çalışmaya alınan kadınlar DOR (grup-I), açıklanamayan infertilite (grup-II) ve kontrol (grup-III) grupları olmak üzere üç grup halinde incelendi. Grup-I'de 52 , Grup-II'de 52 , Grup-III'de 50 olgu olmak üzere toplam 154 olgu çalışmaya dahil edildi. Menstrüel siklusunun 3. günü serum AMH ve GH düzeyi çalışıldı. Olguların demografik özellikleri, AFC, BMI, FSH, LH, E2 seviyelerine ait bilgiler kayıt edildi. İstatistiksel analizler SPSS 21.0 programı kullanılarak gerçekleştirildi.

SONUÇLAR: Her üç grubun GH düzeyleri kıyaslandığında aralarında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p=0.129$). Her üç grubun AMH düzeyleri kıyaslandığında aradaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu bulundu ($p<0.001$). Her üç grupta GH düzeyleri ile AMH düzeyleri arasındaki korelasyon analizinde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadı (sırasıyla $p=0.567$, $p=0.516$, $p=0.188$). Grup-I'de GH düzeyleri ile yaş arasında anlamlı düzeyde negatif korelasyon tespit edildi ($p=0.008$). Grup-I'de GH düzeyleri ile BMI değerleri arasında anlamlı düzeyde negatif korelasyon tespit edildi ($r = -0.532^{**}$ $p<0.001$). Grup-I ve Grup-II'de GH düzeyleri ile E2 düzeyleri arasında anlamlı düzeyde pozitif korelasyon tespit edildi (sırasıyla $r 0.314^{**}$ $p=0.028$, $r 0.311^{**}$ $p=0.025$).

TARTIŞMA: DOR grubunda yaşın ileri olmasının GH düzeyleri üzerine doğrudan etkisinin yanı sıra yaşa bağlı over rezervinde azalma ile GH düzeylerinin düşük saptanmasına neden olabileceği dşnld. GH'nun over rezervi üzerine etkilerini açıklayabilmek için birden fazla ölçüm ile GH düzeylerinin, GH' nun periferik etkisinden sorumlu IGF-I düzeylerinin, menstrüel siklus içi farklılıkların, IVF tedavisinde kullanılan gonadotropin dozlarının, GH' nun embiyolojik parametrelerle olan ilişkisinin, GH' nun oosit toplanması esnasında follikül sıvısındaki etkilerinin araştırılması nerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: DOR, GH, AMH, Over rezervi

ABSTRACT

INVESTIGATION OF GROWTH HORMONE LEVELS AND ITS RELATIONSHIP WITH OTHER PARAMETERS IN PATIENTS WITH POOR OVER RESERVE

AIMS: The aim of this study was to investigate serum GH levels in patients undergoing IVF treatment with poor ovarian reserve (POR) and the relationship between serum GH levels and biochemical marker of ovarian reserve serum AMH levels, and other parameters.

MATERIAL-METHODS: It was designed as a prospective cross-sectional study. The subjects were selected among the patients who applied to the general gynecology and infertility outpatient clinics of the Department of Obstetrics and Gynecology in Bursa Uludağ University between February 2019 - April 2019. Women included in the study were divided into three groups as POR (group-I), unexplained infertility (group-II) and control (group-III) groups. A total of 154 cases, 52 in Group-I, 52 in Group-II, 50 in Group-III, were included in the study. Serum AMH and GH levels were studied on the third day of menstrual cycle. Demographic characteristics, AFC, BMI, FSH, LH, E2 levels were recorded. Statistical analyzes were performed using SPSS 21.0 program.

RESULTS: When GH levels of all three groups were compared, no statistically significant difference was found between them ($p = 0.129$). When AMH levels of all three groups were compared, the difference was found to be statistically significant ($p < 0.001$). There was no statistically significant correlation between GH levels and AMH levels in all three groups ($p = 0.567$, $p = 0.516$, $p = 0.188$, respectively). There was a significant negative correlation between GH levels and age in Group-I ($p = 0.008$). In Group I, a significant

negative correlation was found between GH levels and BMI values ($r = -0.532$ **, $p < 0.001$). There was a significant positive correlation between GH levels and E2 levels in Group-I and Group-II ($r = 0.314$ **, $p = 0.028$, $r = 0.311$ **, $p = 0.025$, respectively).

CONCLUSIONS: It was thought that age in the DOR group might have a direct effect on GH levels, as well as decrease in age-related ovarian reserve and lower GH levels. In order to explain the effects of GH on ovarian reserve, it is recommended to investigate GH levels with multiple measurements, IGF-I levels which is responsible for the peripheral effect of GH, differences in the menstrual cycle, gonadotropin doses used in IVF treatment, the relationship between GH and embryological parameters and the effects of GH on follicle fluid.

Keywords: POR, GH, AMH, Ovarian reserve

TABLolar DİZİNİ

Tablo-1: Kontrol ve Hasta gruplarının demografik özelliklerinin karşılaştırılması

Tablo-2: Grup-I ve Grup-II hastalarına ait geçmiş İVF siklus sayısı, antral follikül sayısı (AFC) ve infertilite sürelerine ait veriler

Tablo-3: Kontrol grubundaki hastalara ait gravida, parite bilgileri

Tablo-4: Grupların serum AMH ve GH düzeylerinin karşılaştırılması

Tablo-5: İnfertilite tanılı hastaların bazal hormon düzeyleri

Tablo-6.1: Grup-I için değişkenlerin birbiri ile korelasyon analiz sonuçları

Tablo-6.2: Grup-I için değişkenlerin GH düzeyi ile korelasyon analiz sonuçları

Tablo-7.1: Grup-II için değişkenlerin birbiri ile korelasyon analiz sonuçları

Tablo-7.2: Grup-II için değişkenlerin GH düzeyi ile korelasyon analiz sonuçları

Tablo-8: Grup-III için değişkenlerin GH düzeyi ile korelasyon analiz sonuçları

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik-1: Grup-I için yaşa göre serum GH düzeylerinin dağılım grafiği

Grafik-2: Grup-I için serum E2'e düzeylerine göre serum GH düzeylerinin dağılım grafiği

Grafik-3: Grup-I için vücut kitle indeksi (BMI) değerlerine göre serum GH düzeylerinin dağılım grafiği



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil-1: Embriyonik genital kabartıdan over testislerin farklılanması

Şekil-2: Ovarian follikülerin gelişim döngüsü

Şekil-3: AMH sinyal iletimi şeması

Şekil-4: AMH sentezi gerçekleşen foliküler evreler



GİRİŞ

İnfertilite; bir çiftin korunmasız ilişkiye rağmen kadın yaşı 35'in altında olduğunda 12 ay, 35-40 yaş arasında 6 ay süre ile gebelik elde edememesi olarak tanımlanmaktadır (1). 40 yaş üzerinde ise 6 ay beklenmeksizin infertilite değerlendirilmesine başlanmalıdır. İnfertilite, daha önce hiç gebeliğin gelişmediği primer infertilite ve daha önce canlı doğum ile sonuçlanmasa dahi gebelik elde edilen sekonder infertilite olarak gruplandırılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından bir halk sağlığı sorunu olarak tanımlanan infertilite prevalansı % 8-10 olarak bildirilmektedir. Üreme çağındaki çiftlerin % 10-15'i infertilite sorunu ile karşılaşmaktadır (2). Kadın yaşının ileri olduğu çiftlerde infertilite oranlarının arttığı tespit edilmiştir (3). Fertilité, kontrasepsiyon uygulamayan topluluklarda 20 yaşında pik yaparken, 35 yaş itibari ile azalmaya başlar ve bu azalma 37 yaşından sonra daha belirgin hale gelir. Bu nedenle 40 yaş sonrası gebelik oranı oldukça azalır (4). Günümüzde çocuk sahibi olmanın ileri yaşlara ertelenmesi, yaşa bağlı infertilite problemlerinde artmaya neden olmuştur.

Kontrasepsiyon uygulanmaksızın 12 ay süreli cinsel ilişki sonucunda çiftlerin % 90' ı gebelik elde edebilmektedir (5). Fekundabilite siklus başına gebe kalma olasılığı anlamına gelmektedir ve fertil çiftlerde fekundabilite oranı % 20 olarak saptanmıştır. Fekundite bir siklus için canlı doğum elde etme oranı olarak tanımlanmaktadır ve fekundabiliteden daha düşük değerdedir. Kadın yaşı ilerledikçe patolojik olmanın dışında fizyolojik olarak fekundabilitede azalma meydana gelir. (3,4)

Oogonyumlar gestasyonel 6 - 8. haftalarda ilk mayotik bölünmeye girip profaz evresinde durdukları dönemde oositlere dönüşürler. Gestasyonel 16 - 20. haftalarda 6 - 7 milyon oogonyum sayısına ulaşılır (6,7,8). Germ hücrelerindeki yıkım sonucunda dişi yenidoğan yaşama, oositlerinin % 80' ini kaybederek başlar (9,10). Adolesan dönemde germ hücre sayısı 300-500 bin değerlerine

inmiştir (11). Üreme dönemini içeren süre boyunca 400 - 500 oosit ovulasyona uğramak üzere seçilir. Menopoz döneminde toplam 100 germ hücresi kalana dek primer folliküller azalmaya devam eder (12-15).

Over rezervi, overlerdeki istirahat halindeki primordial folikül popülasyonunu ve gonadotropinlerle (ekzojen veya endojen) uyarılabilecek folikül havuzunu ifade eder. Over rezervinin değerlendirilmesi infertilite tedavisi uygulanacak hastalarda ovarian stimülasyona başarılı yanıt gelişme olasılığının ve fekunditenin ön görülmesi açısından önem taşımaktadır. Düşük over rezervi (DOR); ovarian stimülasyona zayıf yanıt gelişimi, düşük oosit verimi, embriyo kalitesi ve düşük gebelik oranlarıyla ilişkili bulunmuştur (16). Fertilitenin en önemli parametrelerinden olan over rezervinin değerlendirilmesi için belirteçlerin geliştirilmesi, over rezervinde azalmaya sebep olabilecek mekanizmaların anlaşılması ve kötü ovarian rezervin iyileştirilmesine yönelik olası tedavi seçeneklerinin saptanması son yıllarda infertilite araştırmalarının hedefi olmuştur. İnsan overinde ilk olarak primer foliküllerin granüloza hücrelerinde görülen anti-müllerian hormon (AMH) sentezi, preantral ve 2-6 mm boyutlu antral foliküllerde en yüksek seviyesine ulaşmaktadır (17,18). Bu nedenle AMH'nın over folikül büyümesinin düzenlenmesinde rol oynadığı ve over rezervinin biyokimyasal belirteci olduğu kabul edilmektedir (19-21).

Büyüme hormonu (GH), ovarian granüloza hücrelerinde insülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I) aracılığı ile granüloza hücrelerinin proliferasyonu ve farklılaşmasını düzenlemektedir. IGF-1, overlerin gonadotropin stimülasyonuna cevabını artırır (22). Granüloza hücrelerinin çoğalmasını ve farklılaşmasını uyarırken, bu hücrelerdeki apoptozu ve foliküler atrezii önleyerek follikülogenez üzerinde rol oynamaktadır (23). Apoptozun regülasyonunda özellikle B hücre lenfoma 2 (Bcl-2) ailesi proteinleri, kaspazlar, p53 ve ilişki proteinler rol oynamaktadır. Kaspaz ailesi ve Bcl-2 ailesi en önemli apoptotik regülatör faktörlerdir. IGF-1, Bcl-2 ilişkili X protein (Bax) ve apoptotik Bcl-2 protein ekspresyonunu düzenlemesi sayesinde foliküler atrezinin gelişimini önlemektedir (24-26).

Kontrollü ovarian hiperstimülasyon protokollerine, Bologna kriterlerine göre zayıf ovarian yanıt verdiği tespit edilen hastalarda günümüzde adjuvan tedavi olarak GH replasmanı uygulanmaktadır. GH'nun adjuvan olarak kullanılması ile oosit , endometrial reseptivite ve embriyo ilişkili olarak IVF sonuçlarında olumlu etki saptayan çalışmalar mevcuttur (27-30). Ancak GH'nun ovarian fonksiyonlar üzerinde etkisi olduğu gösterilse de over rezervi üzerindeki etki mekanizması, DOR tanılı hastaların serum GH düzeyleri ve over rezerv belirteçleri ile ilişkisi henüz kesin olarak gösterilememiştir.

Bizim bu çalışmada amacımız; düşük over rezervi (DOR) ve açıklanamayan infertilite tanılı in vitro fertilizasyon (IVF) tedavisi planlanan hastalarda over rezervinin biyokimyasal belirteci olan serum AMH düzeyi ile serum GH düzeyi arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır.

GENEL BİLGİLER

İnfertilite

İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi

İnfertil çift ile hekimin ilk görüşmesi tedavinin en önemli basamağını oluşturmaktadır. İnfertil çiftin ayrıntılı medikal, cerrahi, ailesel ve emosyonel anamnezi alınmalıdır. Her bir eşten kaynaklanan faktörler gebelik eldesinin zorluğunda bir arada olabilmektedir. Bu nedenle invaziv tedavilere başlamadan önce olası tüm tanıları değerlendirmek büyük önem taşımaktadır. İnfertilite tedavisine başlanmadan önce gerçekleştirilmesi gereken temel incelemeler semen analizi, over rezervi, ovulatuvar fonksiyon, uterin kavite ve tubal geçişin değerlendirilmesini içermelidir.

Partnerlerden her biri infertilite potansiyelini paylaştığından çiftler ayrı bireyler olarak değerlendirilmelidir. İnfertil çiftin ilk değerlendirilmesi tam bir tıbbi ve menstrüel anamnezi, infertilite süresi, hayat tarzı ve sosyal alışkanlıkların incelenmesini, fizik muayeneyi içermelidir. Kadın infertilitesinin değerlendirilmesinde üreme fizyolojinin her komponenti (serviks, uterus, endometrium, ovarian fonksiyon, tuba uterinalar ve periton) anormallikleri tanımlamak üzere değerlendirilmelidir. Başlangıç aşamasında erkek partnerin değerlendirilmesi üreme öyküsü ve semen analizini içermelidir.

Anamnez alırken cinsel yolla bulaşan hastalıklar, kontraseptif kullanımı, koital disfonksiyon, multipl partner, önceki gebelik öyküleri veya geçirilmiş uterin cerrahi öyküsü sorgulanmalıdır. Menstrüel siklusun düzeni ve bununla ilişkili ağrı semptomları değerlendirilmelidir. Oligomenore, amenore öyküsü, hiperandrojenizm düşündürecek semptomların (hirsutizm, akantozis nigrikans, alopesi) varlığında anovulasyon ile seyredabilen polikistik over sendromu akla

gelmelidir (31). Medikal öyküde hiperprolaktinemi, hipertiroidi, hipotirodi, konjenital adrenal hiperplazi varlığı sorgulanmalıdır. Metroraji yakınmasının varlığı uterin endometrial polip yada myom benzeri lezyonları düşündürmelidir (32). Kronik pelvik ağrı, dismenore, disparoni mevcut ise endometriozis akla gelmelidir. Douglasta, uterosakral ligamentte, rektovajinal septumda, palpasyonla hassas nodüllerin varlığı endometriozisin ek bulguları olabilir. Cinsel yolla bulaşan hastalık epizotları, geçirilmiş abdominal / pelvik cerrahi öyküsü pelvik adezyon, tubal hasar ve obstrüksiyonun bir bulgusu olabilir (33). Geçirilmiş servikal cerrahi öyküsünün servikal mukus üretimi azaltarak servikal stenoza sebep olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır (34). Ailede infertilite öyküsü, tekrarlayan gebelik kaybı, fetal anomali olması genetik bir temel olabileceğini düşündürmelidir. Hastaların vücut yağ indeksleri hesaplanmalıdır ve yağ dağılımları kaydedilmelidir. Yüksek vücut yağ indeksleri fertilitede azalma ile ilişkilidir. Sekonder seks karakterlerinin tam olmayan gelişimi hipogonadotropik hipogonadizmin bulgusu olabileceğinden mutlaka akla gelmelidir.

İnfertilite Nedenleri

Günümüzde infertilite nedeniyle her altı kişiden biri gebelik elde edemedikleri için hekime başvurmaktadır. İnfertil çiftlerde etyolojide yer alan nedenlerin dağılımı; % 35 erkek faktörü, % 35 tubal ve peritoneal patoloji, % 15 anovulasyon, % 10 açıklanamayan infertilite ve % 5 sık olmayan sebepler olarak bildirilmiştir (35).

DOR

Over rezervi, overlerdeki istirahat halindeki primordial follikül sayısını ve gonadotropinlerle (ekzojen veya endojen) uyarılabilecek folikül havuzunu ifade eder. Potansiyel büyüyen follikül sayısını ve oositlerin üreme potansiyelini

belirlemeyi sağlamaktadır. İnfertil hastaların over rezervini değerlendirip buna göre tedavi protokollerini planlamak IVF sonuçlarındaki başarıyı etkilemektedir. Over rezerv testleri follikül sayısı kapsamında farmakolojik dozlarda ekzojen gonadotropinlere overlerin nasıl yanıt vereceği, gelişecek oosit sayısı, stimülasyon sırasındaki serum estrodiol seviyeleri, stimülasyon süresi ve gereken ekzojen gonadotropin miktarının saptanmasında prediktif açıdan yararlı kabul edilmektedir. IVF tedavisi alan hastalarda toplanan oosit sayısı tedavi başarısını belirleyen en önemli faktörler arasında yer almaktadır. Over rezervinin azalmasına sebep olan etmenlerin başında ileri yaş gelmektedir. Bunun dışında geçirilmiş ovarian cerrahi öyküsü, endometriozis, prematür over yetmezliği (POF), geçirilmiş pelvik enfeksiyon, radyoterapi/kemoterapi öyküsü, sigara-alkol tüketimi gibi alışkanlar da over rezervinin azalmasına sebep olabilmektedir. IVF tedavilerinde; zayıf ovarian yanıtın altında kötü over rezervinin yattığı kabul edilmektedir. Kötü over yanıtı olan hastalarda gebelik oranları düşmektedir. Kötü ovarian yanıtın tanımlanması için Avrupa İnsan Üremesi ve Embriyoloji Derneği (ESHRE) ve Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (ASRM) konsensusu ile Bologna kriterleri belirlenmiştir. Bologna kriterleri (36):

1. İleri maternal yaş (≥ 40 yaş) ya da zayıf ovaryan yanıt için diğer risk faktörlerinin olması,
2. Önceki zayıf ovaryan yanıt öyküsünün olması (konvansiyonel ovaryan hiperstimülasyon yöntemleri ile < 3 oosit toplanmış olması)
3. Anormal ovaryan rezervi testi olması (Antral folikül sayısı (AFC) 5-7'den az olması, AMH $<0.5-1.1$)

Belirtilen üç kriterden ikisini sağlayanlar kötü ovarian yanıt veren hastalar olarak kabul edilmektedir.

İyi bir ovarian rezerv testi; tedavi ile veya tedavi uygulanmaksızın konsepsiyon olasılığını tespit edebilmeli, canlı doğum olasılığını belirleyebilmeli, ölçülen bu aktivitenin ovarian yaşlanma gerçekleşmeden ne kadar süre aynı düzeyde devam edebileceğini öngörebilmeli, planlanan ovarian stimülasyon protokolünde optimal dozu belirleme ve bireysel prognozu öngörmede yol

gösterici olmalıdır. Over rezervini belirlemek için AFC (2-10 mm) ve serum AMH düzeyi kullanılmaktadır.

AFC; menstrüel siklusun herhangi bir fazında transvajinal ultrasonografi eşliğinde tespit edilen ortalama çapları 2 - 10 mm arasındaki foliküllerin toplam sayısını ifade eder (37). Her iki overdeki toplam follikül sayısı bazal AFC olarak tanımlanır. Fertil kadında AFC ve yaş birbiri ile korelasyon gösterir ve primordial folikül havuzunu yansıtmaktadır. AFC ovarian rezerv değerlendirmesi için iyi bir prediktör iken; oosit kalitesini, IVF başarısını, gebelik sonuçlarını ön görmede daha az prediktif olduğunu gösteren çalışmalar vardır. AFC uygulaması hem kolay yapılabilen ve anında karar vermeye yardımcı bir yöntemdir. AMH ile kıyaslandığı zaman AFC teknik sorunlar nedeniyle over rezervini göstermede aynı derecede duyarlı bulunmamıştır. Düşük teknolojiye USG ile yapılan ölçümlerde over kisti, fibroidler, geçirilmiş cerrahi öyküsü olan hastalarda AFC ölçüm güvenirliliği azalmaktadır. Ayrıca AFC aynı büyüklükteki atrezik folikülleri de içerdiği için gerçek folikül stimüle edici hormon (FSH) duyarlı foliküllerin sayısını olduğundan fazla tahmin edebilmektedir. Yapılan çalışmalarda tahmin edilen foliküllerin yarısından fazlasının atreziye gittiği gösterilmiştir.

AMH; preantral ve 2 - 6 mm boyutlu antral foliküllerde granüloza hücreleri tarafından üretilmektedir (17). Folikül büyüdükçe AMH sekresyonu azalmaktadır. 8 mm'den büyük foliküllerden salgılanması çok azdır. AMH seviyesi primordial follikül havuzunun boyutu ile doğrudan ilişkili olup yaş ilerledikçe serum AMH seviyesi azalır. Bu azalma 35 yaş üzerinde dramatik olarak hızlanır. AMH düzeyine menstrüel siklusun herhangi bir zamanında bakılabilmektedir. AMH düzeyinin avantajı üreme çağındaki hastalar için iyi tespit edilmiş referans aralıklarına sahip olması, menstrual siklus boyunca yalnızca % 4 oranında dalgalanma göstermesi ve operatör deneyiminden etkilenmemesidir.

Over rezervinin değerlendirilmesinde AFC ve serum AMH seviyesi günümüzde en güvenilir testler olarak kabul edilmektedirler. Bu testler oosit kalitesinin belirlenmesine kıyasla oosit sayısının belirlenmesinde daha güvenilirdir.

Açıklanamayan İnfertilite

Tam bir fertilité değerlendirmesi sonrası, tüm nedenler dışlanarak konulan tanıdır. İnfertilite teşhisindeki gelişmelere rağmen, araştırılan çiftlerin % 10-15'inde sebep açıklanamamaktadır. Hastalara açıklanamayan infertilite tanısını koymak için; ovulasyonun objektif kanıtları , bilateral tubal açıklık, normal uterin kavitenin varlığı, ovaryan rezervin olduğu ve erkek faktöre bağlı infertilite nedenlerinin olmadığı gösterilmelidir.

Açıklanamayan infertilite mevcut tanısal yöntemlerin üreme ile ilgili sorunların tamamını belirlemedeki sınırlılığı olarak da tanımlanabilir. Günümüzde kullanılan temel değerlendirme yöntemleri ile tanı konulamayan sperm veya oosit fonksiyon bozuklukları (prematür zona sertleşmesi, mitokondrial disfonksiyon), luteal faz anormallikleri, sperm ve oosit transportu, fertilizasyon veya implantasyon bozuklukları, bozulmuş peritoneal makrofaj aktivitesi, bozulmuş peritoneal sıvı antioksidan fonksiyonu, immunolojik faktörler (antisperm antikorlar) ve endometrial perfüzyonun azalması gibi faktörlerin açıklanamayan infertilitenin olası sebepleri olabileceği düşünölmektedir.

Ovulatuvar Disfonksiyon

Ovulatuvar disfonksiyon, infertilitenin en sık nedenlerinden biridir. Tüm infertilite nedenleri arasında % 15 oranında ovulatuvar disfonksiyon saptanmıştır. Ovulatuvar bozuklukların tanısında farklı yöntemler kullanılabilir. Ovulasyonun belirlenmesinde en kolay yöntem midluteal dönemde serum progesteron seviyesinin ölçölmesidir. Menstrüel siklusun 21. gününde progesteron seviyesinin >3 ng/ml 'den fazla olması ovulasyon olduğunun kanıtıdır (38). Eğer siklusun 21. gününde progesteron seviyesi <3 ng/ml 'den az ise hasta anovulatuvar olarak kabul edilir .

Tubal Faktör

Tüm infertil hastalarda uterin kavite ve tubal patensin değerlendirilmesi için HSG yapılabilir. HSG’de proksimal tubal oklüzyon genellikle tubal spazmda bağlı artefakt lehinedir ve bu durumda HSG tekrarlanabilir. Diagnostik HSG’nin terapötik etkisi de vardır ve HSG yapılan subfertil kadınlarda gebelik oranlarının arttığını belirten çalışmalar mevcuttur.

Uterin Anomali

HSG submuköz myom, dismorfik uterus, polip, sineşi, konjenital müllerian anomali gibi uterin kavitenin gelişimsel veya kazanılmış anomalilerinin saptanmasına olanak sağlar. USG myomların değerlendirilmesinde oldukça kullanışlıdır ve salin infüzyon sonografi submüköz myomların saptanmasında en iyi görüntüleme yöntemi olarak kabul edilir. İntrauterin adezyonları, polipleri, konjenital uterin anomalileri saptamada salin infüzyon sonografi rutin ultrasonografiden daha başarılıdır. Endometrial kavite ile ilgili anomalilerin değerlendirilmesinde histeroskopi altın standart yöntemdir. Tanı ile birlikte tedaviye olanak sağlayabilmektedir.

Erkek Faktör

İnfertil bir erkeğin değerlendirilmesine detaylı bir anamnez alınarak başlanır. Pubertal gelişim, sistemik hastalıklar, kabakulak orşiti, sinopulmoner infeksiyonlar, seksüel geçişli hastalıklar, testis veya skrotal ameliyatlar, travma öyküsü, ilaç kullanımı, ilişki sıklığı sorgulanmalıdır. Fizik muayenede androjen eksikliğinin klinik bulgularına odaklanılmalıdır. Androjen eksikliği erken gebelikte başlarsa ambigus genitalia ile, gebeliğin ilerleyen haftalarında başlarsa

mikropenis ile, çocukluk çağında başlarsa da pubertede gecikme ile, erişkin yaşta ise seksüel fonksiyonda azalma, infertilite, sonuçta da sekonder seks karakterlerinde kayıp ile sonuçlanmaktadır. Semen analizi erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde en önemli parametredir. Semen örneğinin 2-7 günlük bir cinsel perhiz sonrasında alınması önerilmektedir. 1-2 hafta ara ile en az 2 sperm örneği alınmalıdır. Semen örneği toplandıktan sonra bir saat içinde incelenmelidir.

Standart semen analizinin değerlendirilmesinde DSÖ'nün belirlediği en düşük sınır değerler aşağıda gösterilmiştir (39):

- Volüm: 1.5 ml
- Sperm konsantrasyonu: 15 milyon spermatozoa/ml
- Total sperm sayısı: 39 milyon spermatozoa/ejakülat
- Morfoloji: % 4 normal morfoloji (Kruger strick)
- İleri hareketli sperm oranı: % 32
- Total hareketli sperm oranı: % 40

Semen anormalliklerinin tanımları;

- Aspermia: Ejakülatın olmaması
- Hematospermia: Ejakülatta kan olması
- Lökositospermia: Ejakülatta beyaz küre olması
- Hipospermia: Ejakülat volümünün <1 ml olması
- Hiperspermia: Ejakülat volümü >6 ml.
- Azoospermia: Ejakülatta sperm olmaması
- Oligozoospermia: <15 x 10⁶ sperm /ml olması
- Polizoospermia: >250 x 10⁶ sperm /ml olması
- Asthenozoospermia: Zayıf motilite ve/veya ileri doğru hareketlilik olması.
- Teratozoospermia: Normal şekilli sperm yüzdesinin azalmış olması (<% 14 Kruger)
- Nekrozoospermia: Supravital boyama ile tüm spermlerin ölü olması.

- Globozoospermia: Yuvarlak başlı akrozomsuz sperm olması

Spermatozoaların en az % 40' ı motil olmalı ve en az % 32' si progresif motil olmalıdır. Azoospermi ve oligozoospermi ile birlikte düşük semen volümü genital trakt obstrüksiyonunu gösterebileceğinden obstrüktif nedenler göz önüne alınmalıdır.

Standart semen analizi tanımlayıcı bilgiler sağlamakla birlikte her zaman fertil ve infertil erkeğin ayırımını sağlayamamaktadır.

Folikülogenezis Ve Oosit Matürasyonu

Overin Yapısı ve Folikülogenezis

Over; dışta korteks, içte medulla ve rete ovarii (hilus) olmak üzere üç temel kısımdan oluşmaktadır. Hilus overin mezoovaryuma bağlanma yeridir. Sinir, damar ve steroidogeneizde aktif hale gelme potansiyeli taşıyan hilus hücrelerini içermektedir. Korteksin en dış kısmı tunica albuginea olarak adlandırılır ve yüzeyinde tek katlı küboid epitel yapısında over yüzey epiteli veya over mezotelyumu yer alır. Oositler, folikül olarak adlandırılan kompleksler içerisinde yer alır ve korteksin iç kısmındaki stromal doku içine yerleşmiştir. Stromal doku, mezenkimal hücrelerden gelişen bağ dokusu ve interstisyel hücrelerden oluşur.

Fetal yaşam sırasında insan overinin gelişimi farklanmamış gonad evresi , farklanma evresi, oogonal çoğalma ve oosit oluşumu evresi (follikül oluşma evresi) olmak üzere dört evrede incelenir.

İnsanda, fetal yaşamın 3-4. haftasında, yolk kesesinin dorsal duvarında ileride oositleri oluşturacak olan primordiyal germ hücreleri (PGH) belirir. Fertilizasyondan yaklaşık 6 hafta sonra PGH'leri arka bağırsağın (hindgut) dorsal mezenterinde bulunan gonadal kabartılara göç eder. PGH'lerinin göçü

sırasında cinsiyet tayini de başlamaktadır. Gelişmekte olan gonadlara PGH'lerinin göçü, proliferasyonu ve kolonizasyonu büyüme ve farklılaşma faktörü 9 (GDF9), kemik morfogenetik proteinleri (BMPs), kök hücre faktörü (SCF), temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF), transkripsiyon faktörü, Wilms tümör 1 (Wtl) gibi birçok faktör tarafından kontrol edilir (41). PGH proliferasyonu ve göçü için kritik olan B lenfosit kaynaklı olgunlaşma proteini-1 (BLIMP1), PGH'lerin canlılığını sürdürmesi için oktamer bağlayıcı transkripsiyon faktörü 4 (OCT4) süreçte rol oynayan büyüme faktörleri arasındadır (42). Overlerin oluşması ve devamlılığının sağlanması için PGH'ler gereklidir, bulunmaması halinde over dokusu dejenere olur (43). Gonada ulaşan PGH, oogonium ismini alır ve somatik hücreler ile beraber proliferer olur ve gelecekteki oosit popülasyonunu oluşturur.

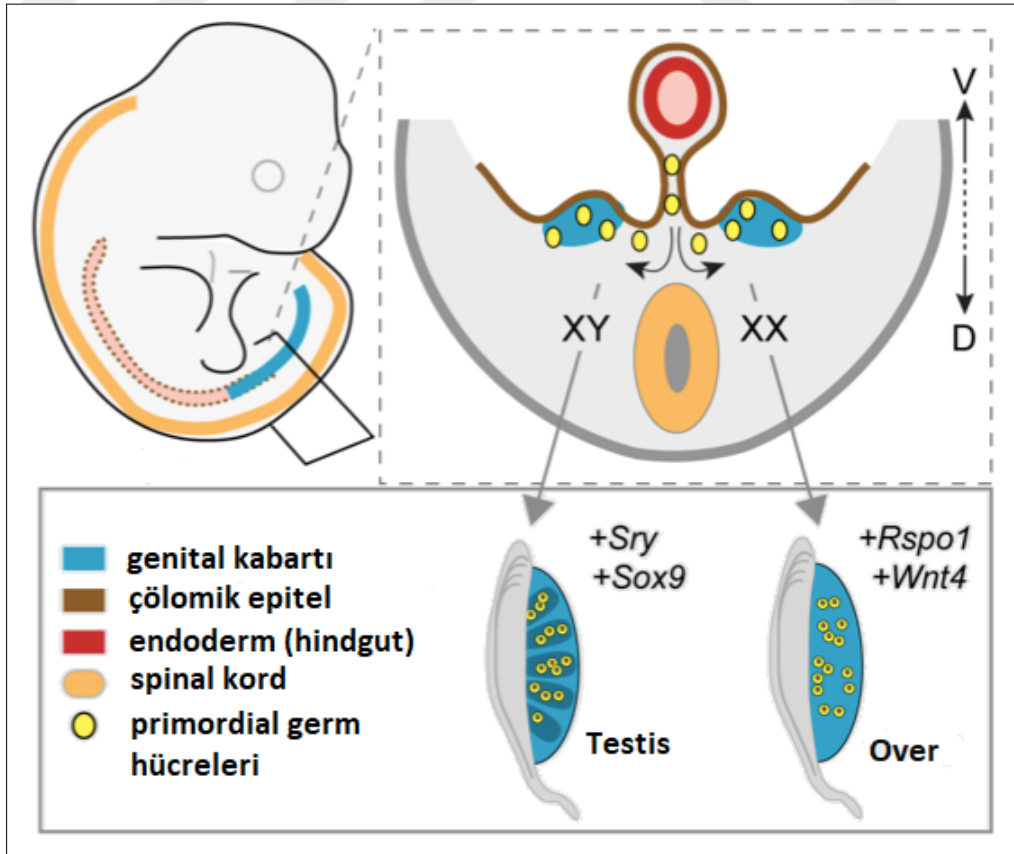
Gestasyonel 6. hafta itibariyle farklanmamış evre tamamlanır. Eğer XY kromozomuna sahip bir fetus var ise gonadal farklanma Y kromozomu üzerinde bulunan SRY gen aktivitesi ile testis yönünde olur ve gestasyonel 6. - 9. haftalar arasında testiküler farklanma gerçekleşir. Ancak XX kromozomuna sahip dişi bir fetus söz konusu ise SRY gen yokluğunda WNT4 ve RSPO1 gen aktivitesi ile ovarian farklanma gerçekleşir (Şekil-1).

Folikülogenez; oositlerin ve oosit çevresini saran granüloza hücrelerinin beraber gelişip proliferer olduğu gelişim sürecidir. Folikülogenez, fetal yaşamda başlar, oosit büyümesi, granüloza hücrelerinin bölünmesi ve teka tabakasının gelişmesi ile devamlılığı sürdürülmektedir (44). Primordiyal folikülleri oluşturmak üzere, oogonium adını alan germ hücreleri tek tabaka somatik hücreler tarafından çevrenir. İlk mayoz bölünme sonrasında primer oosit ismini alırlar. Primer oositler, ovulasyona kadar mayoz bölünmenin diploten aşamasında istirahat halinde kalırlar (41). Granüloza hücreleri tarafından üretilen indibe-edici maddeler aracılığı ile birinci mayoz bölünmede duraklama sağlanır. Bir ovum, oositin iki kez mayotik bölünmesinde oluşur; bu bölünmelerin ilki tam ovulasyon öncesinde, ikincisi (haploid ovumun oluşması) ise sperm girişi ile gerçekleşir. Primer oositler hızlı mitoz bölünmeler sonucunda 6. haftada 10.000, 8. haftada 600.000, 20. haftada 6.000.000 civarına ulaşmaktadır. Bunun yanında oositlerin bir kısmı atrezi sürecine girer (6-8). Atrezi 20. haftada en yüksek seviyesine

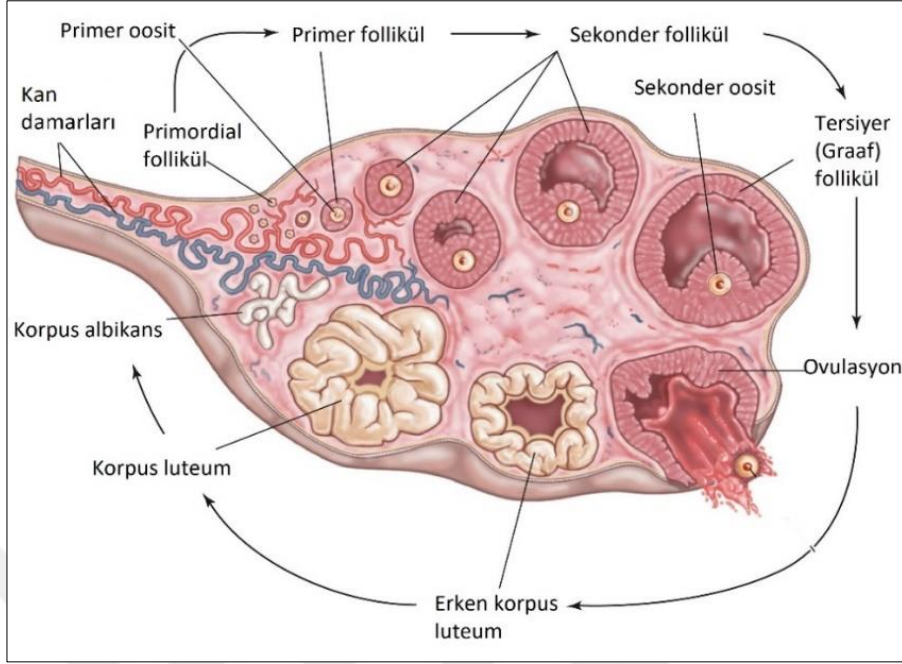
ulaşır. 20. Hafta itibari ile azalmaya başlayan primer oosit sayısı, yenidoğanda 1.000.000, pubertede ise 300.000 - 400.000 kadardır. Bir dişinin üreme dönemi boyunca ovulatar aşamaya yalnızca % 1' i ulaşmaktadır (11). Ovaryumda bulunan foliküller, gelişen oositler için bir mikroçevre oluşturur. Overin fizyolojik görevleri gametlerin (oositlerin) periyodik olarak atılması ve steroid hormonlar olan estradiol ve progesteronun üretimini sağlamaktır.

Foliküllerin aktivitesi ve gelişimi hipotalamus-hipofiz ekseninden salgılanan gonadotropinler tarafından düzenlenmektedir. Her 28 günde bir overlerden bir oositin atılmasıyla tekrarlanan olaylar zinciri ise ovarian siklusu ifade eder. Ovarian siklus; folikül gelişimin gerçekleştiği foliküler faz, gelişen oositin tuba uterinalara atılımının gerçekleştiği ovulasyon fazı, geride kalan folikül dokusundan gelişen korpus luteumun bulunduğu luteal faz ve atrezi süreci olmak üzere toplam 4 ayı fazdan oluşmaktadır (Şekil-2).

Şekil-1: Embriyonik genital kabartıdan over ve testislerin farklılanması (40)



Şekil-2: Ovarian foliküllerin gelişim döngüsü (45)



Foliküler Faz

Foliküler fazda, ovaryum içinde gelişen foliküller sırası ile primordiyal, primer, sekonder ve tersiyer (graaf) folikül olmak üzere 4 tipte incelenmektedir.

Primordial folikül

Ovaryum foliküllerini oluşturmak için primer oositler, yassı foliküler hücreler ile çevrelenerek primordiyal folikülleri oluştururlar. Bu primordiyal foliküller overin yüzeyel korteksinde yer alırlar. Primordiyal folikül hücrelerinde gonadotropin ve FSH için reseptörlerin bulunmaması, primordiyal folikül büyümesinin FSH düzenlemesinden bağımsız olduğunu ortaya koymaktadır (41). Primordiyal foliküller oluşurken bir yandan da apoptoza maruz kalırlar. Bu süreçte apoptozu tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) uyarırken, germ hücrelerinin korunmasını Bcl-2 sağlamaktadır. Apoptozu uyaran diğer bir faktör Bax

proteindir. Bax yetersizliğinde primordiyal folikül sayısının arttığı gözlenmiştir (46). Doğumda ve puberteye kadar olan süreçte, primer oositlerin tümü birinci mayoz bölünmenin profaz evresinde dinlenme halindedir. İstirahat halindeki primer oositlerin olgunlaşması, folikül hücrelerinde üretilen ve oositlerin olgunlaşmalarını inhibe eden oosit maturasyon inhibitörü (OMI) tarafından baskılanmaktadır (47). Pubertenin başlaması ile birlikte hipofizden salgılanan FSH etkisi ile bir grup primordiyal folikül gelişim sürecine katılır. Foliküllerin gelişimi oosit ve çevresindeki yassı foliküler epitelin proliferasyonu ile devam etmektedir. Erken folikül gelişim evresi (primordiyal, primer) daha çok parakrin etkiler altındayken, multilaminar foliküllerden itibaren gonadotropin hormonlar folikül büyümesini kontrol eder (44).

Primer folikül

Primer folikül evresinde oositte, foliküle komşu stromada, folikül hücrelerinde değişiklikler olmaya başlar. Öncelikle oosit büyür. Büyüyen oositin çapı yaklaşık 50-80 μm 'dir. Oosit kökenli Sohlh1 (spermatogenezis ve oogenezis spesifik temel helezon-halkahelezon 1) ve Nobox'dan (the oocyte-specific transcription factor) gelen iki transkripsiyon faktörünün erken ekspresyonu, primordiyal foliküllerin bir sonraki primer foliküler evreye ilerlemesini sağlamaktadır. Primer foliküle gelişim sırasında, oositin çevresindeki yassı foliküler hücreler kübik şekil alırlar. Artık bu tek katlı kübik hücrelerden oluşmuş foliküle ünilaminar primer folikül adı verilir. Folikül hücreleri proliferasyon olarak oositin çevresinde çok katlı hale gelir ve folikül, multilaminar primer folikül adı verilir. Çok katlı folikül epiteline bu aşamada, granüloza tabakası ismi verilir (48). Granüloza hücreleri foliküllerin gelişimi ve büyümesi sırasında önemli role sahiptir (49).

Oositin büyümesi ile sentezlenen protein yapıda zona pellusida (ZP) adında 5-10 μm kalınlığında ekstraselüler bir katman oluşur. ZP, folikül hücreleri

ve oositin arasında bulunur. Zona pellusida; spermatozoanın bağlanması hem de akrozom reaksiyonunun indüklenmesinde rol oynar (50).

Gelişme sırasında stroma, folikül çevresinde sıkı bağ doku oluşturarak teka folikülü ismini almaktadır. Teka folikülü kendi içinde iki kısma ayrılır: İç tarafta fibroblastların, kollajen liflerin, steroid karakterde salgı yapan hücrelerin yer aldığı ve kan damarları bakımından oldukça zengin “teka interna”, dış tarafta ise düz kas ve kollajen liflerden oluşmuş bir “teka eksterna” tabakası bulunur (44). Teka internadaki steroid salgı yapan hücreler LH reseptörü taşımaktadırlar. LH’ın uyarılmasına cevap olarak östrojen sentezinin öncülleri olan androjenleri salgırlar (50).

Sekonder folikül

Primer foliküller, granüloza hücrelerinin proliferasyonu ile hacim olarak büyür. Granüloza hücreleri yaklaşık 6 - 12 tabakalı hale geldiğinde hücrelerin arasında, içlerinde sıvı bulunan boşluklar meydana gelir (50). Bu aşamadaki foliküle sekonder folikül adı verilir. İleri aşamada sıvı dolu kavite birleşir ve oluşan bu hilal biçimli kavite antrum adını alır. Folikül içindeki oosit ortalama 125 µm çapındadır ve eksantrik yerleşimlidir (44). Oosit büyümesi oosit maturasyon inhibitörü (OMI) tarafından inhibe edilir.

Menstrual siklusun 5 – 7. günleri arasında dominant folikül seçimi olmaktadır. Belirli sayıdaki sekonder folikülden oluşmuş bir grup, FSH etkisi ile büyümeye başlar. Daha sonra büyüyen foliküller, dominant folikül seçimi için yarışa girer. Büyüyen sekonder foliküllerin granüloza hücre tabakaları artmaya başladıkça, FSH ile aromataz aktivitesi uyarılır ve östrojen yapımı artar. Bu havuz içinde gelişmekte olan foliküllerden birinin aromataz aktivitesi diğerlerine kıyasla en yüksektir. Bu folikülün östrojenik ortamı da en idealdir. Bu özellikteki bir folikül “dominant folikül” olarak seçilir ve ovulasyona kadar ulaşır.

Dominant folikül seçiminden sonra FSH, ovaryumda bulunan LH reseptörünün ekspresyonunu ve IGF-1 gibi çeşitli büyüme faktörlerinin üretimini

arttırmaktadır. İnhibin B ve östrojenin artması ile FSH salınımı baskılanır. Geriye kalan sekonder foliküller ise atreziye uğrar (51).

Tersiyer (Graaf) folikül

Seçilmiş olan dominant foliküldeki antrum büyüdükçe, oosit etrafındaki granüloza hücreleri antrum içine doğru “kümüülüs ooforus” adı verilen bir çıkıntı oluşturmaktadır. Oositin zona pellusidayı çevreleyen ve antruma bakan kısmındaki granüloza hücreleri ise özel olarak “korona radyata” ismini alır. Bu hücreler ovulasyon esnasında oosit ile beraber overden ayrılmaktadır. Bu yapıdaki folikül tersiyer, preovulatuvar veya graaf folikülü ismini alır (44). Graaf folikülü boyutu sebebiyle ovaryum yüzeyinde stigma adı verilen belirgin bir çıkıntı oluşturur (50).

Ovulasyon

Graaf folikülden sekonder oositin atılmasıyla sonuçlanan olaya “ovulasyon” adı verilir. Seçilen dominant folikül, 28 günlük periyodda oluşan menstrual siklusun yaklaşık 14. gününde ovule olmaktadır. Ovulasyondan yaklaşık 24 saat önce ani LH artışı gözlenmektedir. Artıştan 12-24 saat sonra ise primer oosit istirahat halinden çıkarak, 1.mayoz bölünmesini tamamlayıp, 2. mayoz bölünmesine devam eder. Oluşan oosit artık sekonder oosit olarak isimlendirilir. Buna ek olarak birinci kutup cisimi (polar cisim) de oluşur (38).

Luteal Faz

Ovulasyon gerçekleştikten sonra, geriye kalan granüloza hücreleri ve teka hücreleri tarafından oluşan yapı “korpus luteum” adını alır. İlk olarak teka

interna tabakasındaki kan damarlarının rüptüre olmasıyla, folikül boşluğunda pıhtı içeren “korpus hemorajikum” gelişir. Korpus luteum yapısındaki hücreler LH reseptörlerini içerirler. LH reseptörlerinin uyarılması halinde korpus luteumun esas hormonu olan progesteron salgılanması artar (50). Fertilizasyon oluşması durumunda endometriumun implantasyona hazırlanması amacı ile korpus luteum bir süre devamlılığını sürdürür. Fertilizasyon gelişmemesi durumunda, korpus luteum dejenere olur. Zamanla “korpus albicans” adı verilen skar dokuya dönüşür (48).

Atrezi Süreci

Apoptozis; programlanmış hücre ölümü, düzenlenen ya da kontrol edilen hücre ölümünü ifade etmektedir. Apoptoz, ovaryumda her foliküler aşamada gözlenebilmektedir ve foliküler atrezinin temel mekanizmalardan birini oluşturur (52). Atrezi, ovulasyona ilerleyemeyen foliküllerin uzaklaştırıldığı hücresel olayları kapsar ve korpus luteumun luteolizisinde rol oynar (53). Son dönemde yapılan çalışmalar, otofajinin stres koşullarına tepki olarak indüklendiğini ve dogmatik bilgi olan folikül atrezisinde apoptozun rolü dışında otofajinin de granüloza hücre ölümünde etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Her iki hücre ölüm tipinde Bcl-2 ailesi proteinleri yer almaktadır.

Ovaryum foliküllerinin hem büyümesi hem de gelişmesinde gonadotropinler rol oynamaktadır. Ovulasyondan önce çeşitli nedenlerden dolayı gonadotropinlerin artışının engellenmesi veya serumda azalması, foliküler atrezi gelişmesine sebep olur. Gonadotropinlerin dışında folikülogeneze etki eden çok sayıda faktör bulunmaktadır. Bu faktörler arasında transforme edici büyüme faktörü (TGF), interlökin-1 (IL-1), basit fibroblast büyüme faktörü (bFGF), epidermal büyüme faktörü (EGF) , GH sayılabilir. Ayrıca pro-apoptotik etki oluşturan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH), fas ligand (Fas-L), TNF- α da etki eden faktörler arasındadır (54). Bununla birlikte, granüloza hücrelerinin proliferasyonunu ve farklılaşmasını uyarıcı IGF-I, granüloza hücrelerinin

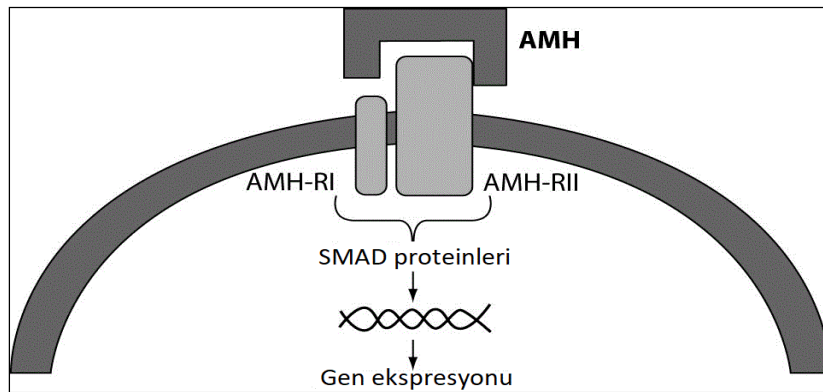
apoptozunu ve foliküler atreziyi önlerken (55), AMH primordiyal foliküllerin büyümesinde inhibitör etkiye sahiptir (56). Kaspaz ailesi ve Bcl-2 ailesi en önemli apoptotik regülatör faktörlerdir. Sağlıklı foliküllerde kaspaz-3 inaktif formda bulunur. Atretik foliküllerde ise aktif kaspaz-3 konsantrasyonu artmaktadır. Foliküler atrezi, oositten ya da foliküler hücrelerden başlayabilir (57).

Anti-Müllerian Hormon (AMH)

AMH'nın Sentez ve Salınımı

AMH; TGF-beta ailesine ait dimerik bir glikoproteindir ve 19. kromozom tarafından kodlanır (58). AMH, preantral ve 2-8 mm antral follikülerin granüloza hücreleri tarafından üretilmektedir. AMH'in 2 adet reseptörü vardır (AMHR-1 ve AMHR-2). AMH sinyalleri tip 2 transmembran serin tirozinkinaz reseptörüne bağlanıp fosforilleyerek aktif hale getirir. AMH sinyalizasyonu reseptörler tarafından regüle edilen SMAD'ların fosforilasyonu ile ortaya çıkmaktadır. Fosforillenmiş R-SMAD'lar nükleus içine transloke olurlar. Bu düzenleme ile spesifik hedef genlerin ekspresyonu uyarılmış olur (Şekil-3) (59).

Şekil-3: AMH sinyal iletim yolağı (59)

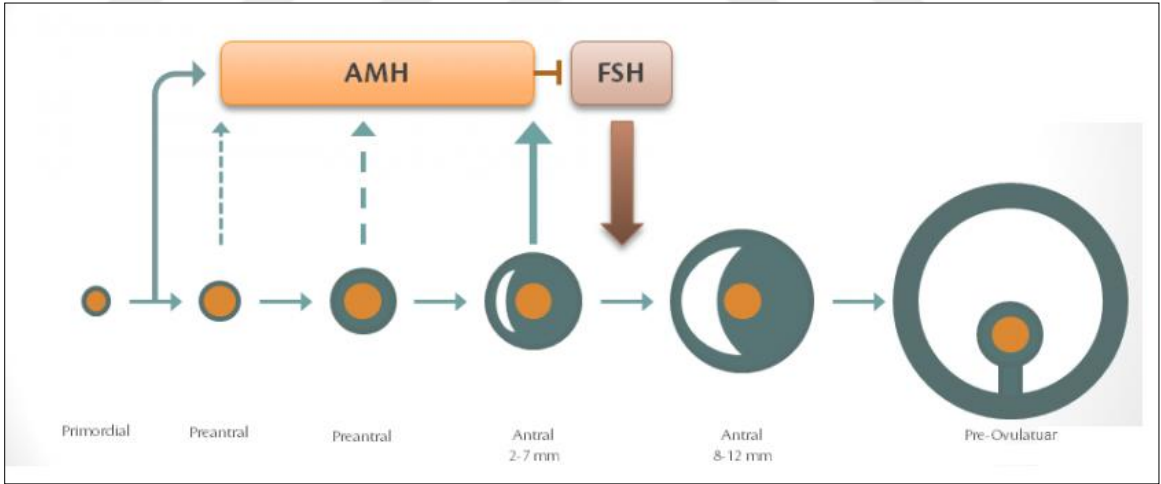


Over Rezervi ve AMH İlişkisi

AMH'ın, folikülogenez üzerinde primordial folikülden primer foliküle geçişi inhibe edici etki yaparak primordiyal folikül havuzunu korumak ve FSH bağımlı folikül büyümesini engellemek olmak üzere iki önemli anahtar rolü olduğu düşünülmektedir.

AMH, gonadotropin bağımsız folikül büyümesi boyunca rol oynamaktadır (60). Primordiyal foliküllerin pregranüloza hücrelerinin farklılaşmasından sonra, primer foliküllerin granüloza hücrelerinde AMH ekspresyonu başlar. AMH ekspresyonu, preantral ve küçük antral foliküllerde en yüksek seviyesine ulaşmaktadır (61). Büyük çaplı foliküllerde ise AMH ekspresyonu kaybolur ve FSH-bağımlı evreleri sırasında ekspresyon gözlenmez (62). (Şekil-4)

Şekil-4: AMH sentezi gerçekleşen foliküler evreler (63)



AMH düzeyinin bu nedenle siklik olarak değişim göstermediğini savunan çalışmalar (64-66) olsa da günümüzde yapılan son çalışmalarda serum AMH düzeyinin erken luteal fazda, erken foliküler faz ile kıyaslandığında hipofizer FSH'a benzer bir patern ile daha düşük olduğu bulunmuştur (67, 68). Menstrüel siklus içinde düzeyindeki değişimin düşük oranda olması nedeni ile over rezerv değerlendirilmesinde iyi bir öngörü sağladığı kabul edilmektedir (69).

Granüloza hücrelerinden postnatal dönemde salgılanan AMH'nin serumdaki seviyesi, çocukluk ve ergenlik dönemlerinde artarken, 20'li yaşların ortasında pik yapar ve sonra menopoz dönemine kadar kademeli olarak azalır (70). Bu nedenle AMH, ovaryumun yaşlanma sürecinde bir belirteç olarak düşünülmüştür (71-73). Fertilizasyon yaşa bağlı azalırken beraberinde FSH kan düzeyinin arttığı ve AMH kan düzeyinin azaldığı, oosit kalitesinin ve aktivitesinin azaldığı belirtilmiştir (74). 35 yaşın üzerindeki kadınlarda yardımcı üreme tekniklerindeki başarı şansı azalmaya başlarken 40 yaşla birlikte gebelik elde etme şansının daha belirgin düştüğü görülmüştür. Yapılan çalışmalarda fertilité oranlarında 25-29 yaş arasında % 4-8, 30-34 yaş arasında % 15-19, 35-39 yaş arasında % 26-46, 40-45 yaş arasında % 95 oranında azaldığı bildirilmektedir (75,76). Kronolojik yaşlanmanın dışında over rezervini azaltan diğer faktörlerde AMH düzeyinde azalmaya sebep olmaktadır. Örneğin endometriozis tanılı kadınların serum AMH düzeylerinde düşüş gerçekleştiği ve bunun sağlıklı kadınlardan daha hızlı olduğu gösterilmiştir (77).

AMH'nin oosit ve embriyo kalitesini değerlendirmede doğru sonuçlar verdiğini saptayan çalışmalar mevcuttur (78,79). Ovarian hiperstimülasyon protokolleri sonrasında toplanan oosit sayısının ise canlı doğumların güçlü bir göstergesi olduğu gösterilmiştir (80). Ancak AMH değerinin düşük olduğu hasta grubunda IVF uygulaması ile gebeliğin kesin olarak ön görülemeyeceğini belirten çalışmalarda mevcuttur. Sonuç olarak IVF tedavisinde AMH'nin yeri tartışmalıdır.

AMH'nin kontrollü over stimülasyon protokollerinde ovarian cevabı ön görülmesi ve tedavi protokollerinin bireyselleştirilmesine fayda sağlamaktadır (81).

Büyüme Hormonu (GH)

GH, ön hipofiz bezi tarafından salgılanan, 17q22 kromozomun tarafından kodlanan, sistein amino asitleri arasında kurulan iki disülfid köprüsü ile belirli bir

tersiyer yapıya ulaşan spesifik bir protein molekülüdür (82). Doğal büyüme ve gelişmeyi sağlayan hGH, hipofizer kökenli somatotrop hücrelerden salgılanan % 75' ini 191 amino asit içeren 22 kilodalton (kDa) molekül ağırlığında ve % 15' ini ise 176 amino asit içeren 20 kDa molekül ağırlığındaki formu oluştururken, kalan % 10' luk kısmının da GH dimerleri gibi diğer GH formlarından meydana gelen bir protein molekülüdür.

GH ilk olarak insan kadavra hipofizinden elde edilmiş ve "kadavra GH" ismi verilmiştir. Kadavra kaynaklı GH yerine rekombinat deoksiribonükleik asit (DNA) teknolojisi kullanılarak rekombinant insan GH (rhGH) elde edilmiştir ve ilk olarak 1998'de İlaç ve Gıda Dairesi (Food and Drug Administration, FDA) tarafından onaylanmıştır.

GH'ın Sentez ve Salınımı

GH, hipofiz ön lobunun somatotrop hücrelerinde üretilir, sekretuar granüllerde depolanır ve sekresyonu için uyarılar hipofiz ön lobuna ulaştığında kan dolaşımına verilir. Ardından GH bağlayıcı proteine (GHBP) bağlanarak, daha büyük bir moleküler yapıya ulaşarak kanda taşınır. GH'nun kanda taşınması sırasında aktivite kaybının önlenmesi ve oluşan büyük moleküler yapı sayesinde böbreklerden GH kaybının önüne geçilmesini GHBP'nin sağladığı düşünülmektedir. İnaktif formda bulunan GH, GHBP'e bağlı iken, hedef hücreye ulaştığında GHBP'den ayrılarak aktif formuna dönüşür ve kendine özgü reseptörlerine bağlanarak aktivitesini gösterir.

GH sekresyonu pulsatil olarak gerçekleşmektedir, yarılanma ömrü 20-25 dakikadır. Kemiluminesans temelli assay çalışmaları gün boyunca 128 dakika aralıklarla 90 dakika süren yaklaşık 10 pulse şeklinde GH sekresyonunun gerçekleştiği göstermiştir. Assay tekniği ile hassas ölçümler yapılmadığı takdirde serumda GH konsantrasyonu saptanamayacak kadar düşüktür. En düşük plazma konsantrasyonu sabahın erken saatlerinde görülürken, gece derin uykuda en yüksek düzeye ulaşmaktadır (83). Yapılan endokrinolojik

çalışmalar sağlıklı erişkinlerde gece saatlerinde ortalama serum GH konsantrasyonunun 1.0 ± 0.2 ng/mL ve gece peak serum GH konsantrasyonunun $4.3 \pm 0,7$ ng/mL , gündüz saatlerinde ise ortalama serum GH konsantrasyonunun $0,6 \pm 0.1$ ng/mL ve gündüz peak serum GH konsantrasyonunun 2.7 ± 0.5 ng/mL olduğunu göstermektedir. Salınımı ergenlik dönemi boyunca en üst düzeylerde seyreden hGH'ın, yaşın ilerlemesiyle her 7 yılda yaklaşık % 50 oranında azaldığı saptanmıştır (84,85). Kadınlarda GH konsantrasyonunun erkeklere göre üç kat fazla olduğu saptanmıştır. Sağlıklı ovulatar kadınlarda menstrüel siklus süresince alınan seri serum örneklerinde çalışılan GH düzeylerine bakıldığında folliküler fazda luteal faza oranla estrodiol ve GH seviyelerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ancak folliküler faz içerisinde alınan örneklerdeki serum GH düzeyleri açısından belirgin bir farklılık bulunmamıştır. Luteal fazda ise folliküler faza kıyasla GH seviyeleri daha düşük tespit edilmiştir. Ancak GH etkisinin oluşmasında önemli bir faktör olan IGF-I'in periferik yada ovarian ven konsantrasyonlarına bakıldığında folliküler ve luteal faz arasında farklılık tespit edilmemiştir (86).

Hipotalamustaki hormon salgılayan nöronlar, salgıladıkları peptit yapısındaki GH salgılatıcı hormonu (growth hormon releasing hormon, GHRH) hipofiz bezini saran ana toplardamar ağına bırakarak GH'nun salgılanmasını sağlamaktadır. GHRH fazını izleyen hipotalamus kökenli somatostatin releasing-inhibiting hormon (SRIF) salınımıyla da GH biyosentezi durdurulmaktadır. GH üretimini GHRH'ın yanı sıra mideden salgılanan ve reseptörleri anterior hipofizde yer alan ghrelin'in (gastrointestinal peptid) de uyardığı bilinmektedir (87). GH sekresyonunda nutrisyonel düzenleyici olarak görev yapmaktadır. GH ilişkili olarak Ghrelin açlık boyunca kan glukoz düzeyinin devamlılığını sağlar. GH üretimini stres, uyku, egzersiz, hipoglisemi ve açlık gibi fizyolojik etmenler uyarırken, glikokortikoidler, karbonhidrat ve yağdan zengin beslenme, leptin GH salınımını inhibe etmektedir (88). Egzersiz, fiziksel aktivite, travma ve sepsis durumunda GH sekresyonu artmaktadır.

GH'ın Etki Mekanizması

GH, çoğu karaciğerde yerleşik homodimer yapıda spesifik reseptörüne bağlanarak etkisini gösterir. GH reseptörü sitokin/hematopoetin süperailisine dahil 70 kd protein yapıda reseptördür. GH reseptörü ekstrasellüler ligand bağlayıcı kısım ve sitoplazmik sinyal oluşturan kısım olmak üzere iki komponentten oluşur. GH, GH reseptörüne bağlanmasını takiben ekstrasellüler kompartman internal rotasyon ile Janus kinaz 2 (JAK 2) tirozin kinazı aktive ederek intrasitoplazmik fosforilasyonu başlatır ve doğrudan nükleusa giderek DNA üzerinde GH-spesifik hedef genler üzerine etki oluşturur. Sitoplazmik sinyal molekülleri ile hücre proliferasyonu ve çeşitli fonksiyonların gerçekleştirilmesini sağlar.

GH etkilerinin çoğundan sorumlu olan protein IGF-I'dir. IGF-I , GH etkilerinden sorumlu olduğu kadar negatif feed-back mekanizma ile GH reseptör aktivitesi ve GH sekresyonu üzerinde düzenleyici rol oynamaktadır. GH , IGF-I sentezini arttırarak uzun kemiklerin epifizinde proliferasyonu indükler prepubertal dönemde linner büyümeden sorumludur. Lipoliz ve lipit oksidasyonunu arttırarak depolanmış trigliseridlerin mobilizasyonunu sağlar. İnsülin aktivitesini antagonize ederek glukoz intoleransına sebep olmaktadır. Sodyum, fosfat ve su retansiyonu sağlamaktadır. GH, ovarian granüloza hücrelerinde periferik etkilerin çoğundan sorumlu olan IGF-I aracılığı ile granüloza hücre fonksiyonlarının regülasyonunu sağlar. IGF-I kompleks bir sinyal kaskadı aracılığı ile hücre büyümesini stimüle eder ve apoptozisi inhibe eder (89).

İnsülin Benzeri Büyüme Faktörleri (IGF I-II)

Somatomedinler adı ile de bilinen IGF , insüline yapısal ve fonksiyonel benzerliği bulunan ve GH etkisi oluşturan peptidlerdir (90). IGF-I 12.kromozomun uzun kolu ve IGF-II ise 11. Kromozomun kısa kolunda

kodlanan üç disülfid bağı içeren tek zincirli polipeptidlerdir. IGF-I, GH etkilerinin iletimini sağlar. Dolaşımda saptanan IGF-I 'in büyük bölümü karaciğerde GH bağımlı sentezden kaynaklanır (91). Ancak GH bağımlı sentezin dışında bir çok dokuda da sentez edilmektedir. Her iki IGF formu sellüler proliferasyon ve farklılaşmadan sorumlu hücresel genlerin etkinliğini indüklemektedir.

IGF'ler serumda glikolize edilmemiş 6 peptid yapıda bağlayıcı protein tarafından taşınmaktadır (IGFBP 1-6). Bu bağlayıcı proteinler IGF moleküllerini taşır, yarılanma ömürlerini uzatır, doku etkinliklerini düzenler (92). Bağlayıcı proteinler; IGF moleküllerini bağlayarak belirli bir alanda tutar ve hücre membran reseptörlerine bağlanmalarını engeller. Bu sayede gonadotropinler ile büyüme faktörlerinin sinerjistik etki oluşturmalarını bloke ederek doku etkinliklerini düzenler. IGFBP-3 serumdaki temel bağlayıcı proteindir ve GH'a bağımlı olarak karaciğerde sentezlenir. IGFBP-3 dolaşımdaki total IGF konsantrasyonunu yansıtır ve dolaşımdaki IGF'lerin % 90' ını taşımaktadır. Bağlayıcı proteinler yaşa bağlı olarak azalır.

IGF reseptörleri Tip I ve Tip II olarak ikiye ayrılmaktadır. IGF-I reseptörlerine IGF-I ve IGF-II eşit affinite ile bağlanmaktadır. Teka ve granüloza hücrelerinde IGF-I reseptörleri bulunmaktadır. Ovarian stromal doku IGF-I reseptörleri içermektedir.

GH'ın Ovarian Etkileri

GH reseptörleri granüloza, teka ve luteal hücre yüzeylerinde saptanmıştır. Bu hücrelerin fonksiyonları üzerinde rolü tespit edilmiş olmasına rağmen GH'nun IGF-I aracılı etkisinden bağımsız ovarian etkisi henüz tespit edilmemiştir. Ovaryumda foliküler atrezi mekanizmalarının tespiti yanında, folikülleri atreziden koruyan faktörlerin tespiti de önemlidir. IGF sistemi insanlar, kemirgenler ve evcil hayvan türlerinde folikül gelişimi ve granüloza hücre apoptozunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır. IGF' ler foliküler büyüme,

seçilim, atrezi, hücresel farklılaşma, steroidogenezis ve oosit olgunlaşması gibi ovaryum içinde gerçekleşen birçok olayı düzenler.

IGF-I ovarian teka ve granüloza hücrelerinde; DNA sentezi, steroidogenez, aromataz aktivitesi, LH reseptör sentezi ve inhibin sekresyonunu uyarmaktadır. FSH ile birlikte IGF-I, protein sentezini ve steroidogenezini arttırmaktadır. LH reseptörleri ortaya çıktıktan sonra LH uyarısı ile progesteron sentezini artırır, granüloza ve luteal hücrelerin proliferasyonunu uyarır. FSH ile birlikte IGF-I, preovulatuvar folliküllerdeki aromataz aktivitesini uyarır. Böylece IGF-I hem estradiol hem de progesteron sentezinde etkilidir. Hayvan deneylerinden elde edilen verilere göre granüloza hücrelerindeki IGF-I sentezi FSH bağımlıdır ve estradiol tarafından sentez artırılır. GH, FSH ve estradiol ile sinerjistik etki göstererek IGF sentezini artırır.

İnsan overindeki primer IGF, IGF-I dir. IGF-I teka ve granüloza hücrelerinde büyük oranda eksprese olur. Ancak en yüksek değerler granüloza hücrelerinde görülmekte ve follikül boyutu arttıkça IGF-I miktarı artmaktadır. IGF-I granüloza hücrelerindeki mitoz aktivitesini uyarır. İn vitro çalışmalarda granüloza ve teka hücrelerinde IGF-I'in steroidogenez ve proliferasyonu uyardığı gösterilmiştir (93, 94). Bu mekanizma ile GH, IGF üretimini ve bu yolla indirekt olarak gonadotropinlerin ovarian folliküllerdeki uyarımını artırır.

Bağlayıcı proteinler, gonadotropinler ve büyüme faktörlerinin sinerjistik etkilerine ters yönde aktivite göstermektedir. IGFBP leri granüloza hücrelerindeki sentezi FSH, IGF-I ve IGF-II ile baskılanmaktadır. IGFBP-I, esas olarak büyümekte olan folliküllerin granüloza hücrelerinde bulunmaktadır. IGFBP-I, IGF-I iletimli steroidogenez ve luteinize granüloza hücrelerinin proliferasyonunu inhibe etmektedir. Dolaşımdaki IGFBP-I düzeyleri, insüline cevap olarak azalmakta ve böylece artmış insülin seviyeleri bulunan obezite, anovulasyon yada PCOS tanılı kadınlardaki düzeyleri azalmış saptanmaktadır (95). Bu kadınlarda teka hücrelerindeki LH uyarımlı sentez ve sekresyonun sonucu olarak yükselmiş IGF-I düzeyleri saptanmaktadır.

GH over üzerindeki etkilerini; IGF-I 'den bağımsız olarak GH reseptörü üzerine etki etmesiyle oluşan sinyal yolağı, hepatik IGF-I sentezini indüklemesi,

intraovarian IGF-I seviyelerini arttırması ile sağlamaktadır. IGF-1, Bax ve apoptotik Bcl-2 protein ekspresyonunu düzenlemesi sayesinde, apoptozisi engellemektedir (24-26).



GEREÇ – YÖNTEM

Araştırma Yeri ve Zamanı

Çalışma prospektif kesitsel bir çalışma olarak tasarlanmıştır. Çalışmada olgular Şubat 2019 – Nisan 2019 tarihleri arasında Bursa Uludağ Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı bünyesinde genel jinekoloji ve infertilite polikliniklerine başvuran hastalar arasından seçilmiştir. İnfertilite polikliniğine başvuran, takip ve tetkik sonuçları ile DOR tanısı konulan 56 hasta DOR çalışma grubuna, tetkik sonuçlarında infertilite etyolojisini açıklayacak bir neden saptanmamış ve açıklanamayan infertilite tanısı konulan 52 hasta açıklanamayan infertilite çalışma grubuna dahil edildi. Genel jinekoloji polikliniğine rutin kontrol amaçlı başvuran ek yakınması yada tıbbi patolojisi bulunmayan 55 hasta ise kontrol grubuna dahil edildi. Tüm katılımcılardan bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Etik Kurul İzni

Çalışma için Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 12.02.2019 tarih ve 2019-3/15 nolu toplantısında alınan karar ile onay alındı. Çalışmamızın verileri sadece bilimsel araştırma amacıyla kullanıldı ve hastalara ait kişisel tanımlayıcı bilgiler gerek araştırma raporunda gerekse üçüncü şahıs ve kurumlarla paylaşılmadı. Çalışmanın tasarım, uygulama ve sonuçların değerlendirilmesi aşamalarında herhangi bir kurum yada kuruluş ile çıkar ilişkisi kurulmamıştır.

Araştırma Tipi ve Değişkenleri

Çalışma prospektif bir araştırma olmakla birlikte verilerin düzenli olarak kaydedilmesi ve araştırma kriterlerine uyan hastaların tamamına erişilmesi gibi yönleri bakımından kesitsel özelliği de bulunmaktadır. Araştırma kapsamı dahilinde ilgili hastalara ait Şubat 2019 - Nisan 2019 arası veriler, veri kaybı minimum olacak şekilde analize dahil edilmiş ve bu yönüyle elde edilen bulgular ilgili dönem için temsil edici nitelik taşımaktadır. Çalışma dahilinde 18 - 40 yaş aralığında DOR, açıklanamayan infertilite ve sağlıklı kontrol grubunda AMH ve GH düzeyleri yaş ve vücut kitle indeksi (BMI) arasındaki ilişki, sigara-alkol kullanımı, eğitim durumu ve meslek bilgileri incelendi. Bununla birlikte infertil hasta grubunda kadın yaşı, infertilite süresi, menstrüel siklusun 3. günü bazal FSH-LH-E2 düzeyleri ve antral follikül sayısı gibi parametrelerin GH ile ilişkisi de değerlendirildi.

Araştırmaya Dahil Etme ve Dışlama Kriterleri

Çalışma insanlardan elde edilen örneklerde laboratuvar analizi yapılmasını içeren prospektif bir çalışma olarak dizayn edildi. Çalışmaya dahil edilen hastalar Şubat 2019 – Nisan 2019 tarihleri arasında B.U.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı bünyesinde infertilite polikliniği ve genel jinekoloji polikliniğine başvuran hastalar arasından seçildi. Hastalar açıklanamayan infertilite grubu, DOR grubu ve sağlıklı kontrol grubu olmak üzere 3 grup olarak sınıflandırıldı. İnfertilite polikliniğine başvuran 18-40 yaş arası, en az 1 yıldır düzenli korunmasız koite rağmen gebelik elde edemeyen, infertilite etyolojisini açıklayacak male faktör, tubal faktör, endometriozis, anovulasyon tanısı bulunmayan, IVF uygulanması planlanan ve Bologna kriterlerine göre [Anormal over rezerv testi varlığı (AMH < 0,5-1,1 ng/mL veya AFC < 5-7), daha önce konvansiyonel stimülasyonla < 3 oosit eldesi, yaş>40

veya POR için diğerk risk faktörlerinin varlığı] DOR tanısı alan 56 hasta DOR grubuna dahil edildi. İnfertilite polikliniğine başvuran 18 - 40 yaş arası, en az 1 yıldır düzenli korunmasız koite rağmen gebelik elde edemeyen, infertilite etyolojisini açıklayacak erkek faktör, tubal faktör, endometriozis, anovulasyon tanısı bulunmayan, Bologna kriterlerine göre DOR tanısı bulunmayan, bunların ışığında açıklanamayan infertilite tanısı alan ve IVF uygulanması planlanan 52 hasta açıklanamayan infertilite grubuna dahil edildi. Kontrol grubuna ise genel jinekoloji polikliniğine infertilite dışı nedenlerle başvuran, 18-40 yaş aralığında, daha önce IVF siklusu uygulanmamış, subfertilite yada infertilite öyküsü bulunmayan, daha önce canlı doğum öyküsü bulunan, rutin ultrasonografi değerlendirmesinde 7'den fazla AFC saptanan 55 hasta dahil edildi.

Çalışmadan hariç bırakılma kriterleri; <18 yaş veya >40 yaş ,infertilite etyolojisini açıklayacak male faktör, tubal faktör, endometriozis, anovulasyon tanısı bulunan infertil hastalar, GH seviyesi >10ng/mL saptanan olgular, bilinen hipofiz tümörü, intrakranial ekstrapitüiter tümör, kemoterapi - radyoterapi öyküsü, travmatik beyin hasarı, hipofizer infiltrasyona sebep olacak sistemik hastalık (sarkoidoz vb.), enfeksiyon (tüberküloz) gibi büyüme hormon düzeylerini etkileyecek patolojisi bulunanlar olarak belirlendi.

Çalışmaya toplam 163 hasta alındı ancak sağlıklı kontrol grubundaki 4 hastada AMH düzeyinin <1.1 ng/mL ve toplam 5 hastada GH düzeyinin >10 ng/mL saptanması üzerine dahil edilme kriterlerini karşılamamaları nedeniyle çalışmadan dışlanması sonrası çalışmaya toplam 154 olgu dahil edildi.

Bu çalışmaya dahil edilen hastaların yaş, BMI, AFC, gravida-parite bilgileri, eğitim durumu, meslek, sigara-alkol kullanım alışkanlığı ve laboratuvar sonuçları prospektif olarak kaydedildi.

Materyallerin Toplanması

İnfertilite polikliniği ve genel jinekoloji polikliniğine başvuran hastalara adet siklusunun 3. günü ovarian fonksiyon değerlendirmesi için rutin laboratuvar

tetkikleri çalışılmaktadır. Polikliniğimize başvuran infertil hastalardan rutin olarak adet siklusunun 3. günü periferik kanda AMH ve GH düzeyi endikasyon dahilinde bakılmaktadır. DOR ve açıklanamayan infertilite grubuna dahil edilen toplam 104 hastanın serum GH ve AMH düzeyi rutin tetkikleri dahilinde ölçüldü. GH pulsatil salgılanan ve açlık-tokluk, egzersiz gibi faktörlerden etkilenen bir hormon olduğundan sabah erken saatlerde, aç karnına tetkik alınması sağlandı. Bu şekilde günlük değişkenlerin etkisinin GH düzeyine olabilecek etkileri standardize edilmeye çalışıldı. AMH ve GH düzeylerinin çalışılması için alınan 5 cc periferik kan örneği EDTA içeren tüplere alınarak çalışıldı ve tetkik sonuçları hastane sistemine işlendi. Ancak sağlıklı kontrol grubundaki hastalarda AMH ve GH düzeyi değerlendirilmesi adet siklusunun 3. günü rutin laboratuvar tetkikleri arasında yer almadığından üniversitemiz merkez biyokimya laboratuvarı tarafından tetkikler SGK kapsamında çalışılmamıştır. Bu nedenle sağlıklı kontrol grubundaki hastalara ait serum materyalinde AMH ve GH düzeyleri, ortaya çıkabilecek laboratuvar ve tetkik kitinden doğabilecek farklılıkları engelleyebilmek için üniversitemizin AMH ve GH düzeyi çalıştırmak üzere anlaşmalı olduğu İstanbul Sistem Tıp Laboratuvarı tarafından çalışılmıştır (96). Kontrol grubundaki hastalardan adet siklusunun 3.gününde çalışmamız için GH ve AMH düzeyi değerlendirilebilmesi için alınan 5 cc periferik kan örneği EDTA içeren tüplere alınarak 3000 rpm hıza sahip santrifüj cihazında 15 dakika boyunca santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant serumlar ependorf tüpleri içine alınarak AMH ve GH analiz gününe kadar dik pozisyonda -20 ± 6 ° C'de derin dondurucuda saklandı. Geride kalan pelet kısım ise tıbbi atık olarak imha edildi. Ardından Dirim Tıp Merkezi aracılığıyla soğuk zincir ve saklama koşullarına uygun şekilde serum örnekleri İstanbul Sistem Tıp Laboratuvarı'na transfer edildi. Böylece her 3 gruba dahil edilen hastaların GH ve AMH düzeyleri aynı laboratuvar tarafından ve aynı hormon kiti ile çalışılarak laboratuvar kaynaklı olabilecek değişkenler en aza indirildi. Siemens ImmunoAssay System kullanılarak hormon düzeyleri ölçümü gerçekleştirildi. Kan örneği alınmak üzere hastalara ek girişim uygulanmadı.

GH Düzey Ölçümü

GH seviyelerinin değerlendirilmesi için; numuneler, oda sıcaklığında 4 saat süreyle eritildi. GH seviyeleri üreticinin talimatlarına göre enzim immunoassay ile ölçüldü (97). Üretici talimatının belirttiği şekilde; plakalar, insan GH antikoru ile önceden kaplanmıştı. Örnekte mevcut olan GH eklenmesini takiben talimatta da belirtildiği üzere oyuklar içine kaplanmış antikorlara bağlanmaktadır. Ve sonra biyotinlenmiş insan GH antikoru eklenerek numunedeki GH'a bağlanması sağlandı. Daha sonra biyotinlenmiş GH antikoruna bağlanacak olan Streptavidin-Horseradish Peroxidase (HRP) eklendi. Sonrasında 37°C' de 60 dakika inkubasyon uygulandı. Inkubasyon işleminden sonra 6 kez yıkama işlemi yapılarak bağlanmamış Streptavidin-HRP'nin bu işlem sırasında yıkanması sağlandı. Substrat çözeltisi daha sonra ilave edildi ve insan GH miktarıyla orantılı olarak renk değişikliği gelişmesi beklendi. Reaksiyon, asidik durdurma çözeltisi ilave edilerek sonlandırıldı ve 450 nm'de absorbans ölçüldü.

AMH Düzey Ölçümü

AMH seviyelerinin değerlendirilmesi için; numuneler, oda sıcaklığında 4 saat süreyle eritildi. AMH seviyeleri üreticinin talimatlarına göre enzim immunoassay ile ölçüldü. Üretici talimatının belirttiği şekilde; plakalar, insan AMH antikoru ile önceden kaplanmıştı. Örnekte mevcut olan AMH eklenmesini takiben talimatta da belirtildiği üzere oyuklar içine kaplanmış antikorlara bağlanmaktadır. Ve sonra biyotinlenmiş insan AMH antikoru eklenerek numunedeki AMH'a bağlanması sağlandı. Daha sonra biyotinlenmiş AMH antikoruna bağlanacak olan Streptavidin-HRP eklendi. Sonrasında 37°C' de 60 dakika inkubasyon uygulandı. Inkubasyon işleminden sonra 6 kez yıkama işlemi yapılarak bağlanmamış Streptavidin-HRP' nin bu işlem sırasında yıkanması sağlandı. Substrat çözeltisi daha sonra ilave edildi ve insan AMH miktarıyla

orantılı olarak renk değişikliği gelişmesi beklendi. Reaksiyon, asidik durdurma çözeltisi ilave edilerek sonlandırıldı ve 450 nm'de absorbans ölçüldü. Absorbanslar ELX800 ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm'de okutuldu. Plate yıkamalarında ise otomatik yıkayıcı olarak Bio-tek ELX50 (BioTekInstruments,USA) kullanıldı. Sonuçlar ng/mL olarak belirtildi.

Verilerin Toplanması ve Veri Toplama Aracı

Çalışmada veri aracı olarak dahil edilen hastaların kaydedilen verilerinden yararlanıldı. Hasta verileri veri tabanına aktarıldı ve sonrasında ".sav" uzantılı Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 21.0 dosyaları haline getirilerek analizler bu dosya üzerinden gerçekleştirildi.

Verilerin Analizi

Çalışmada verilerin istatistiksel analizleri için SPSS 21.0 programı kullanıldı. Hastalar sağlıklı kontrol, DOR ve açıklanamayan infertilite olmak üzere 3 grup olarak değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistiklerin oluşturulmasında sayı, yüzde, en küçük, en büyük değerler, ortalama gibi merkezi ve yaygınlık ölçütlerinden kategorik değişkenler arasındaki farkların tespitinde ise Pearson Ki-kare ve Fisher'in Exact Testi'nden yararlanıldı. Sürekli verilere ait tanımlayıcı istatistikler, verilerin normal dağılım testlerine göre belirlenen parametrik ve non-parametrik olmasına göre ortalama (\pm standart sapma) veya ortanca (en küçük-en büyük değer) şeklinde verilmiştir. Parametrik verilerin varyans analizinde t-test, non-parametrik olanlarda Mann-Whitney testi uygulanmıştır. Kategorik verilere ait tanımlayıcı istatistikler sayı ve frekans (% oran) olarak verilmiş ve istatistiksel analizinde Pearson Ki-Kare testi kullanılmıştır. 3 grup arasında yapılan değerlendirmelerde Kruskal Wallis varyans analizi kullanıldı. İkili alt grup karşılaştırmalarında Mann-Whitney U testi uygulandı. Ölçümler

arasındaki ilişkiler korelasyon analizi ile incelendi ve Spearman (rs) korelasyon katsayısı hesaplandı. Çalışmada istatistiksel olarak p değerinin 0,05'in altında olması anlamlı kabul edildi.

Araştırma İnsan Gücü ve Bütçesi

Çalışma tez sahibi araştırma görevlisi tarafından ilgili öğretim üyesi danışmanlığında planlanmış, verileri toplanmış, analizleri yapılmış ve rapor haline getirilmiştir. Araştırma prospektif özellik taşıması bakımından çalışmada rutin kan tetkikleri alınması sırasında çalışmamız için 5 cc periferik kan ayırılması dışında herhangi bir ek bir girişimde bulunulmamıştır. Kontrol grubuna dahil edilen hasta grubunun over rezervi değerlendirmesi amacıyla infertilite öyküsü olmaması nedeniyle SGK kapsamı dışında AMH ve GH düzeyi dış laboratuvarında çalışıldığından tetkik masrafları ve çalışmada oluşan kırtasiye giderleri tez sahibi araştırma görevlisi tarafından karşılanmıştır. Araştırma bütçesi için herhangi bir kurum ya da kuruluştan bilim araştırmalar fon desteği alınmamıştır.

BULGULAR

Çalışmaya toplam 56 DOR tanılı, 52 açıklanamayan infertilite tanılı ve 55 sağlıklı kontrol olmak üzere 163 kadın alındı. DOR tanılı hasta grubunda 4 hasta ve sağlıklı kontrol grubunda 1 hastanın GH seviyeleri > 10 ng/mL saptanması ve kontrol grubunda 4 hasta AMH düzeyleri <1.1 ng/mL saptanması üzerine çalışmaya dahil edilme kriterlerini karşılamadığı için çalışma dışında bırakıldı. Çalışmadan dışlanan vakalardan sonra toplam 154 olgu ile çalışmaya devam edildi. Çalışmaya alınan olgular 'DOR' (grup-I), 'Açıklanamayan İnfertilite' (grup-II) ve 'Kontrol'(grup-III) grupları olmak üzere üç ayrı grup halinde incelendi. DOR grubunda 52 , açıklanamayan infertilite grubunda 52 , sağlıklı kontrol grubunda 50 olgu yer almaktadır.

Her üç grubun yaş ortalaması, BMI, sigara-alkol kullanımı, eğitim durumu ve meslek ile ilgili genel demografik bilgileri Tablo-1' de verilmiştir. DOR grubunun yaş median değeri 35.5 (25-40), açıklanamayan infertilite grubunun yaş median değeri 29.5 (20-38) , kontrol grubunun ise 33.0 (19-39) idi. Her üç grubun yaş median değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.001$). DOR grubunun ortalama BMI 23.55, açıklanamayan infertilite grubunun ortalama BMI değeri 23.1, kontrol grubunda ise 24.0 idi ($p=0.751$). Çalışmaya dahil edilen olguların eğitim durumuna ait oranlara bakıldığında DOR grubunda en sık ilkokul mezunları (% 36.5), açıklanamayan infertilite grubunda en sık lise mezunları (% 44) ve kontrol grubunda ise en sık lisans mezunlarının (% 52) yer aldığı tespit edildi. Meslek gruplarına bakıldığında DOR grubunda % 50, açıklanamayan infertilite grubunda % 53.8 ve kontrol grubunda ise % 36 oranla en sık ev hanımlarının yer aldığı tespit edildi. Gruplar arasında eğitim durumları ve meslek gruplarının oranları açısından anlamlı farklılık yoktu. Çalışmaya alınan olgular içinde sigara kullananların sıklığı DOR grubunda % 19.2, açıklanamayan infertilite grubunda % 11.5, kontrol grubunda ise % 16 olarak belirlendi ve aradaki farkın istatistiksel açıdan anlamsız olduğu saptandı ($p=1.00$). Çalışmaya alınan olgular içinde alkol kullananların sıklığı DOR

grubunda % 1.9, açıklanamayan infertilite grubunda % 0, kontrol grubunda ise % 2 olarak belirlendi ve aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı değildi (p=1.00).

Tablo-1: Kontrol ve Hasta gruplarının demografik özelliklerinin karşılaştırılması

	Grup-I (n=52)	Grup-II (n=52)	Grup-III (n=50)	TOTAL (n=154)
Yaş #	35,5(25-40)	29,5(20-38)	33(19-39)	p<0,001
BMI *	23,55(17,2-35,3)	23,1(17,2-39)	24(18-30)	p=0,751
Eğitim 				
İlkokul	19(%36,5)	17(%32,7)	7(%14)	43(%27,9)
Lise	16(%30,8)	23(%44,2)	17(%34)	56(%36,4)
Ön Lisans	2(%3,8)	0	0	2(%1,3)
Lisans	15(%28,8)	12(%23,1)	26(%52)	53(%34,4)
Meslek 				
Bankacı	0	0	1(%2)	1(%0,6)
Danışman	3(%5,8)	0	1(%2)	4(%2,6)
Ebe	0	0	1(%2)	1(%0,6)
Eczacı	2(%3,8)	0	0	2(%1,3)
Ev Hanımı	26(%50)	28(%53,8)	18(%36)	72(%46,8)
Hemşire	1(%1,9)	0	7(%14)	8(%5,2)
İşçi	6(%11,5)	10(%19,2)	5(%10)	21(%13,6)
Memur	2(%3,8)	0	0	2(%1,3)
Mimar	0	2(%3,8)	0	2(%1,3)
Muhasebeci	2(%3,8)	2(%3,8)	0	4(%2,6)
Mühendis	0	0	3(%6)	3(%1,9)
Müşteri Tems.	0	1(%1,9)	0	1(%0,6)
Öğrenci	0	0	2(%4)	2(%1,3)
Öğretmen	2(%3,8)	4(%7,7)	6(%12)	12(%7,8)
Öğretim Üyesi	0	0	1(%2)	1(%0,6)
Satış Tems.	2(%3,8)	3(%5,8)	0	5(%3,2)
Sekreter	0	0	3(%6)	3(%1,9)
Serbest Mes.	0	1(%1,9)	0	1(%0,6)
Sigortacı	0	1(%1,9)	0	1(%0,6)
Teknisyen	4(%7,7)	0	2(%4)	6(%3,9)
Turizmci	2(%3,8)	0	0	2(%1,3)
Sigara Öy. 				p=1.00
(+)	10(%19,2)	6(%11,5)	8(%16)	24(%15,5)
(-)	42(%80,8)	46(%88,5)	42(%84)	130(%84,5)
Alkol Öy. 				p=1.00
(+)	1(%1,9)	0	1(%2)	2(%1)
(-)	51(%98,1)	52(%100)	49(%98)	152(%99)

İnfertil hasta popülasyonunu oluşturan grup-I ve grup-II'de yer alan hastalara ait geçmiş IVF siklus sayısı, antral follikül sayısı (AFC) ve infertilite sürelerine ait veriler Tablo-2'de verilmiştir.

Tablo-2: Grup-I ve Grup-II hastalarına ait geçmiş IVF siklus sayısı, antral follikül sayısı (AFC) ve infertilite sürelerine ait veriler

	Grup-I (n=52)	Grup-II (n=52)	Toplam
AFC	4(1-7)	13,5(8-19)	p<0,001
IVF Öyküsü			
Hiç	11(%21,2)	28(%53,8)	39(%37,5)
1 Kez	8(%15,4)	13(%25)	21(%21,2)
2 Kez	21(%40,4)	7(%13,5)	28(%26,9)
3 Kez	4(%7,7)	3(%5,8)	7(%6,7)
4 Kez	5(%9,6)	0	5(%4,8)
5 Kez	3(%5,8)	1(%1,9)	4(%3,8)
İnfertilite Süresi (yıl)	5(2-16)	4(1-16)	p=0,124

Çalışmaya alınan infertil olgular içinde daha önce IVF siklus öyküsü olmayan ilk kez IVF siklus planlananların sıklığı DOR grubunda % 21.2 , açıklanamayan infertilite grubunda ise % 53.8 idi. Daha önce 1 kez IVF siklus öyküsü bulunanların sıklığı DOR grubunda % 15.4 , açıklanamayan infertilite grubunda ise % 25 idi. Daha önce 2 kez IVF siklus öyküsü bulunanların sıklığı DOR grubunda % 40.4 , açıklanamayan infertilite grubunda ise % 13.5 idi. Daha önce 3 kez IVF siklus öyküsü bulunanların sıklığı DOR grubunda %7.7 , açıklanamayan infertilite grubunda ise % 5.8 idi. Daha önce 4 kez IVF siklus öyküsü bulunanların sıklığı DOR grubunda % 9.6 , açıklanamayan infertilite grubunda ise % 0 idi. Daha önce 5 kez IVF siklus öyküsü bulunanların sıklığı DOR grubunda % 5.8, açıklanamayan infertilite grubunda ise % 1.9 idi. DOR grubunun AFC ortalaması 4 (1-7), açıklanamayan infertilite grubunun AFC ortalaması 13.5 (8-19) idi (p<0.001). DOR grubunun infertilite süre ortalaması 5

yıl (2-16), açıklanamayan infertilite grubunun infertilite süre ortalaması 4 yıl (1-16) idi ve aradaki farkın istatistik açıdan anlamsız olduğu saptandı ($p=0.124$).

Kontrol grubundaki hastalara ait gravida, parite bilgileri ile ilgili sayılar Tablo-3'te verilmiştir. Kontrol grubunda 1 gravidası bulunanların sıklığı % 38 , 2 gravidası bulunanların sıklığı % 52, 3 gravidası bulunanların sıklığı % 6, 4 gravidası bulunanların sıklığı % 2 ve 5 gravidası bulunanların sıklığı % 2 idi. Kontrol grubunda 1 yaşayanı bulunanların sıklığı % 44, 2 yaşayanı bulunanların sıklığı % 54, 3 yaşayanı bulunanların sıklığı % 2 idi.

Tablo-3: Kontrol grubundaki hastalara ait gravida, parite bilgileri

	Gravida	Yaşayan
1	19(%38)	22(%44)
2	26(%52)	27(%54)
3	3(%6)	3(%2)
4	1(%2)	0
5	1(%2)	0

Her üç grubun AMH ve GH düzeyleri ile ilgili bilgileri Tablo-4' de verilmiştir. DOR grubunun AMH ortalaması 0.7 ng/mL (0.01-1.1 ng/mL), açıklanamayan infertilite grubunun AMH ortalaması 2.7 ng/mL (1.45-7.9 ng/mL) kontrol grubunun AMH ortalaması ise 2.4 ng/mL (1.31-8.8 ng/mL) idi ve aradaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu saptandı ($p<0.001$). DOR grubunun GH ortalaması 0.625 ng/mL (0.005-9.09 ng/mL), açıklanamayan infertilite grubunun GH ortalaması 0.32 ng/mL (0.005-6.8 ng/mL) , kontrol grubunun GH ortalaması ise 0.163 ng/mL (0.005-9.1 ng/mL) idi ve aradaki farkın istatistik açıdan anlamsız olduğu saptandı ($p=0.129$).

Tablo-4: Grupların serum AMH ve GH düzeylerinin karşılaştırılması

	Grup-I (n=52)	Grup-II (n=52)	Grup-III (n=50)	P Değeri
AMH	0,7(0,01-1,1)	2,7(1,45-7,9)	2,4(1,31-8,8)	<0,001
GH	0,625(0,005-9,09)	0,32(0,005-6,8)	0,163(0,005-9,1)	0,129

DOR ve açıklanamayan infertilite grubuna dahil edilen hastalara IVF siklusu başlanmadan önce bakılan adet siklusunun 3.günü (D3) FSH, LH,estrodiool (E2) düzeyleri ile ilgili bilgileri Tablo-5' de verilmiştir. DOR grubunun FSH ortalaması 5.78 IU/L, açıklanamayan infertilite grubunun FSH ortalaması ise 4.8 IU/L idi ve aradaki farkın istatistiksel açıdan anlamsız olduğu saptandı (p=0.21). DOR grubunun LH ortalaması 2.51 IU/L, açıklanamayan infertilite grubunun LH ortalaması ise 2.77 IU/L idi ve aradaki farkın istatistik açıdan anlamsız olduğu saptandı (p=0.583). DOR grubunun E2 ortalaması 41 ng/L, açıklanamayan infertilite grubunun E2 ortalaması ise 45 ng/L idi ve aradaki farkın istatistik açıdan anlamsız olduğu saptandı (p=0.661).

Tablo-5: İnfertilite tanılı hastaların bazal hormon düzeyleri

	Grup-I	Grup-II	p Değeri
FSH	5,78(0,98-35,42)	4,8(1,8-11,36)	0,21
LH	2,51(0,62-12,59)	2,77(0,98-12,71)	0,583
E2	41(15-267)	45(24-191)	0,661

Çalışmamız temelde dahil edilen her üç gruptaki hastaların serum GH düzeyleri ile AMH düzeyleri arasındaki korelasyonu araştırmayı hedeflemiştir. Çalışmaya alınan olguların GH düzeyinin çalışılan diğer parametrelerle ilişkisi ve değerlendirilen parametrelerin birbirleri ile olan ilişkisi korelasyon analizi ile değerlendirilmiştir. Tablo 6-1 ve Tablo 6-2'de DOR grubunu içeren korelasyon analizi sonuçları ayrıntılı olarak verilmiştir. DOR grubunda GH düzeyleri ile AMH arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (r 0.081, p=0.567). DOR grubunda GH

düzeyleri ile FSH, LH düzeyleri, infertilite süresi ve AFC arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (sırasıyla $p=0.796$, $p=0.413$, $p=0.264$, $p=0.832$).

Tablo-6.1: Grup-I için değişkenlerin birbiri ile korelasyon analiz sonuçları

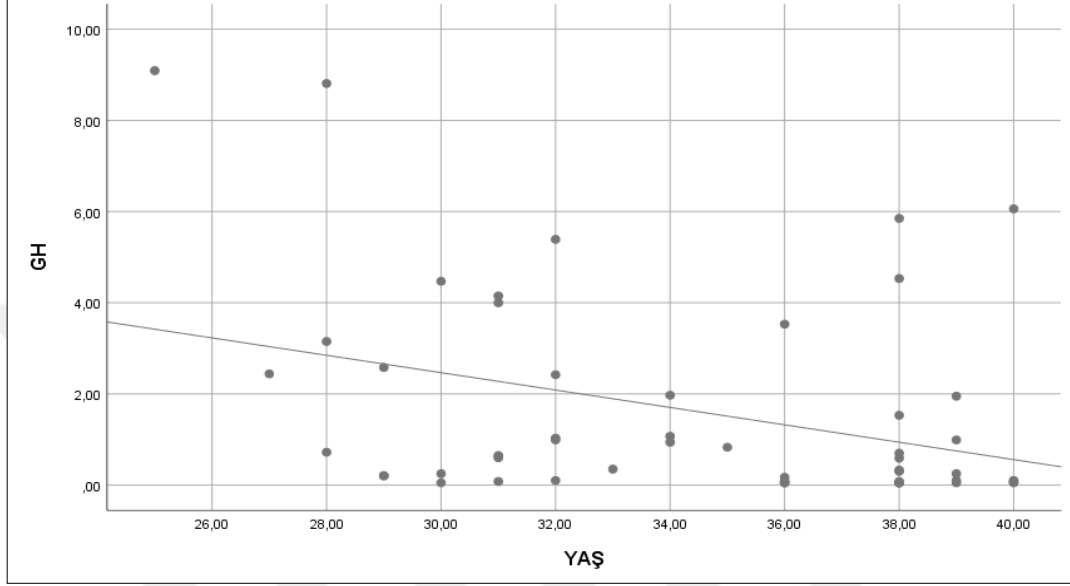
	Yaş	AMH	GH	FSH	LH	E2	AFC	Infertilite S.	BMI
Yaş		-0,217	-0,367**	0,300*	0,172	-0,283*	-0,150	0,047	0,253
AMH	-0,217		0,081	-0,235	0,026	-0,017	0,665**	-0,123	-0,144
GH	-0,367**	0,081		-0,037	0,116	0,314*	0,03	-0,158	-0,532**
FSH	0,300*	-0,235	-0,037		0,681**	-0,559**	-0,165	-0,269	-0,123
LH	0,172	0,026	0,116	0,681**		-0,335*	-0,06	-0,146	-0,196
E2	-0,283*	-0,017	0,314*	-0,559**	-0,335*		0,014	0,053	-0,13
AFC	-0,150	0,665**	0,03	-0,165	-0,06	0,014		0,134	-0,094
Infertilite S.	0,047	-0,123	-0,158	-0,269	-0,146	0,053	0,134		0,062
BMI	0,253	-0,144	-0,532**	-0,123	-0,196	-0,13	-0,094	0,062	

Tablo-6.2: Grup-I için değişkenlerin GH düzeyi ile korelasyon analiz sonuçları

	r	p
Yaş	-0,367**	0,008
AMH	0,081	0,567
FSH	-0,037	0,796
LH	0,116	0,413
E2	0,314*	0,028
AFC	0,03	0,832
Infertilite S.	-0,158	0,264
BMI	-0,532**	<0,001

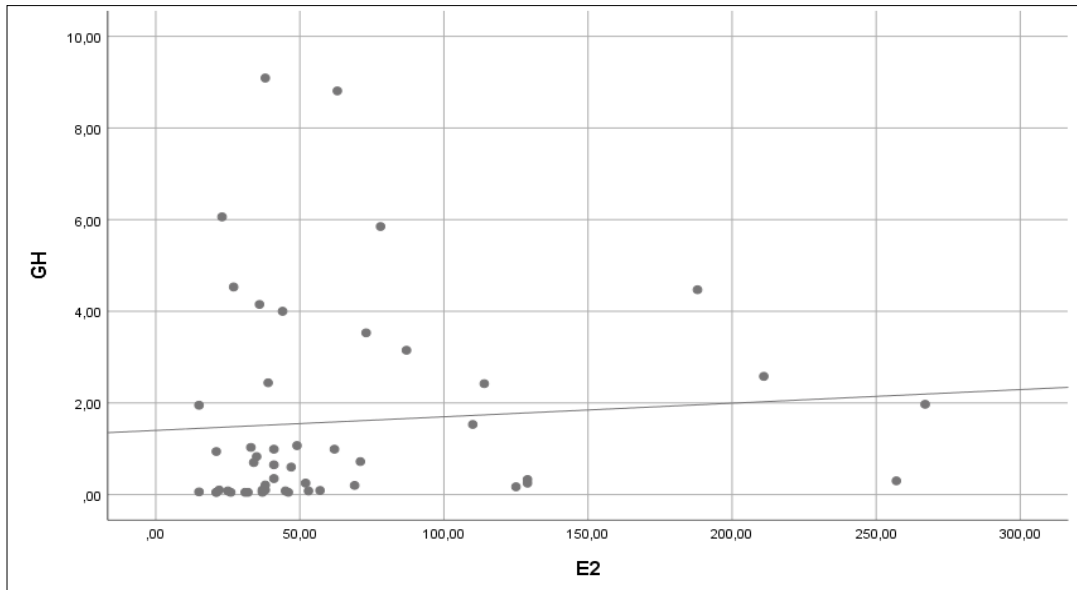
DOR grubunda GH düzeyleri ile yaş arasında anlamlı düzeyde negatif korelasyon tespit edildi ($r = 0.367^{**}$ $p=0.008$) ve dağılımı Grafik 1’de gösterildi.

Grafik-1: Grup-I için yaşa göre serum GH düzeylerinin dağılım grafiği



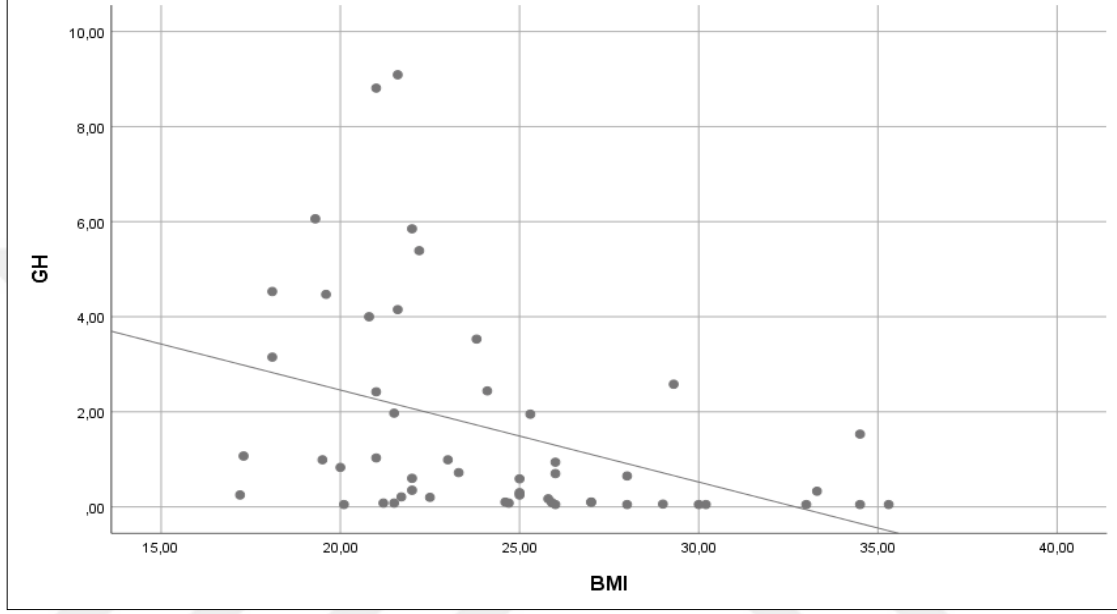
DOR grubunda GH düzeyleri ile E2 düzeyleri arasında anlamlı düzeyde pozitif korelasyon tespit edildi ($r 0.314^{**}$ $p=0.028$) ve dağılımı Grafik 2’de gösterildi.

Grafik-2: Grup-I için serum E2 düzeylerine göre serum GH düzeylerinin dağılım grafiği



DOR grubunda GH düzeyleri ile BMI değerleri arasında anlamlı düzeyde negatif korelasyon tespit edildi ($r = -0.532^{**}$ $p < 0.001$) ve dağılımı Grafik 3'de gösterildi.

Grafik-3: Grup-I için BMI değerlerine göre serum GH düzeylerinin dağılım grafiği



DOR grubunda AMH düzeyleri ile AFC arasında pozitif korelasyon tespit edildi ($r 0.665^{**}$ $p < 0.001$) ve diğer parametreler ile arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

Tablo 7-1 ve Tablo 7-2'de de açıklanamayan infertilite grubuna ait korelasyon analizi sonuçları ayrıntılı olarak verilmiştir. Açıklanamayan infertilite grubunda GH düzeyleri ile AMH düzeyleri ve AFC arasında anlamlı korelasyon saptanmadı. Açıklanamayan infertilite grubunda GH düzeyleri ile FSH, LH düzeyleri ve infertilite süresi arasında anlamlı korelasyon saptanmadı. Açıklanamayan infertilite grubunda GH düzeyleri ile yaş ve BMI değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı. Açıklanamayan infertilite grubunda GH düzeyleri ile E2 düzeyleri arasında anlamlı düzeyde pozitif korelasyon tespit edildi ($r 0.311^{**}$ $p = 0.025$). Açıklanamayan infertilite grubunda AMH düzeyleri ile LH düzeyleri arasında pozitif korelasyon tespit edildi ($r 0.349^{**}$ $p = 0.011$) ve diğer parametreler ile arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

Tablo-7.1: Grup-II için değişkenlerin birbiri ile korelasyon analiz sonuçları.

	Yaş	AMH	GH	FSH	LH	E2	AFC	Infertilite S.	BMI
Yaş		-0,081	-0,038	-0,345*	-0,236	-0,055	-0,185	0,261	0,310*
AMH	-0,081		-0,092	0,047	0,349*	0,009	0,26	-0,038	-0,262
GH	-0,038	-0,092		-0,010	0,048	0,311*	-0,111	-0,038	-0,210
FSH	-0,345*	0,047	-0,010		0,64**	-0,224	0,114	-0,193	-0,210
LH	-0,236	0,349*	0,048	0,64**		-0,091	-0,266	-0,228	-0,247
E2	-0,055	0,009	0,311*	-0,224	-0,091		0,044	-0,129	-0,234
AFC	-0,185	0,26	-0,111	0,114	-0,266	0,044		-0,242	-0,372**
Infertilite S.	0,261	-0,038	-0,038	-0,193	-0,228	-0,129	-0,242		0,252
BMI	0,310*	-0,262	-0,210	-0,210	-0,247	-0,234	-0,372**	0,252	

Tablo-7.2: Grup-II için değişkenlerin GH düzeyi ile korelasyon analiz sonuçları.

	r	p
Yaş	-0,038	0,79
AMH	-0,092	0,516
FSH	-0,010	0,945
LH	0,048	0,736
E2	0,311*	0,025
AFC	-0,111	0,432
Infertilite S.	-0,038	0,788
BMI	-0,210	0,135

Açıklanamayan infertilite grubunda AFC ile BMI değerleri arasında anlamlı düzeyde negatif korelasyon tespit edildi ($r = -0.372^{**}$ $p=0.007$). Açıklanamayan infertilite grubunda yaş ile BMI değerleri arasında anlamlı düzeyde pozitif korelasyon tespit edildi ($r = 0.310^{**}$ $p=0.025$).

Tablo 8'de kontrol grubuna ait korelasyon analizi sonuçları ayrıntılı olarak verilmiştir. Kontrol grubunda GH düzeyleri ile yaş, AMH, BMI arasında anlamlı korelasyon saptanmadı. (sırasıyla $p=0.73$, $p=0.188$, $p=0.513$). Kontrol grubunda yaş ve AMH düzeyleri arasında anlamlı düzeyde negatif korelasyon tespit edildi ($r = -0.684^{**}$ $p<0.001$).

Tablo-8: Grup-III için değişkenlerin GH düzeyi ile korelasyon analiz sonuçları.

	r	p
Yaş	-0,050	0,73
AMH	-0,189	0,188
BMI	-0,095	0,513

Çalışmaya dahil edilen 154 vakanın tamamı ele alınarak GH düzeyleri ve yaş arasında korelasyon değerlendirilmesi yapıldığında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon tespit edilmedi. Ancak DOR grubunda alt grup analizi olarak GH düzeyleri ve yaş arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon olduğu tespit edildi ($r = -0.367^{**}$ $p=0.008$). Bunun üzerine vakalar 18-22 yaş (I), 23-28 yaş (II), 29-34 yaş (III) ve 35-40 yaş (IV) gruplarına ayrılarak fark oluşturan yaş grubu tespit edilmesi için tekrar analiz edildi. Tüm dahil edilen vakaların yaş gruplarına göre dağılımı ile GH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.160$). Kontrol grubu ve açıklanamayan infertilite grubundaki vakaların yaş gruplarına göre dağılımı ile GH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p=0.576$, $p=481$). DOR grubundaki vakaların yaş gruplarına göre dağılımı ile GH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0.005$). DOR grubuna dahil edilen vakaların yaş gruplarına göre sınıflandırılmasının ardından ikili karşılaştırma yapılarak istatistiksel olarak II ve IV

yaş gruplarının GH düzeyleri arasında farkın istatistiksel olarak anlam ifade ettiği tespit edildi ($p=0,009$).



5. TARTIŞMA

Bu çalışmada temel olarak DOR tanılı infertil hastalarda GH düzeyleri ve over rezerv belirteci olan AMH düzeyleri ile arasındaki ilişki araştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. Tıbbi literatüre bakıldığında henüz GH düzeyleri ile over rezervi arasında doğrudan ilişki olup olmadığını gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak kötü ovarian yanıtı (poor responder) olan hastalarda kontrollü ovarian stimülasyon protokolüne adjuvan olarak GH eklenmesi ile toplanan oosit sayısında artış ve IVF gebelik sonuçlarında iyileşme tespit eden çalışmalar olması over rezervi üzerine GH'nun rolü olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmaların ışığında GH'nun oosit maturasyonu ve over rezervine olan etkileri yeni araştırmalara konu olmuştur. GH uyarısı ile sentezlenen IGF-1, granüloza hücrelerinin çoğalmasını ve farklılaşmasını uyarırken, bu hücrelerdeki apoptozisi ve foliküler atreziyi önlemektedir. Fertilitenin en önemli parametrelerinden olan ovarian rezervin değerlendirilmesi için belirteçlerin geliştirilmesi, over rezervinde azalmaya sebep olabilecek mekanizmaların anlaşılması ve kötü ovarian rezervin iyileştirilmesine yönelik olası tedavi seçeneklerinin saptanması son yıllarda infertilite araştırmalarının hedefi olmuştur. IVF tedavisi alan hastalarda elde edilen oosit sayısı tedavi başarısını belirleyen önemli bir faktördür. Kötü over yanıtı olan hastalarda gebelik oranları düşmektedir. Bu nedenle infertil hastalarda over rezervinin doğru değerlendirilmesi ve DOR tespit edilen hastalarda over rezervinin iyileştirilmesini sağlayacak tedaviler geliştirilmesi ile IVF sonuçlarındaki başarının artacağı kabul görmektedir. GH'nun over fonksiyonları üzerindeki etkisi ve GH'nun adjuvan tedavi olarak yaygın kullanımını bizi DOR olgularında GH düzeylerini araştırmaya yönlendirmiştir.

Bizim bu çalışmadaki amacımız over rezervinin biyokimyasal belirteci olan AMH düzeyi ile serum GH düzeyi arasındaki korelasyonu araştırarak, DOR olgularında GH'nun yerini belirlemek idi.

Çalışmamızda beklendiği üzere DOR (grup-I) grubundaki olguların yaşlarının ileri olması sebebiyle gruplar arasındaki yaş farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$). Bu bulgu, kadın yaşının daha ileri olduğu olgularda DOR saptanma sıklığının arttığını bildiren yayınlarla paraleldir (98,99). GH düzeylerinin bilindiği üzere yaşın ilerlemesi ile azaldığı ancak azalma oranlarının grupların dahil edildiği yaş aralığında az olduğu ve bu anlamda sonuçları etkilemediği düşünüldü.

Her üç grubun AMH düzeyleri kıyaslandığında aradaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu bulundu ($p<0.001$). Gruplar arasında AMH düzeyindeki farklılığı sağlayan grubun DOR grubuna ait AMH düzeyleri olduğu tespit edildi. Bu bulgu beklendiği üzere, DOR saptanan olgularda AMH değerlerinin düşük olduğunu bildiren yayınlarla paraleldir (100,101).

Çalışmamızda her üç grubun GH düzeyleri kıyaslandığında DOR grubunun GH ortalaması 0.625 ng/mL, açıklanamayan infertilite grubunun GH ortalaması 0.32 ng/mL, kontrol grubunun GH ortalaması 0.163 ng/mL olarak saptandı ve aradaki farkın istatistik açıdan anlamsız olduğu tespit edildi ($p=0.129$). Çalışmamıza dahil edilen 3 grup arasında GH düzeylerinin arasında anlamlı farklılık saptanmamasına sebep olabilecek etmenlerin irdelenmesi gerekmektedir. Menstrüel siklus içerisinde folliküler faz ve luteal faz evrelerinde kan GH düzeyleri açısından farklılık olduğu ve stres, egzersiz, fiziksel aktivite, travma ve açlık gibi durumlarda GH sekresyonunun arttığı bilinmektedir. Karbonhidrat ve yağdan zengin beslenme ise GH salınımını inhibe etmektedir. Çalışmamızın sonuçları üzerine bu farklılığın etki etmesini önlemek ve şartları standardize edebilmek amacıyla tüm hastalardan menstrüel siklusun 3. günü sabah erken saatlerde, aç karnına materyal toplanmıştır. Yine de stres düzeyi, numune alımından önceki gün alınan besin nitelik ve içeriği, numune vermek üzere merkezimize gelene kadar olguların gerçekleştirdiği fiziksel aktivite kontrol edilemeyen değişkenlerdir.

Çalışmaya dahil edilen DOR, açıklanamayan infertilite ve kontrol grupları arasında AMH düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptanmasına rağmen GH düzeyleri ile AMH düzeyleri arasındaki korelasyon analizinde istatistiksel olarak

anlamli korelasyon saptanmadı (sırasıyla $p=0.567$, $p=0.516$, $p=0.188$). GH' nun ovarian hücre fonksiyonları üzerindeki rolünü gösteren çalışmalar olmasına rağmen henüz IGF-I aracılı etkisinden bağımsız olarak over rezervi üzerine olan etkisi kesin olarak ortaya konulmamıştır.

DOR grubunda GH düzeyleri ile yaş arasında anlamlı düzeyde negatif korelasyon tespit edildi ($p=0.008$). Çalışmamızdaki bu bulgu, GH sekresyonunun ergenlik dönemi boyunca en üst düzeylerde seyrederken, yaşın ilerlemesiyle azaldığını bildiren yayınlar ile paraleldir (84,85). DOR grubunda yaşın ileri olmasının GH düzeyleri üzerine doğrudan etkisinin yanı sıra yaşa bağlı over rezervinde azalma ile GH düzeylerinin düşük saptanmasına neden olabileceği düşünöldü.

DOR ve açıklanamayan infertilite gruplarında GH düzeyleri ile E2 düzeyleri arasında anlamlı düzeyde pozitif korelasyon tespit edildi (sırasıyla $r = 0.314^{**}$ $p=0.028$, $r = 0.311^{**}$ $p=0.025$). GH, ovarian granüloza hücrelerinde periferik etkilerin çoğundan sorumlu olan IGF-I aracılığı ile granüloza hücre fonksiyonlarının regülasyonunu sağlar. FSH ile birlikte, granüloza hücrelerinde östradiol-17 β (E2) ve progesteron (P) üretimini artırırken; LH ile birlikte, teka hücrelerinde androjen sekresyonunu uyarmaktadır. Çalışmamızda elde edilen bu bulgu GH'nun IGF-I aracılığı ile granüloza hücrelerinde östrodiol sentezini arttırdığını bildiren çalışmalar ile paraleldir (93,94).

DOR grubunda GH düzeyleri ile BMI değerleri arasında anlamlı düzeyde negatif korelasyon tespit edildi ($r = -0.532^{**}$ $p<0.001$). Bu bulgu, BMI'daki artışın abdominal visseral adipozitenin artmış olarak tespit edildiği obez olgularda spontan GH sekresyonunun azalmasında güçlü bir inhibitör olduğunu saptayan araştırmalar ile paraleldir (102,103). Literatüre bakıldığında obezitenin GH sekresyonu üzerine olan etkileri kesin olarak ortaya konulamamış olsa da bu etkinin oluşmasında hipotalamik GH-RH ve ghrelinin rol oynadığı düşünölmektedir (87). GH ilişkili olarak ghrelin açlık boyunca kan glukoz düzeyinin devamlılığını sağlar. Bunların yanı sıra GH üretimini stres, uyku, egzersiz, hipoglisemi ve açlık gibi fizyolojik uyarıcılar artırır. Glikokortikoidler,

karbonhidrat ve yağdan zengin beslenme ve leptin uyarısı ise GH salınımı inhibe etmektedir.

Çalışma sonuçlarımız değerlendirildiğinde DOR tanılı olgularda serum GH düzeyleri değerlendirilmiş ve over rezervinin biyokimyasal belirteci olan AMH ile GH düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilmemiştir. GH' nun ovarian rezerv üzerine etkileri açısından henüz açıklığa kavuşmamış çok sayıda soru, mevcut bilgiler ve çalışmamızın sunduğu sonuçların ışığında pulsatil salınımı sebebiyle birden fazla ölçüm ile GH düzeylerinin, GH' nun periferik etkisinden sorumlu IGF-I düzeylerinin, menstrüel siklus içi farklılıkların, IVF tedavisinde kullanılan gonadotropin dozlarının, GH' nun embiyolojik parametrelerle olan ilişkisinin, GH' nun oosit toplanması esnasında follikül sıvısındaki etkilerinin araştırılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss, *Fertil Steril* 99(1):63, 2013.
2. Thoma ME, McLain AC, Louis JF. Prevalence of infertility in the United States as estimated by the current duration approach and a traditional constructed approach, *Fertil Steril* 99(5):1324.e1, 2013.
3. Maroulis GB. Effect of aging on fertility and pregnancy, *Semin Reprod Endocrinol* 9:165, 1991.
4. van Noord-Zaadstra BM, Looman CW, Alsbach H. Delaying child-bearing: effect of age on fecundity and outcome of pregnancy, *Br Med J* 302:1361, 1991.
5. Wang X, Chen C, Wang L. Conception, early pregnancy loss, and time to clinical pregnancy: a population-based prospective study, *Fertil Steril* 79:577, 2003.
6. Block E. Quantitative morphological investigations of the follicular system in women, *Acta Anat* 14:108, 1952.
7. Block E. A quantitative morphological investigation of the follicular system in newborn female infants, *Acta Anat (Basel)* 17:201, 1953.
8. Baker TG. A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries, *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 158:417, 1963.
9. Vaskivuo TE, Anttonen M, Herva R. Survival of human ovarian follicles from fetal to adult life: apoptosis, apoptosis-related proteins, and transcription factor GATA-4, *J Clin Endocrinol Metab* 86:3421, 2001.
10. Markstrom E, Svensson E, Shao R. Survival factors regulating ovarian apoptosis-dependence on follicle differentiation, *Reproduction* 123:23, 2002.

11. te Velde ER, Pearson PL. The variability of female reproductive ageing, *Hum Reprod Update* 8:141, 2002.
12. Richardson SJ, Senikas V, Nelson JF. Follicular depletion during the menopausal transition: evidence for accelerated loss and ultimate exhaustion, *J Clin Endocrinol Metab* 65:1231, 1987.
13. Faddy MJ, Gosden RG. A model conforming the decline in follicle numbers to the age of menopause in women, *Hum Reprod* 11:1484, 1996.
14. Battaglia DE, Goodwin P, Klein NA. Influence of maternal age on meiotic spindle assembly in oocytes from naturally cycling women, *Hum Reprod* 11:2217, 1996.
15. Gougeon A, Echiochard R, Thalabard JC. Age-related changes of the population of human ovarian follicles: increase in the disappearance rate of non-growing and early-growing follicles in aging women, *Biol Reprod* 50:653, 1994.
16. Hugh S. Taylor, Pal L, Seli E. "Speroff's Clinical Gynecologic Endocrinology and Fertility, Female Fertility , Ovarian Reserve and Its Assessment, (ed.) 2019, pg 2543.
17. Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR. Anti-Mullerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment, *Mol Hum Reprod* 10:77, 2004.
18. Durlinger AL, Visser JA, Themmen APN. Regulation of ovarian function: the role of anti-Müllerian hormone, *Reproduction* 124:601, 2002.
19. Muttukrishna S, McGarrigle H, Wakim R. Antral follicle count, antimullerian hormone and inhibin B: predictors of ovarian response in assisted reproductive technology? *Br J Obstet Gynaecol* 112:1384, 2005.
20. van Rooij IA, Broekmans FJ, te Velde ER. Serum anti-Mullerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve, *Hum Reprod* 17:3065, 2002.

21. Ebner T, Sommergruber M, Moser M. Basal level of antiMullerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles, *Hum Reprod* 21:2022, 2006.
22. Hsueh AJ, Eisenhauer K, Chun SY. Gonadal cell apoptosis. *Recent Prog Horm Res* 1996;51:433–55 discussion 455-6.
23. Zhou P, Baumgarten SC, Wu Y. IGF-I signaling is essential for FSH stimulation of AKT and steroidogenic genes in granulosa cells. *Mol Endocrinol* 2013;27(3):511–23.
24. Flaws JA, Hirshfield AN, Hewitt JA. Effect of bcl-2 on the primordial follicle endowment in the mouse ovary. *Biol Reprod* 2001;64(4):1153-9.
25. Choi Y, Rajkovic A. Genetics of early mammalian folliculogenesis. *Cell Mol Life Sci* 2006;63(5):579-90.
26. Hsueh AJ, Eisenhauer K, Chun SY. Gonadal cell apoptosis. *Recent Prog Horm Res* 1996;51:433–55 discussion 455-6.
27. Bassiouny YA, Dakhly DMR, Bayoumi YA. Does the addition of growth hormone to the in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection antagonist protocol improve outcomes in poor responders? A randomized, controlled trial. *Fertil Steril* 2016;105(3):697–702.
28. Bayoumi YA, Dakhly DM, Bassiouny YA. Addition of growth hormone to the microflare stimulation protocol among women with poor ovarian response. *Int J Gynaecol Obstet* 2015;131(3):305–8.
29. Eftekhar M, Aflatoonian A, Mohammadian F. Adjuvant growth hormone therapy in antagonist protocol in poor responders undergoing assisted reproductive technology. *Arch Gynecol Obstet* 2013;287(5):1017–21.
30. Lattes K, Brassesco M, Gomez M. Low-dose growth hormone supplementation increases clinical pregnancy rate in poor responders undergoing in vitro fertilisation. *Gynecol Endocrinol* 2015;31(7):565–8.

31. Teede HJ, Misso ML, Costello MF. International PCOS Network, Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome, *Fertil Steril* 110:364, 2018.
32. Fatemi HM, Kasius JC, Timmermans A. Prevalence of unsuspected uterine cavity abnormalities diagnosed by office hysteroscopy prior to in vitro fertilization, *Hum Reprod* 25:1959, 2010.
33. Diamond E. Lysis of postoperative pelvic adhesions in infertility, *Fertil Steril* 31(3):287, 1979.
34. Overstreet JW, Katz DF, Yudin AI. Cervical mucus and sperm transport in reproduction, *Semin Perinatol* 15:149, 1991.
35. Hugh S. Taylor, Pal L, Seli E. "Speroff's Clinical Gynecologic Endocrinology and Fertility, Female Fertility , Ovarian Reserve and Its Assessment , (ed.) 2019, pg 2558.
36. Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BC. ESHRE working group on Poor Ovarian Response Definition. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod.* 2011;26:1616–24.
37. Ruess ML, Kline J, Santos R. Age and the ovarian follicle pool assessed with transvaginal ultrasonography, *Am J Obstet Gynecol* 174:624, 1996.
38. Wathen NC, Perry L, Lilford RJ. Interpretation of single progesterone measurement in diagnosis of anovulation and defective luteal phase: observations on analysis of the normal range, *Br Med J (Clin Res Ed)* 288:7, 1984.
39. Wang C, Mbizvo MT, Vogelsong KM. World Health Organization reference values for human semen characteristics, *Hum Reprod Update* 16:231, 2010.
40. "Sex development Genetics and Biology" NHMRC Australia, 2015.<http://www.dsdgenetics.org/index.php?id=25>

41. Liu YX. Advanced studies on ovary physiology in China in the past 30 years. *Sheng Li Xue Bao* 2016;68(4):366-84.
42. Sanchez F, Smitz J. Molecular control of oogenesis. *Biochim Biophys Acta* 2012;1822(12):1896-912.
43. Merchant-Larios H, Centeno B. Morphogenesis of the ovary from the sterile W/W^v mouse. *Prog Clin Biol Res* 1981;59B:383-92.
44. Mescher AL. Junqueira's Temel Histoloji Atlas Kitap (çeviri: S. Solakoğlu). *Dişi Üreme Sistemi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2015. s. 449-478.
45. Galan N. The Everything Fertility Book: All you need to know about fertility, conception, and a healthy pregnancy. NewYork: Everything yayınları, 2010.
46. Skinner MK. Regulation of primordial follicle assembly and development. *Hum Reprod Update* 2005;11(5):461-71.
47. Sadler TW. Gametogenez: Germ Hücrelerinin Erkek ve Dişi Gametlere Dönüşmesi. Langman's Medical Embriyoloji (çeviri: A. Can Başaklar). Ankara: Palme Yayıncılık;2011. s. 13-27.
48. Junqueira LC, Carneiro J. Dişi üreme sistemi (çeviri: Aytekin Y, Solakoğlu S.). *Temel Histoloji Text and Atlas*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri;2009. s.435-42.
49. Chowdhury I, Thomas K, Thompson WE. Prohibitin (PHB) roles in granulosa cell physiology. *Cell Tissue Res* 2016;363(1):19-29.
50. Ross MH, Pawlina W. Dişi üreme sistemi (çeviri: B. Baykal). *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas*. İstanbul: Palme Yayıncılık;2013. s. 830-895.
51. Yding AC. Inhibin-B secretion and FSH isoform distribution may play an integral part of follicular selection in the natural menstrual cycle. *Mol Hum Reprod*. 2017;23(1):16-24.
52. Banerjee S, Banerjee S, Saraswat G. Female reproductive aging is master-planned at the level of ovary. *PLoS One* 2014;9(5):e96210.

53. Hutt KJ. The role of BH3-only proteins in apoptosis within the ovary. *Reprod* 2015;149(2):R81-9.
54. Koçyiğit A, Çevik M. Memeli. Reprodüktif Dokuları, Gamet Hücreleri ve Embriolarında Apoptozis. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 2011;8(1):33-41.
55. Ozden-Akkaya O, Altunbas K, Yagci A. Effects of methoxychlor on IGF-I signaling pathway in rat ovary. *Biotech Histochem* 2017;92(3):230-42.
56. Visser JA, Themmen AP. Anti-Mullerian hormone and folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2005;234(1-2):81-6.
57. Johnson AL, Bridgham JT. Caspase-mediated apoptosis in the vertebrate ovary. *Reprod* 2002;124(1):19-27.
58. Peluso C, Fonseca FL, Rodart IF. AMH: An ovarian reserve biomarker in assisted reproduction. *Clin Chim Acta* 2014;437:175-82.
59. Ivana Z, Dubravka T, Zeljka B. Anti-Müllerian hormone: A unique biochemical marker of gonadal development and fertility in humans. *Biochimica Medica* 2011;21(3):219–30.
60. Dewailly D, Andersen CY, Balen A. The physiology and clinical utility of anti-Mullerian hormone in women. *Hum Reprod Update* 2014;20(3):370-8.
61. Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR. Anti-Mullerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment, *Mol Hum Reprod* 2004;10:77.
62. Tsepelidis S, Devreker F, Demeestere I. Stable serum levels of antiMullerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women. *Hum Reprod* 2007;22:1837.
63. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D. Anti-Mullerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Human Reproduction Update* 2010;16(2): 113–30.
64. La Marca A, Grisendi V, Griesinger G. How Much Does AMH Really Vary in Normal Women? *Int J Endocrinol*. 2013

65. Hehenkamp WJ, Looman CW, Themmen AP. Anti-Mullerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(10):4057-63.
66. Tsepelidis S, Devreker F, Demeestere I. Stable serum levels of anti-Mullerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women. *Hum Reprod.* 2007;22(7):1837-40.
67. Hadlow N, Longhurst K, McClements A. Variation in antimullerian hormone concentration during the menstrual cycle may change the clinical classification of the ovarian response. *Fertil Steril.* 2013;99(6):1791-7.
68. Hehenkamp WJ, Looman CW, Themmen AP. AntiMullerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation, *J Clin Endocrinol Metab* 91:4057, 2006.
69. La Marca A, Giulini S, Tirelli A. AntiMullerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology. *Hum Reprod.* 2007;22(3):76671.
70. Sowers MR, Eyvazzadeh AD, McConnell D. Anti-mullerian hormone and inhibin B in the definition of ovarian aging and the menopause transition, *J Clin Endocrinol Metab* 93:3478, 2008.
71. van Rooij IA, Tonkelaar I, Broekmans FJ. Anti-mullerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition, *Menopause* 11:601, 2004.
72. van Rooij IA, Broekmans FJ, Scheffer GJ. Serum antimullerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study, *Fertil Steril* 83:979, 2005.
73. de Vet A, Laven JS, de Jong FH. Antimullerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging, *Fertil Steril* 77:357, 2002.
74. American College of Obstetrics and Gynecologists. Female age-related fertility decline. Committee Opinion No. 589. *Fertil Steril.* 2014;101(3):633-4.

75. Maroulis GB. Effect of aging on fertility and pregnancy, *Semin Reprod Endocrinol* 9:165, 1991.
76. van Noord-Zaadstra BM, Looman CW, Alsbach H. Delaying child-bearing: effect of age on fecundity and outcome of pregnancy, *Br Med J* 302:1361, 1991.
77. Kasapoglu I, Ata B, Uyaniklar O. Endometrioma-related reduction in ovarian reserve (ERROR): a prospective longitudinal study, *Fertil Steril* 2018 Jul 1;110(1):122-127.
78. Tsakos E, Tolikas A, Daniilidis A. Predictive value of anti-mullerian hormone, follicle-stimulating hormone and antral follicle count on the outcome of ovarian stimulation in women following GnRH-antagonist protocol for IVF/ET. *Arch Gynecol Obstet.* 2014;290(6):1249-53.
79. Irez T, Ocal P, Guralp O. Different serum anti-Mullerian hormone concentrations are associated with oocyte quality, embryo development parameters and IVF-ICSI outcomes. *Arch Gynecol Obstet.* 2011;284(5):1295-301
80. Sunkara SK, Rittenberg V, Raine-Fenning N. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Hum Reprod.* 2011 Jul;26(7):1768-74.
81. La Marca A, Papaleo E, Grisendi V. Development of a nomogram based on markers of ovarian reserve for the individualisation of the follicle-stimulating hormone starting dose in in vitro fertilisation cycles. *BJOG.* 2012;119(10):1171-9.
82. Herrington J, Carter-Su C. Signaling pathways activated by the growth hormone receptor, *Trends Endocrinol Metab* 12:252, 200
83. Toogood AA, Nass RM, Pezzoli SS. Preservation of growth hormone pulsatility despite pituitary pathology, surgery, and irradiation, *J Clin Endocrinol Metab* 82:2215, 1997.

84. Giustina A, Veldhuis JD. Pathophysiology of the neuroregulation of growth hormone secretion in experimental animals and the human, *Endocr Rev* 19:717, 1998.
85. Hugh S. Taylor, Pal L, Seli E. "Speroff's Clinical Gynecologic Endocrinology and Fertility, Female Fertility , Normal and Abnormal Growth and Pubertal Development, (ed.) 2019, pg 749
86. Müller EE, Locatelli V, Cocchi D. Neuroendocrine control of growth hormone secretion. *Physiol Rev.* 1999 Apr;79(2):511-607.
87. Kojima M, Hosoda H, Date Y. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach, *Nature* 402:656, 1999.
88. Unger RH. The hyperleptinemia of obesity-regulator of caloric surpluses, *Cell* 117:145, 2004
89. De Meyts P, Whittaker J. Structural biology of insulin and IGF1 receptors: implications for drug design, *Nat Rev Drug Discov* 1:769, 2002.
90. Giudice LC. Insulin-like growth factors and ovarian follicular development, *Endocr Rev* 13:641, 1992.
91. Herrington J, Carter-Su C. Signaling pathways activated by the growth hormone receptor, *Trends Endocrinol Metab* 12:252, 2001
92. Juul A. Serum levels of insulin-like growth factor I and its binding proteins in health and disease, *Growth Horm IGF Res* 13:113, 2003.
93. El-Roeiy A, Chen X, Roberts VJ. Expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-II and the IGF-I, IGF-II, and insulin receptor genes and localization of the gene products in the human ovary, *J Clin Endocrinol Metab* 77:1411, 1993.
94. Voutilainen R, Franks S, Mason HD. Expression of insulin-like growth factor (IGF), IGF-binding protein, and IGF receptor messenger ribonucleic acids in normal and polycystic ovaries, *J Clin Endocrinol Metab* 81:1003, 1996.

95. El-Roeiy A, Chen X, Roberts VJ. Expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-II and the IGF-I, IGF-II, and insulin receptor genes and localization of the gene products in the human ovary, *J Clin Endocrinol Metab* 77:1411, 1993.
96. İstanbul Sistem Tıp Laboratuvarı. Küçükbakkalköy Işıklar Caddesi No: 5 Ataşehir / İSTANBUL, <https://www.sistemtip.com.tr/index.aspx>.
97. Immulite 2000; Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL, USA
98. Esteves SC, Roque M, Bedoschi GM. Defining Low Prognosis Patients Undergoing Assisted Reproductive Technology: POSEIDON Criteria—The Why. *Front. Endocrinol.*, 2018.
99. Steiner AZ, Pritchard D, Stanczyk FZ. Association Between Biomarkers of Ovarian Reserve and Infertility Among Older Women of Reproductive Age. *JAMA*. 2017;318(14):1367-1376.
100. Gnoth C, Schuring AN, Friol K. Relevance of anti-Mullerian hormone measurement in a routine IVF program, *Hum Reprod* 23:1359, 2008
101. Penarrubia J, Fabregues F, Manau D. Basal and stimulation day 5 anti-Mullerian hormone serum concentrations as predictors of ovarian response and pregnancy in assisted reproductive technology cycles stimulated with gonadotropin-releasing hormone agonist–gonadotropin treatment, *Hum Reprod* 20:915, 2005.
102. Scacchi M, Pincelli AI, Cavagnini F. Growth hormone in obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1999 Mar;23(3):260-71.
103. Luque RM, Kineman RD. Impact of obesity on the growth hormone axis: evidence for a direct inhibitory effect of hyperinsulinemia on pituitary function. *Endocrinology*. 2006 Jun;147(6):2754-63.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yetişmemde büyük emeği geçen, cerrahi bilgi ve becerilerimin gelişmesinde katkıları olan, beni mesleğe özendiren başta tez danışmanım ve değerli hocam **Prof. Dr. Gürkan UNCU** 'ya, kıymetli hocalarım **Doç. Dr. Kemal ÖZERKAN**, **Doç. Dr. Bilge ÇETİNKAYA DEMİR** ve **Prof. Dr. Hakan OZAN**'a,

Asistanlık sürecim boyunca cerrahi tecrübelerinden ve bilgilerinden yararlandığım, sabırla bana mesleği öğreten, her zaman örnek aldığım sevgili ağabeyim **Op. Dr. Adnan ORHAN** ve sevgili ablam **Doç. Dr. Işıl KASAPOĞLU** 'na,

Eğitim hayatımın ilk günlerinden itibaren bilgilerini ve desteklerini esirgemeyen, mesleki hayatımın ilklerini yaşatan sevgili kıdemlilerim **Op. Dr. Kiper ASLAN**, **Op. Dr. Pınar TÜRK**, **Op. Dr. İlkay ORAL**, **Op. Dr. Elif ASLAN**, **Op. Dr. Tuğçe GÖKALP** 'e,

Benden destek ve yardımlarını asla eksik etmeyen, iyi ki varlar dediğim en büyük manevi destekçilerim başta **Op. Dr. İlknur S. KINGİR** ve **Dr. Bahadır KOŞAN** olmak üzere eş kıdemlerim **Dr. Hamza Furkan ŞEN**, **Dr. Sevdener MERT**, asistanlık serüveninde can yoldaşım olan **Dr. Ebru SÜER** ve **Dr. Özge ALBAYRAK** 'a ve tüm asistan arkadaşlarıma,

Çok değerli sorumlu hemşirelerim **Pervin MUTLU**, **Gökçen ALADAĞ**, **Şengül KAHRAMAN**, **Seher ÖZDOĞAN**, **Tülay KARATAŞ** ve **Neziha KARTAL** 'a ve birlikte keyifle çalıştığımız tüm ebe, hemşire ve personel arkadaşlarıma,

En önemlisi de bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan, sevgi ve desteğini her an hissettiren sevgili **ailem** ve her koşulda sabırla yanımda olan değerli eşim **Gökhan DÜZOK** 'a sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Nergis DÜZOK

BURSA – 2019