



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

**GNRH ANTAGONİST PROTOKOL UYGULANAN
HASTALARDA OVULASYON TETİĞİNDE HCG
KULLANIMI İLE HCG VE GNRH AGONİSTİ
UYGULAMASININ IVF SONUÇLARINA (TOPLANAN
OOSİT SAYISI, MII SAYISI, FERTİLİZASYON ORANI,
İMLANTASYON ORANI, CANLI DOĞUM ORANI) ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Fatma Ceren GÜNER

Antalya, 2019



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

**GNRH ANTAGONİST PROTOKOL UYGULANAN
HASTALARDA OVULASYON TETİĞİNDE HCG
KULLANIMI İLE HCG VE GNRH AGONİSTİ
UYGULAMASININ IVF SONUÇLARINA (TOPLANAN
OOSİT SAYISI, MII SAYISI, FERTİLİZASYON ORANI,
İMLANTASYON ORANI, CANLI DOĞUM ORANI) ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Fatma Ceren GÜNER

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Murat ÖZEKİNCİ

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2019

TEŞEKKÜR

Tüm uzmanlık eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen, bilimsel birikimlerinden ve tecrübelerinden yararlanma imkânı bulduğum değerli hocam bölüm başkanı sayın Prof. Dr. Selahattin KUMRU 'ya, tez danışmanı hocam sayın Doç. Dr. Murat ÖZEKİNCİ'ye, eğitimim süresince büyük emeği geçen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocalarım; Prof. Dr. Tayup ŞİMŞEK, Prof. Dr. Mehmet ŞİMŞEK, Prof. Dr. İ. İnanç MENDİLCİOĞLU, Prof. Dr. Abdullah BOZTOSUN, Doç. Dr. Mete ÇAĞLAR, Doç. Dr. Nasuh Utku Doğan, Doç. Dr. Mehmet Sakıncı, Doç. Dr. Şafak OLGAN, Doç. Dr. Cem Yaşar SANHAL, Dr. Öğr. Üyesi Hasan Aykut TUNCER'e, en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Asistanlığım boyunca mesai yoğunluğumu paylaşan asistan arkadaşlarıma ve tüm klinik çalışanlarına,

Anabilim Dalı sekreterimiz Gülizar Yorulmaz ELDURAN'a

Tez hazırlama sürecinde yardımlarından ve desteklerinden dolayı tüm tüp bebek ünitesi çalışanlarına,

Ve bütün bu süreç boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen çok değerli aileme,

Sonsuz teşekkürler...

Dr. Fatma Ceren GÜNER

İçindekiler

KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
TABLolar DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi.....	4
2.1.1. Öykü.....	4
2.1.2. Fizik Muayene.....	5
2.1.3. Testler.....	5
2.2. Yardımcı Üreme Teknikleri	15
2.3. IVF Endikasyonları	16
2.3.1. Tubal Faktör İnfertilitesi	16
2.3.2. Endometriozis	16
2.3.3. Erkek Faktör İnfertilitesi	17
2.3.4. Ovulasyon Bozukluğu.....	18
2.3.5. Açıklanamayan İnfertilite.....	18
2.3.6. Ovaryan yetmezlik ve azalmış over rezervi.....	18
2.3.7. Diğer endikasyonlar	19
2.4. Ovarian Stimulasyon Seçenekleri	19
2.4.1. Doğal Siklus.....	19
2.4.2. Klomifen Sitrat.....	19
2.4.3. Uzun etkili GnRH agonistleri ile yapılan down regülasyon sonrasında eksojen gonadotropin ile uyarımı- Uzun (long) protokoller.....	20
2.4.4. GnRH agonisti ve eksojen gonadotropinlerle ardışık olarak yapılan- Kısa veya flare protokoller	21
2.4.5. GnRH antagonisti eklenerek yapılan eksojen gonadotropin uyarısı	22

2.5.	KOH Monitorizasyonu	23
2.6.	Ovulasyonun Tetiklenmesi.....	24
2.7.	Oosit Toplanması (OPU).....	24
2.8.	Fertilizasyon	26
2.9.	İntrasitoplasmik sperm injeksiyonu (ICSI)	27
2.10.	Embriyo Transferi.....	27
2.11.	YÜT Gebelik Riskleri.....	28
2.12.	Over Hiperstimulasyon Sendromu (OHSS).....	29
3.	METOD	32
4.	BULGULAR.....	35
5.	TARTIŞMA	43
6.	SONUÇ	47
7.	ÖZET	48
8.	ABSTRACT.....	50
9.	KAYNAKLAR	52
10.	EKLER.....	67
	Ek-1: Etik Kurul Onayı	67

KISALTMALAR DİZİNİ

AFS	: Antral folikül sayısı
ARDS	: Akut Respiratuar distress sendromu
AMH	: Antimüllerian Hormon
BMI	: Vücut kitle indeksi
CC	: Klomifen sitrat
E2	: Estradiol
ET	: Embriyo transferi
FSH	: Folikül stimülan hormon
GV	: Germinal vezikül
GIFT	: Gametin intrafallopian tüpe transferi
GnRH	: Gonodotropin releasing hormone
GnRH _a	: Gonodotropin releasing hormone agonisti
GnRH-ant	: Gonodotropin releasing hormone agonisti
hCG	: Human koryonik gonadotropin
hMG	: Human Menopozal Gonadotropin
HSG	: Histerosalpingografi
IM	: İntramusküler
IUI	: İntrauterin inseminasyon
ICSI	: İntra sitoplazmik sperm enjeksiyonu
IU	: İnternasyonal ünite

IVF	: In vitro fertilizasyon
KOS	: Kontrollü ovaryan stimülasyon
LH	: Lüteinizan hormon
MI	: Metafaz I
MII	: Metafaz II
MESA	: Mikrocerrahi epididimal sperm aspirasyonu
OHSS	: Over hiperstimulasyon sendromu
OPU	: Oosit toplanması
PESA	: Perkütan epididimal sperm aspirasyonu
PGT	: Preimplantasyon genetik tanı
PKO	: Polikistik over
PKOS	: Polikistik over sendromu
PSR	: Birincil cinsiyet oranı
SSR	: İkincil cinsiyet oranı
TGF- β	: Transforming growth factor beta
TSH	: Tiroid Stimulan Hormon
TESA	: Testiküler sperm aspirasyonu
TESE	: Testiküler sperm ekstraksiyonu
TV-USG	: Transvajinal ultrason
USG	: Ultrasonografi
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
WHO	: World Health Organization
YÜT	: Yardımcı üreme teknikleri
ZIFT	: Zigotun intrafallopian tüpe transferi

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. Semen Analizi Referans Değerleri	6
Tablo 2.2. Semen kalitesine ilişkin terminoloji	7
Tablo 2.3. GnRH analogları ve doz şeması	22
Tablo 4.1. HCG ve Dual Trigger Grubunun Karakteristik Özellikleri.....	37
Tablo 4.2. HCG ve Dual Trigger Gruplarında İnfertilite Nedenleri.....	38
Tablo 4.3. HCG ve Dual Trigger Grubunun Ovaryan Stimülasyon, Özellikleri.....	39
Tablo 4.4. HCG ve Dual Grubunun Yumurta Toplama, Fertilizasyon ve Embriyo Özellikleri	40
Tablo 4.5. HCG ve Dual Trigger Grubunun ICSI-ET Sonuçları.....	41
Tablo 4.6. HCG ve Dual Grubunda Canlı Doğum Yapan Hastaların Gebelik Sonuçları.....	42
Tablo 4.7. HCG ve Dual grubunda Transfer Yapılmama Nedenleri.....	43

1. GİRİŞ

Oosit maturasyonu, oositin ilk mayotik bölünmeyi tamamlayıp metafaz II' ye ilerlediği süreçtir. Oositler mayoz I' in profazında, granuloza hücreleriyle çevrili şekilde luteinize edici hormon (LH) surge'ünün mayozu yeniden başlatmasını tetikleyene kadar beklemeye devam eder. Granuloza hücreleri LH reseptörleri eksprese eder. LH granuloza hücrelerinden epidermal büyüme faktörü benzeri proteinlerin ekspresyonunu arttırarak mayotik maturasyonu uyarır ve sonucunda oosit maturasyonu tetiklenir (1).

İnsan koryonik gonadotropin, folikül stimüle edici hormon (FSH), LH ve tiroid stimüle eden hormon (TSH) aynı glikoprotein ailesine aittir. Bu gruba ait üyelerin α -subünitesi aynıdır, β -subüniteleri farklıdır (2).

IVF tedavisi sırasında, HCG granuloza hücrelerinin luteinizasyonunu, son oosit olgunlaşmasını ve mayozun yeniden başlatılmasını indüklemek için LH surge'ü yerine kullanılır (3).

Gonadotropin releasing hormon (GnRH) analoglarının tetiklemede kullanılması ilk kez 1990 yılında ileri sürüldü (4). Yüksek ovaryan yanıtı hastalarda yapılan çalışmalarda, geleneksel hCG tetiğine kıyasla GnRH agonist tetikleme yöntemi ile OHSS riskinde azalma olduğu vurgulanmıştır (5). Yüksek ovaryan yanıtı hastalarda düşük OHSS riskine ek olarak, implantasyon ve gebelikte potansiyel olarak olumlu bir etki GnRH'nin ekstrapitüiter etkileri ile ilişkilidir (6,7).

Fizyolojik menstrüel siklüste ise hem LH surge'ü hem de FSH surge'ü gerçekleşmektedir. Ancak, konvansiyonel olarak HCG'nin tetiklemede kullanımı FSH surge'ünü genellikle tetiklememektedir (5). HCG'ye gonadotropin releasing hormon agonistinin eklenmesi hem LH hem de FSH surge'ünü uyararak daha fizyolojik bir etkisi olması sebebiyle oosit kalitesini ve implantasyonu arttırabilir.

Bu çalışmada amaç kontrollü ovaryan stimülasyon (KOS) için antagone tedavi protokolü uygulanmış hastalarda; dual trigger ile standart trigger uygulamasının; elde edilen oosit sayıları, MII oosit sayıları, fertilizasyon oranı, elde edilen toplam

embriyo sayıları, transfer edilen embriyo sayıları, klinik gebelik varlığı ve canlı doğum sayıları karşılaştırılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

İnfertilite, en az 1 yıl boyunca korunmasız düzenli ilişkiye rağmen gebelik oluşmaması olarak tanımlanmaktadır. Yaşla birlikte fertilitede azalma meydana gelir. Tedaviye geç kalınmaması amaçlanarak 35 yaş üstü kadınlarda infertilite tanım ve tetkikleri için süre 6 ay olarak belirlenmiştir (8).

Normal fertil çiftlerin %82'sinde 1 yıl içerisinde gebelik gerçekleşecektir (9). Çiftlerin %5-15'inde ise gebelik 12-24 aylık süreçte oluşmaktadır. 24 aylık dönemin sonunda çiftlerin %95'inde gebelik elde edilecektir (10).

Herhangi bir gebelik öyküsü olmama durumu primer infertilite olarak tanımlanırken, en az bir gebelik öyküsü varlığındaki durum, canlı doğumla sonuçlansın ya da sonuçlanmasın, sekonder infertilite olarak tanımlanmaktadır. Primer infertilite sıklığına yaş gruplarına göre bakacak olursak; 15-34 yaş arasında %7.3-9.1, 35-39 yaş arası %25, 40-44 yaş arasında %30 olarak görülmektedir (11).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO); gelişmiş ülkelerde infertilite nedenlerinin %37'sini kadın kaynaklı, %8'ini erkek kaynaklı, %35'ini hem kadın hem erkek kaynaklı olarak raporlamıştır (12). Kadın infertilitesinin %81'ini oluşturan en yaygın sebepler;

- %25 ovulatuvar bozukluklar,
- %15 endometriozis,
- %12 pelvik adezyonlar,
- %11 tubal blokaj,
- %11 diğer tubal anormallikler,
- %7 hiperprolaktinemi olarak karşımıza çıkmaktadır.

Fekundabilite bir menstrual siklusun gebelikle sonuçlanma olasılığı iken fekundite bir menstrual siklusun canlı doğumla sonuçlanması olarak tanımlanır. İnsanlarda bir siklusta fekundite oranı %20'dir (13).

2.1. İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi

İnfertilite çiftlerin beraber değerlendirilmesi gerektiği klinik bir durumdur. Değerlendirmeye diğer tüm tıbbi durumlarda olduğu gibi öykü ve fizik muayene ile başlanılır.

2.1.1. Öykü

İnfertilite değerlendirmesinde tanıya giden en önemli basamaktır. Bu sebeple detaylı sorgulama infertilite sebebi hakkında bilgi verebilirken sonraki tetkik açısından da yol gösterici olabilmektedir. Çiftin infertilite süresi ve önceki tedaviler, ilişki sıklığı, önceden çocuk varlığı, kronik hastalık, kullanılan ilaçlar, tütün, alkol ve diğer madde kullanımını sorgulanmalıdır.

Kadın hastanın anamnezinde; yaş, galaktore, hirşutizm, akne, alopesi, sıcak basması, yeme bozukluğu, sigara alkol kullanımı, tiroid hastalığı sorgulanmalıdır. Menstruasyon durumu ovulasyonu gösterebildiği için; siklüs özellikleri, dismenore varlığı, disparoni, intermenstrüel kanama ya da lekelenme not edilmelidir. Geçmişteki tıbbi ve cerrahi problemler anatomik ya da ovaryan rezervi etkileyebileceğinden ilk başvuruda mutlaka değerlendirilmelidir. Ailede erken menapoz ya da mental retardasyon, doğumsal anomali varlığı kromozom anomalisi ya da genetik mutasyon düşündüreceğinden önemlidir.

Erkek hastaların anamnezinde; jinekomasti, seksüel geçişli hastalıklar, kriptorşidizm, kabakulak orşiti, tüberküloz, inguinal herni onarımı, vazektomi öyküsü, libido kaybı, koitus sıklığı ve testiküler travma öyküsü mutlaka sorgulanmalıdır.

2.1.2. Fizik Muayene

Çiftin fizik muayenesinde VKI hesaplanmalıdır. Kadınlarda obezite menstrüel bozukluklar, anovulasyon, siklus başına gebelik ve doğum oranlarında düşme, artmış abortus oranı, infertilite tedavilerinde yetersizlikle ilişkilidir. Erkeklerde artmış VKI, azalmış sperm konsantrasyonu ve motilitesi ile ilişkilidir. Tiroid bezinde büyüme ve nodularite, hiperandrojenizm bulguları, galaktore, pelvik hassasiyet veya kitle, vaginal veya servikal anormallikler, adneksler, douglas boşluğunda kitle, nodularite varlığı, hassasiyet değerlendirilmelidir (14).

Muayenede ultrasonografi (USG) ile, uterus boyutu ve pozisyonu, myometriumun homojen ya da heterojen görünümü, uterin anomalilerin değerlendirilmesi, varsa myomların lokalizasyonu ve boyutu, endometrial kalınlık, kavite içindeki herhangi bir patoloji varlığı; overlerin ekojenitesi ve stromal yapısı, siklus dönemine göre dominant follikül veya korpus luteum varlığı, ovaryan ya da paraovaryan solid-kistik kitle varlığı tespit edilebilmektedir (15,16).

2.1.3. Testler

2.1.3.1.Spermiyogram

Spermiyogram infertilite değerlendirmesinde temel testlerdendir. Erkek infertilitesi çoğunlukla anormal sperm analizi ile ortaya çıkar. Semen örneği en az 2 gün perhiz sonrası verilmelidir. Değerlendirme için perhiz süresi 7 günü geçmemelidir. Daha kısa perhiz süresinde semen hacim ve sperm sayısı azalabilir, motilite artar ancak morfoloji değişmez. Daha uzun perhiz süresinde semen hacim ve sperm sayısı artar ancak morfolojik olarak anormal sperm sayısı da artış gösterir. Semen örneği en fazla 1 saat içerisinde incelenmelidir. Anormal sonuçlarla karşılaşıldığında semen analizini tekrarlamak gerekmektedir. Semen analizinde Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2010 referans değerleri baz alınmaktadır. Standart analizde bakılan parametreler; hacim, pH, viskozite, sperm konsantrasyonu, total sperm sayısı, total motilite yüzdesi, normal morfoloji,

vitalite, yuvarlak hücre, sperm aglütinasyonu, total lökosit sayımı ve immatür germ hücre sayımıdır (17)

Tablo 2.1. Semen Analizi Referans Değerleri (WHO 2010) (18)

Parametre	Alt referans limiti
Semen hacmi (ml)	1,5 (1,4–1,7)
Toplam sperm sayısı (10 ⁶ /ejakülat)	39 (33–46)
Sperm konsantrasyonu (10 ⁶ / ml)	15 (12–16)
Toplam motilite (%)	40 (38–42)
İleriye doğru hareketlilik (%)	32 (31–34)
Vitalite (canlı sperm, %)	58 (55–63)
Sperm morfolojisi (normal formlar, %)	4 (3,0–4,0)
Uzlaşılabilir diğer eşik değerler	
pH	≥ 7,2
Peroksidaz pozitif lökositler (10 ⁶ /ml)	< 1,0
MAR testi (partiküllere bağlı hareketli sperm, %)	< 50
İmmunobead test (boncukların bağlandığı hareketli sperm, %)	< 50
Seminal çinko (µmol/ejakülat)	≥ 2,4
Seminal fruktoz (µmol/ejakülat)	≥ 13
Seminal nötral glikozidaz (mU/ejakülat)	≥ 20

Semenin karakteristik özelliklerinin alt referans limitleri (5. yüzdeleri ve % 95 güven aralıkları)

Tablo 2.2. Semen kalitesine ilişkin terminoloji (18)

Aspermi	Semen yok (retrograd ejakülasyon var veya yok)
Astenozoospermi	İleri hareketli spermelerin (PR) yüzdesi alt referans limitin altında
Astenoteratozoospermi	Hem ileri hareketli spermelerin (PR) hem de morfolojik olarak normal spermelerin yüzdesi alt referans limitlerinden düşük
Azoospermi	Ejakülatta hiç sperm yok (uygulanan değerlendirme yönteminin kantitatif analiz limitine göre)
Kriptoospermi	Taze preparatlarda sperm olmamasına rağmen santrifüjlenmiş pellette gözlenir
Hemospermi (hematospermi)	Ejakülatta eritrositlerin varlığı
Lökospermi (lökositospermi, piyospermi)	Ejakülatta eşik değer üstünde lökosit varlığı
Nekrozoospermi	Ejakülatta düşük yüzdede canlı ve yüksek yüzdede cansız spermeler
Normozoospermi	Alt referans limitlerine eşit veya yüksek toplam sperm sayısı (veya raporlanan sonuca göre, konsantrasyonu)* , ileriye doğru hareketli (PR) ve morfolojik olarak normal spermatozoa yüzdeleri
Oligoastenozoospermi	Alt referans limitlerinden düşük toplam sperm sayısı (veya raporlanan sonuca göre, konsantrasyonu)* ve ileri hareketli spermatozoa yüzdesi
Oligostenoteratozoospermi	Alt referans limitlerinden düşük toplam sperm sayısı (veya raporlanan sonuca göre, konsantrasyonu)* , hem ileri hareketli (PR) hem de morfolojik olarak normal spermelerin yüzdeleri
Oligoteratozoospermi	Alt referans limitlerinden düşük toplam sperm sayısı (veya raporlanan sonuca göre, konsantrasyonu)* ve morfolojik olarak normal spermelerin yüzdesi
Oligozoospermi	Alt referans limitinden düşük toplam sperm sayısı (veya raporlanan sonuca göre, konsantrasyonu)*
Teratozoospermi	Alt referans limitinden düşük yüzdede morfolojik olarak normal spermeler

*Konsantrasyona göre daha öncelikli olduğundan her zaman toplam sperm sayısı tercih edilmelidir

2.1.3.2.Over Rezerv Testleri

Over rezerv testleri ile amaç risk altındaki kişilerin tespit edilmesidir. Doğurganlığı öngörmek ve infertil çiftlerde başarılı tedavi olasılığı ile ilgili bizlere prognostik bilgi sağlar. Çiftlere IVF maliyeti, riskleri ile ilgili danışmanlık verilirken; testler aracılığıyla öngörülen prognostik değer önem kazanmaktadır. Bu testlerle folikül havuzunun büyüklüğü biyokimyasal (FSH, östradiol, inhibin B, AMH, klomfen sitrat testi) ve ultrasonografik (antral folikül sayısı, over hacmi) olarak tespit edilmeye çalışılır.

Bazal FSH, Östradiol düzeyi

Yükselen FSH, üremeye ilgili yaşlanmayı ortaya koyan en önemli göstergelerden biridir. Siklus sırasında belirgin olarak değişkenlik gösterdiği için,erken foliküler fazda, siklusun 2-4. günlerinde ölçülmesi önerilmektedir. 10 IU/L üzerinde FSH düzeyi hastanın stimülasyona zayıf yanıt vereceğini göstermektedir.

Bazal serum östradiol düzeyinin tek başına over rezerv testi olarak değeri düşüktür. Bazal FSH normal, östradiol seviyesi yüksekse (> 60-80 pg/mL), stimülasyona verilecek yanıt azalabilmekte ve gebelik elde etme şansıda azalmaktadır (13). FSH ve östradiolün ikisi de yükselmiş ise stimülasyona cevap çok zayıf olabilir.

Klomifen sitrat challenge test (CCCT)

Siklusun bazal ve uyarılmış durumlarda endokrin değişkenlerini ölçen, over rezervi için daha duyarlı, dinamik bir testtir. 3. günü bazal FSH ölçümünü takiben 5. ve 9. günleri arasında klomifen sitrat 100 mg/gün kullanılır ve siklusun 10. gününde FSH ölçümü yapılır. Azalmış over rezervi olan hastalarda daha az sayıda folikül kohorta gireceğinden östrojen ve inhibin B'nin üretimi azalacak, klomifenin indüklediği FSH üzerine daha az baskılayıcı etki gösterecektir. Sonuç olarak bu durum abartılı yükselmiş 10. gün FSH düzeyi ile karşımıza çıkacaktır

(13). Siklusun 10. günü FSH değeri 3.gün FSH değerine göre yüksek sensitivite ve düşük spesifisiteye sahiptir (19).

İnhibin B

İnhibin B, Transforming Growth Factor- β (TGF- β) ailesine mensup, glikoprotein yapısında hormondur (20). Foliküler faz sırasında küçük antral foliküllerin granüloza hücrelerinden salgılanmaktadır. Hipofizer düzeyde FSH salınımını inhibe eder. FSH ve östradiol gibi, serum inhibin B düzeyi siklus boyunca dalgalanmalar göstermesi sebebiyle erken foliküler fazda ölçülmelidir. İnhibin B düzeyi eksojen GnRH ve FSH stimülasyonu ile de değişmektedir. Seifer ve ark.'nın yaptığı çalışmada bazal FSH düzeyi normal olsa bile düşük inhibin B' ye sahip hastaların over yanıtında azalma ve IVF'te kötü sonuçlar izlenmiştir. YÜT sikluslarında inhibin B düzeyi ≥ 45 pg/ml olan hastalarda östrojen düzeyi ve elde edilen oosit sayısı daha yüksek bulunmuştur. İnhibin B düzeyi düşük olanlarda ise iptal oranı 3 kat yüksek bulunmuştur (21).

Çoğu çalışmada inhibin B kötü yanıtı öngörmede düşük pozitif prediktif değere sahiptir bu nedenle; over rezerv değerlendirmede güvenilir bir test olarak kabul edilmemektedir (13).

Anti-Müllerian Hormon (AMH)

AMH, TGF- β ailesinden glikoprotein yapıda bir hormondur. Preantral ve erken antral foliküllerin granüloza hücrelerinden salgılanır, foliküller FSH'ya cevap verir hale gelene kadar (6-8 mm) salınımı devam eder (22, 23). Atretik foliküller ve teka hücrelerinden salgılanmaz. Gonadotropinlerden bağımsız salınması sebebiyle siklus içinde ve sikluslar arasında düzeyleri bakımından fark yoktur. Siklusun herhangi bir zamanında ölçülebilir ve ovaryan folikül havuzu hakkında bilgi verir. İlerleyen yaşla birlikte primordial hücre havuzunun azalmasına bağlı olarak AMH düzeyleri azalır, menopozda ölçülemeyek düzeylere iner.

AMH stimülasyona zayıf ovaryan cevabı çok iyi değerlendirirken; gebeliği öngörmede yetersizdir (13). AMH azalmış over rezervi için kullanılan bir tarama

testi iken, azalmış over rezervi için düşük riskli grupta tarama testi olarak kullanılması önerilmemektedir (13).

Antral Folikül Sayısı

Antral folikül sayısı (AFS), erken foliküler fazda transvajinal ultrasonografi ile her iki overde bulunan 2-10 mm boyutlarında antral foliküllerin toplamıdır. Histolojik olarak overdeki antral folikül sayısının kalan primordial foliküllerle orantılı olduğu bulunmuştur. AFS bu nedenle over rezervi hakkında dolaylı olarak bilgi verir (24)

AFS over rezervi ve stimülasyona cevabı belirleyen iyi bir belirteç olsa da oosit kalitesi, gebelik oluşumu ve sonuçlarını öngörme yeteneği düşüktür (25). Bu sebeple YÜT uygulamalarında tek gösterge olarak kullanılmaz.

Over Hacmi

Ovaryan volüm hesaplanmasında over çapları 3 düzlemde ölçülür. Over hacmi; uzunluk X genişlik X derinlik X 0,52 formülü kullanılarak hesaplanır ve her iki over volümünün ortalaması kullanılır. Ovaryan folikül havuzunun yaşla azalması ile over volümü azalır. Over volümünün düşük olması (<3mm³) stimülasyona zayıf cevabı belirlemede yüksek spesifiteye (%80-90) sahiptir (26) ancak gebelik elde etme şansı konusunda fikir vermemektedir. Ayrıca over hacmi ile ilgili birçok çalışma endometriyoma ve polikistik over sendromu gibi over patolojisi olan kadınlar dahil olmadığı için sonuçların genellenebilirliği sınırlıdır. Bu yüzden ovaryan rezerv değerlendirilmesinde ovaryan volüm, çok sınırlı klinik bir yararına sahiptir (13).

Kombine ovaryan rezerv testleri

Tek başına hiçbir testin %100 sensitivite ve spesifitesi yoktur. Daha yüksek güvenilirlik elde edebilmek için biyokimyasal ve görüntüleme testleri kombine edilmiş ancak; bu durum maliyeti arttırmanın yanı sıra her bir test yönteminin tek başına sağladığı prediksyon değerinden fazlasını sağlamamıştır (27).

2.1.3.3.Ovulasyonun Saptanması İçin Yapılan Testler

Ovulatuvar disfonksiyonun en sık nedeni polikistik over sendromu, obezite, aşırı kilo alımı ve kilo kaybı, ağır egzersiz, tiroit disfonksiyonu ve hiperprolaktinemidir. İnfertil çiftlerde saptanan sorunların %20'sinden ovulasyon bozuklukları sorumludur. İnfertilite araştırmasında ovulasyonun saptanması gerekmektedir. Hiçbir test ovulasyonun gerçekleştiğini tam olarak göstermemektedir. Ovulasyonun tek pozitif göstergesi ise gebeliktir (13).

Menstrüel Öykü

Anovulasyon tanısı koymakta öykü genellikle tek başına yeterlidir. Menstrüel siklusu düzenli olan kadınların çoğu ovulatuardır, adet süreleri benzer, premenstrual ve menstrual semptomlar eşlik etmektedir. Anovulatuvar kadınlarda adetler düzensiz veya seyreklerdir. Miktar ve süre açısından farklılıklar gösterir ayrıca molimina paterni göstermemektedir (13).

Bazal Vücut Isısı

Ucuz bir testdir fakat sınırlı bir güvenilirliği vardır. Ovulasyon sonrası oluşan korpus luteumdan salgılanan progesteronun termojenik etkisi temeline dayanır. 36,1-36,6°C olan normal vücut ısısı 0.2-0.5 °C artar. Siklus ortası LH (Luteinize edici hormon) yükselmesinin 12. saatinden itibaren 4 gün boyunca bazal vücut ısısı artışı sürer. Fertilitenin en yüksek olduğu dönem siklus ortası vücut ısısı artışından 7 gün önceki dönemdir. Ovulatuvar sikluslarda bifazik bazal vücut ısısı paterni görülmekte iken anovulatuvar sikluslarda monofazik patern görülür. Bazal

vücut ısısı artışından menstrüasyona kadar geçen süre luteal fazı oluşturmaktadır. Gebelik oluşmadığı durumda korpus luteumun gerilemesi ile bazal vücut ısısı düşer. Bu ölçümle luteal faz süresi hesaplanabilmektedir. Geçen sürenin 10 günün altında olması luteal faz yetmezliğini akla getirmelidir. Ovulasyon zamanını ortaya koymakta yetersiz olduğu için bazal vücut ısısı ölçümü önemini yitirmiştir (28).

Serum progesteron konsantrasyonu

Progesteron üretimi miktarı ve süresi korpus luteumun işlevini yansıtmaktadır. Serum progesteron düzeyi ölçümü, uygun zamanda yapılırsa, en basit ve güvenilir ovulasyon göstergelerindedir. Siklusun 21. günü serum konsantrasyonuna bakılması siklusları yaklaşık 28 gün süren kadınlarda bir seçenektir, daha uzun ya da kısa siklusu olan kadınlarda yanıltıcı olabilir. Normal ovulatuvar siklus 25-35 gün sürmektedir. İdeal olan ölçüm; beklenen adet tarihinden bir hafta önce bakılmasıdır. Progesteronun 3 ng/mL altında olması anovulasyonu göstermektedir. Normal luteal faz için minimum serum progesteron düzeyi konusunda konsensus yoktur fakat luteal faz ortasında 10 ng/mL'den fazla olması genellikle kabul edilen standarttır (29).

Üriner LH Atılımı

Siklus ortasında LH tepe değerine ulaşır başlangıcından bitişine bu dönem 48-50 saat sürer. LH'nın yarı ömrü kısadır idrarla hızla atılır. Bu dönemde idrarda LH tespit edilen kitler kullanılarak üriner LH atılımı tespit edilebilir. İlk pozitif test gerekli bilgiyi vermektedir; teste devam etmenin değeri yoktur. Siklus uzunluğuna göre beklenen LH yükselmesinden 48-72 saat önce testleri yapılmaya başlanır ve test pozitif çıkınca 48 saat süresince gebelik şansı yüksektir. Test sonuçları alınan sıvı miktarına ve günün saatine duyarlıdır. Sıvı kısıtlamasına gerek yoktur ancak testten önce fazla miktarda sıvı alımından kaçınması önerilmelidir. Bu kitlerin gün ortasında veya akşam yapılması önerilmektedir (13).

Endometrial Biyopsi

Progesteronun endometriumda oluşturduğu histolojik değişikliklere bakılarak; ovulasyon ve luteal faz değerlendirmesinde kullanılabilir. Endometrial biyopsi yapılacak ay çiftlerin bariyer yöntemiyle korunması gerekmektedir. Siklusun geç döneminde, menstruasyon tarihinden birkaç gün önce, örnek alınır ve endometrial günleme yapılır. Histoloji ile siklus günü arasında 2 günden fazla fark olması, luteal faz yetmezliğini göstermede, geçmişte altın standart test olarak kullanılmıştır. Günümüzde invaziv bir işlem olması nedeniyle terk edilmiştir, kullanım endikasyonları; endometrit veya hiperplazi şüphesi ile sınırlıdır (30).

Transvajinal Ultrasonografi

Ovulasyonun oluştuğuna pozitif bir kanıt sağlamamakla birlikte, ovulasyon zamanının en kesin tahminini sağlamaktadır. Transvajinal ultrasonografi foliküler faz boyunca seri şekilde uygulanır ve foliküllerin büyüklükleri, sayıları ve gelişimi izlenir. Ovulasyon olduktan sonra dominant folikül boyutları geriler, sınırları düzensizleşir, içerisinde ekojeniteler artar ve douglas boşluğunda serbest sıvı izlenir. Folikülometri sırasında endometrial kalınlıkta değerlendirilebilir. Endometrium ovulatuar dönemde 9-10 mm kalınlığa ulaşır. Maliyet yükünün fazla olması nedeniyle standart test olarak kullanılması etkin değildir.

2.1.3.4. Tubal açıklık ve uterin kavitenin değerlendirilmesi

Histerosalpingografi (HSG)

HSG, uterin kavitenin şeklini, uterin anomalileri ve tubal açıklığı değerlendirmek için önemli bir görüntüleme yöntemidir. Çekimde su veya yağ bazlı radyopak madde kullanılır. Yağ bazlı kontrastlarda granümatöz reaksiyon ve emboli oluşma riskinden dolayı kullanımından çekinilmektedir. HSG çekimi sırasında ağrıyı azaltmak için hastaya non-steroid anti-inflamatuar (NSAİİ) verilebilir ya da sedasyon altında işlem yapılabilir. Çekim sırasında tubal spazm yanlış tubal

oklüzyon tanısı koydurabileceğinden, antispazmolitik sonrası çekim uygulayan klinikler bulunmaktadır (31).

Serviksten uterin kavite içerisine bir kateter ile, uterus traksiyona alınarak kontrast madde verilir. Yaklaşık 10 ml kontrast madde verilmesi yeterlidir. Flurosکopi altında uterus ve tubalar değerlendirilir. Normal uterin kavite, simetrik, üçgen şeklinde, kornual bölgede en geniş ve konturları düz bir yapıdır (13). Uterin kavitedeki miyomlar, polipler, sineşiler, tubal oklüzyon ve müllerian defektler HSG ile görülebilir. Ayrıca mekanik etkisi ile tubalar açılabilir. HSG sonrası gebelik oranı artmaktadır (32-34). Enfeksiyon riskini en aza indirmek, kavite içindeki kan ve pıhtının görüntüyü bozmaması ve gebelik ihtimalini de elimine etmek için erken foliküler fazda (adet bitiminden sonraki 2-5.günlerde) yapılması gerekmektedir.

Salin infüzyon sonografi (Histerosonografi)

Radyasyon maruziyeti olmadan ofis şartlarında yapılabilen bir işlemdir. Uterin kavite içerisine steril serum fizyolojik verilerek kavite duvarlarının birbirinden ayrılması sağlanır, eş zamanlı olarak ultrasonografi eşliğinde kavitedeki ekojeniteler (endometrial polip, submuköz myom, sineşiler, uterin anomaliler) değerlendirilir.

Histeroskopi

Histeroskopi, fertilitiyi olumsuz etkileyen sebeplerin hem tanı hem tedavisinde altın standart yöntemdir (35). HSG ile saptanan intrauterin patolojilerin tedavisinde kullanılır. Ofis şartlarında uygulanabilmesi ve kaviteyi direkt vizüalize ediyor olması histeroskopinin avantajlarıdır.

Laparoskopi

İnfertilite nedeniyle tetkik edilen hastaya rutin olarak laparoskopi ya da histeroskopi yapılması gerekmemektedir. İntraabdominal patoloji şüphesi varsa

laparoskopi tanı ve tedavi imkanı sağlamaktadır. İşlem menstruasyon bitiminde planlanır böylece aynı seansta histeroskopi ile intrauterin değerlendirme de yapılabilir. Uterusun boyutları, overler, tuba over ilişkisi, tüm peritoneal yüzeyler laparoskopi ile gözlemlenebilir. Adezyonlar, endometriyotik odaklar, hidrosalpinks cerrahi olarak tedavi edilebilir. Servikal yoldan verilen metilen mavisi ile tubaların durumu değerlendirilebilir. Laparoskopinin dezavantajları ise invaziv olması, hastanede yatış gerektirmesi, enfeksiyon riski, mesane, barsak ve damar yaralanma riski ve maliyeti yüksek bir işlem olmasıdır (36).

2.2. Yardımcı Üreme Teknikleri

YÜT, oositin vücut dışındaki direk manipülasyonlarını içeren tüm teknikleri kapsar. IVF işlemi, gonadotropinlerin verilmesi ile yapılan kontrollü over stimülasyonunun ardından ultrasonografi eşliğinde oosit toplama işleminin yapılmasını, laboratuvar ortamında fertilizasyonunu ve oluşan embriyoların uterus içine transservikal olarak transferini içeren YÜT'ten biridir. İlk IVF gebeliği 1976 yılında gerçekleşmiş, ilk sağlıklı doğum 1978 yılında meydana gelmiştir (37). Son yıllarda YÜT yaygınlaşmıştır, şu an ABD ve Avrupa 'daki doğumların %1-3 ünü oluşturmaktadır. Embriyo kriyoprezervasyonu ve daha invaziv bir yöntem olan ICSI, YÜT'ün başarısını artırmıştır. Preimplantasyon genetik tanının (PGT) gelişmesi, genetik olarak anormal embriyoların tanımlanmasını ve dışlanması sağlamıştır.

Sperm elde etme tekniği ve sperm enjeksiyonu yöntemleri; mikrocerrahi epididimal sperm aspirasyonu (MESA), testiküler sperm aspirasyonu (TESA) veya testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE) ve elde edilmiş spermlerin intrasitoplazmik enjeksiyonu (ICSI), YÜT kapsamındadır (38).

YÜT'ün diğer çeşitleri; gametin fallop tüp içerisine transferi (GIFT), zigotun fallop tüp içerisine transferi (ZIFT) veya tubal embriyo transferidir (TET). Geçmiş yıllarda kullanılmış bu invaziv tetkikler günümüzde terk edilmiştir.

2.3. IVF Endikasyonları

IVF ilk olarak tubal hastalığı olanlar için planlanmıştır. Günümüzde her türlü infertilite sebebi durumunda kullanılmaktadır. IVF endikasyonları;

- Tubal faktör infertilitesi
- Endometriozis
- Erkek faktör infertilitesi
- Ovulasyon bozukluğu
- Açıklanamayan infertilite
- Ovaryan yetmezlik ve azalmış over rezervi
- Diğer endikasyonlar (radyoterapi veya kemoterapi planlanan hastalar, kromozomal veya genetik hastalık varlığı)

2.3.1. Tubal Faktör İnfertilitesi

Tubaların bilateral tıkanıklıkları, motilitelerini engelleyen yapışıklıkları tubal fonksiyonları bozar. Tubal faktör infertilitesinin en sık nedeni klamidya ve gonoreenin yol açtığı pelvik inflamatuvar hastalıktır. Endometriozis, geçirilmiş batın içi operasyonlar ve pelvik tüberküloz diğer nedenler arasında sayılabilir. IVF tekniği ortaya çıkmadan önce düzeltilemez derecede tubal hasarı olan kadınlar infertil kabul edilirdi. YÜT'e başvuran hastaların %9'u tubal faktöre sahiptir (39). Tubal faktörün değerlendirmesinde ilk tercih edilen tanı yöntemi HSG'dir. Tanının HSG ile net olmadığı durumlarda laparoskopi daha net tanı imkanı sağlar.

2.3.2. Endometriozis

Endometriozis Pelvik adezyonlara sekonder bozulmuş anatomi, endometriomanın yol açtığı ovaryan doku hasarı, artan sitokin ve büyüme faktörlerinin fertilizasyon

ve implantasyonu etkilemesi endometriozisin infertilite mekanizmaları olarak sayılabilir. IVF ile tubal anatomik hasarın üstesinden gelinebilmektedir ancak diğer olumsuz etkilerine yapılabilecek ek bir müdahale yoktur (38). İnfertil kadınların %20-40'ında ise endometriozis mevcuttur, hastalığın yaygınlığı arttıkça da fertilitte olumsuz yönde etkilenir (38).

İleri evre endometriozisi olan kadınlarda tedavi seçenekleri konservatif cerrahi ve IVF'i içermektedir. Asemptomatik infertil kadınlar direkt olarak IVF'e yönlendirilebilir. Eğer hastanın ciddi semptomları varsa cerrahi daha iyi bir seçenek olabilir. Vaka serilerinden elde edilen sonuçlarda endometriyomalı kadınlarda cerrahi sonrası kümülatif gebelik oranları %50 olarak bildirilmiştir (38). Bilateral endometrioma cerrahisi geçiren hastaların %2,5'inde ovaryan yetmezlik oluşabilir bu sebeple cerrahi seçilmiş hasta grubunda çok dikkatli davranılmalı, overin damarlarına ve fazla doku çıkarmamaya özen gösterilmelidir (40).

Minimal veya hafif endometriozisi olduğu bilinen veya şüphelenilen asemptomatik kadınlarda tedavi seçenekleri; bekleme tedavisini, cerrahi tedaviyi, klomifen veya gonadotropinle ampirik tedaviyi ve IUI/ IVF'i içerir. İleri yaş kadınlarda, başka infertilite etkeni varsa ve diğer tedavi seçeneklerinin tükendiği durumlarda IVF genellikle en iyi tedavi seçeneğidir (38).

2.3.3. Erkek Faktör İnfertilitesi

Erkek infertilitesi, infertil çiftlerin %20'sinde tek nedendir, %20-40 ek faktör olarak bulunur (41,42). Erkeklerde infertilite insidansı %6'dır bunun da %90'ında sebep bozulmuş spermatogenezdir (43). Spermatogenez mikroskopik olarak değerlendirilir ve sonucunda spermiyogram DSÖ parametrelerine göre yorumlanır.

Erkek infertilitesinde ortaya konulmuş patolojilerinde ancak %30'u tedavi edilebilir nedenlerdir (44). Medikal ya da cerrahi olarak semen kalitesini normale getirmek öncelikli hedefdir. Ancak bu mümkün değil ise intrauterin inseminasyon

(IUI) yapılabilir. IUI için en iyi sonuçlar total motil sperm sayısı > 10 milyon, normal morfoloji > %14 ise oluşur (strikt kriter, WHO III standartı) (45). IUI mümkün olmadığında ise ejaküattan, epididimden veya testislerden elde edilen spermeler (TESA, TESE) ile IVF veya ICSI uygulaması seçenek olabilir.

2.3.4. Ovulasyon Bozukluğu

YÜT için tedavi alan kişilerin %7'sinde ovulasyon bozukluğu (polikistik over sendromu, hipogonadotropik hipogonadizm, tiroid fonksiyon bozuklukları, hiperprolaktinem) ilk tanıdır. Bu kadınlarda ovulasyon indüksiyonu tek başına sorunu düzeltebilmektedir. Eksojen gonadotropin tedavisi alan kişilerde OHSS riskinden dolayı siklus iptali fazladır ve çoğul gebelik ihtimali mevcuttur (38).

2.3.5. Açıklanamayan İnfertilite

Detaylı bir infertilite değerlendirmesinden sonra tanımlanabilen bir etyolojinin bulunamadığı çiftlere -normal semen analizi, ovulasyonun tespiti, uterin kavitenin normal olduğu, bilateral tubal patoloji olmadığı ve over rezervinin normal olduğu durumlarda- konulan tanıdır. YÜT'e başvuran çiftlerin %12'sini bu grup oluşturmaktadır (38). Tedavi seçenekleri; ekspektan yöntem, klomifen sitrat, kontrollü ovaryan stimülasyon ile birlikte IUI ve IVF olabilir. Tüm bu seçenekler içinde IVF en etkili tedavidir. Açıklanamayan infertilitesi olan hastaların çoğunda fertilizasyon başarısızlığı gözlenmektedir. Bu da bu hastalarda IVF'te ICSI'yi daha çok tercih etmeye neden olur (38).

2.3.6. Ovaryan yetmezlik ve azalmış over rezervi

Ovaryan yetmezlik ya da azalmış over rezervi; normal yaşlanma, hastalık, çevresel faktörler veya cerrahi sonrası oluşabilir. Bu kadınlar spontan adet görseler bile FSH ≥ 15 IU/L ise elde edilen oosit sayısı daha az ve siklus iptali daha

fazla görülmektedir (46). YÜT kullanan hastaların yaklaşık %10'u azalmış over rezervine sahiptir (47).

2.3.7. Diğer endikasyonlar

Fertiliteleri tehlike altına girebilecek hastalığı olan ya da tedavi planlanan kişilerde, gelecekteki çocuk sahibi olma şanslarını korumak amacıyla, YÜT ile oosit veya embriyo elde edilip dondurularak saklanabilir (48). Genetik bozukluk ya da hastalık riski olan çiftlerin çocuklarında preimplantasyon genetik tanı yapılabilmesi için IVF uygulanabilir (38).

2.4.Ovarian Stimulasyon Seçenekleri

2.4.1. Doğal Siklus

İlk IVF gebeliği uyarılmamış doğal siklustan toplanan oositler ile elde edilmiştir. Ek ilaç kullanmadan, doğal siklusta oluşan tek oosit toplanır bu da maliyeti azaltmanın yanında çoğul gebelik riski ve OHSS riskinide ortadan kaldırır. Siklus başına gebelik elde edilme ihtimali düşüktür. En büyük dezavantajı, erken LH yükselmesine bağlı ovulasyonun olmasıdır ki bu durum siklus iptaline neden. Tedaviye GnRH antagonistinin eklenmesi, prematur LH yükselmesini önlenabilir. Buna rağmen başarı oranı düşüktür (38).

2.4.2. Klomifen Sitrata

Siklusun genellikle 3. günü 100 mg/gün dozunda başlanır, 5-8 gün boyunca devam edilir. Normal ovulatar kadınlarda 2 veya daha fazla folikül geliştirir. Doğal siklulara oranla siklus iptali oranları daha düşüktür. Toplanan oosit, transfer edilen embriyo ve gebelik oranları daha yüksektir. Eksojen HCG

enjeksiyonu folikül yeterli boyuta ulaşınca yapılır. Prematür LH yükselmesini engellemek için GnRH antagonisti tedaviye eklenebilir (38).

2.4.3. Uzun etkili GnRH agonistleri ile yapılan down regülasyon sonrasında eksojen gonadotropin ile uyarımı- Uzun (long) protokoller

Uzun etkili GnRH agonistleri, endojen hipofizer gonadotropin sekresyonunu reseptör düzeyinde down regüle eder. Böylece eksojen gonadotropin stimülasyonu sırasında gelişebilecek prematur LH artışı engellenmiş olur ve foliküller yeterince büyüyene kadar stimülasyona devam edilebilir. Bu uygulama sayesinde hastanın uyumunu zorlaştıran sık LH ölçümüne gerek kalmamaktadır. GnRH agonist tedavisi ile olguların ancak %2'sinde erken luteinizasyon olur, siklusların %20'sinin iptaline neden olan prematur luteinizasyon da engellenmiş olur (49-51). Uzun etkili GnRH agonisti tedavisinin tek dezavantajı, gonadotropin tedavisine duyarsızlık oluşturup, stimülasyon için gereken toplam gonadotropin dozunu arttırmasıdır.

GnRH agonist tedavisi, midluteal fazda (ovulasyondan 1 hafta sonra) siklus süresini 28 gün varsayarsak 21. günü başlanır. Başlangıç gününü belirlerken, en sık kullanılan ovulasyon kanıtı, serum progesteron düzeyi bakılabilir ya da siklusları düzensiz kadınlarda oral kontraseptif başlanarak kesilmesinden 1 hafta önce tedavi planlanabilir. GnRH agonist uygulaması ile depolanmış hipofizer gonadotropinler salınır (flare etki). Ancak bu artış, yeni foliküler gelişimi sağlayabilecek bir etkiye sahip değildir (52,53). GnRH agonistine sonraki siklus HCG gününe kadar devam edilir. Etkin düzey GnRH agonisti ile serum östradiol salınımı (<30-40 pg/ml) ve over folikül aktivitesi baskılanır. GnRH analoguna ara vermeden adet 3. günü tedaviye gonadotropin eklenir.

Stimülasyona cevap, seri östradiol ölçümü ve TVUSG ile takip edilir. İlk östradiol ölçümü gonadotropin uygulamasından 3-5 gün sonra yapılır ve doz yeterliliği hakkında bilgi verir. 1-3 gün arayla ölçüm tekrarlanır. Çoğunlukla 7-12 gün stimülasyon süresi gereklidir. Amaç, 17-18 mm çapında, en az iki ve 14-16 mm

çapında birkaç tane folikül sağlamak ve kohortun büyüklüğüne ve matüritesine uygun E2 seviyelerine ulaşmaktır (Örn: 14 mm'lik folikül için yaklaşık 200 pg/ml E2).

Folikül ölçümü yapılırken endometrial kalınlıkta değerlendirilmelidir. HCG uygulama günü endometrial kalınlık 8-9 mm ya da trilaminar görünümdeyse prognozun çok iyi olduğu, endometrium 6-7 mm'nin altında ise prognozun kötü olduğu bildirilmiştir (54-60). Endometrium kalınlığının çok arttığı (>14 mm) vakalarda prognozun kötü olabileceğini bildiren çalışmalar olduğu gibi (54,61) tam tersini savunan çalışmalarda mevcuttur (62,63).

GnRH agonistleri; löprolid asetat (subkutan), nafarelin asetat (intranazal), buserelin (subkutan/ intranazal), triptorelindir (subkutan). Bütün agonistlerin etkilerinin eşit olduğu bildirilmiştir (64). Leuprolid ve goserelin'in depo formları da vardır ancak gonadotropin total doz ve süresini uzatmak gerekebilir (65).

2.4.4. GnRH agonisti ve eksojen gonadotropinlerle ardışık olarak yapılan- Kısa veya flare protokoller

Tablo 2.3. GnRH analogları ve doz şeması

GnRH analogu	Kullanım yolu	Standart doz	Mini doz	Ultra-mini doz
<i>Leuprolid asetat</i>	Subkutan	2-1 mg	1-0,5 mg	0,5-0,25 mg
<i>Nafarelin asetat</i>	İntranazal	1200-600 µgr	800-400 µgr	400-200 µgr
<i>Buserelin asetat</i>	Subkutan/İntranazal	900-450 µgr	600-300 µgr	-
<i>Triptorelin</i>	Subkutan	500-100 µgr	300-100 µgr	-

Löprolid asetat (1,0 mg/gün) adetin 2-4. günü verilir daha sonra dozu 0,5 mg /gün azaltılır. Gonadotropin tedavisi adetin 3. günü başlanır (225-450 IU/gün) (38).

Folikül gelişimi takip edilerek hCG uygulama kriterlerine ulaşıncaya kadar tedaviye devam edilir.

Oral kontraseptif ile verilen mikrodoz GnRH agonist flare protokolü bir diğer kısa protokol versiyonudur. Oral kontraseptif kullanımını takiben kanamanın 3. gününde mikrodoz leuprolid (günde 2 kez 40 µg) tedavisine başlanır ve gonadotropin 300-450 IU dozunda tedaviye eklenir (38). Gonadotropin doz ayarlaması hCG zamanlaması diğer protokollerdeki gibidir.

Oral kontraseptif – mikrodoz GnRH agonist flare protokolü ile serum FSH değeri yükselmiş ve daha önce kötü cevap veren kadınlarda kısmen daha değerlidir (66-68). Siklus iptal oranı bu hasta grubunda azalmış ve gebelik oranları artmıştır.

2.4.5. GnRH antagonisti eklenerek yapılan eksojen gonadotropin uyarısı

Önce uyarı sonrası inhibe eden GnRH analoglarının aksine GnRH antagonistleri doz bağımlı şekilde GnRH reseptörlerini bloke eder, hızlıca gonadotropin salgısını inhibe eder. Antagonistlerin kullanıma girmesi, prematür LH yükselmesi korkusuna karşı kullanılan uzun protokoller, GnRH analogu kullanımı ve overlerin baskılanması gerekliliğini ortadan kaldırmıştır.

Şimdiye kadar 3 jenerasyon antagonist tanımlanmıştır. Bunlardan 1. jenerasyon histamin salınımı yaptıklarından geçici sistemik ödem ve enjeksiyon bölgesinde inflamasyona sebep olurken, 2. jenerasyon sadece lokal reaksiyona neden olmaktadır. Üçüncü jenerasyonun histamin salınım etkisi kısıtlı olup, anti-ovuluar etkisi 2. jenerasyonla eşittir. Üçüncü jenerasyon antagonistlerden üzerinde en çok çalışılanları cetorelix ve ganirelixdir. Bunlar klinik kullanım da eş etkinlik ve potansiyele sahiptirler (38). Kullanım amacı endojen erken LH pikini engellemek olduğundan, antagonistler hızlı etkileri nedeniyle geç foliküler fazda (gonadotropin tedavisinden 5-6 gün sonra) başlanır, cilt altına 0,25 mg/gün uygulanır (69,70). Antagoniste başlanılan gün, gonadotropinlere devam edilmesine karşın siklus seyrinde hafif bir yavaşlama gözlemlenebilir. Foliküler gelişim etkilenmesede, klinisyenler düşük doz hMG tedaviye eklemeyi tercih

edebilir (38). Günlük antagonist kullanımı hCG günü de dahil olmak üzere devam edilir. Antagonistlerin kullanılmasıyla son oosit maturasyonunda hCG yerine agonist kullanımını elverişli hale getirmiştir, bu durum OHSS riskini azaltmaktadır (71).

GnRH antagonistleri, agonistlere göre birtakım avantajlar sahiptir;

- Agonistlere göre tedavi süresi kısadır (38).
- Foliküler gelişimin geç döneminde (gonadotropin tedavisinin 5-7 günlerinde) kullanılır (38).
- Agonist tedavisindeki gibi uzun süreli baskılama olmadığından stimülasyonda kullanılan gonadotropin dozu ve tedavi süresi azalır. (72,73)
- Folikül kisti, flare etki olmadığı için gelişme ihtimali daha azdır (38).
- OHSS riski daha azdır (74).

2.5. KOH Monitorizasyonu

Daha öncede bahsedildiği gibi folikül takibinde ultrasonografi ve gelişme gösteren foliküllerden salınan östradiol tayini kullanılır. Yüksek ovaryan yanıtı olanlarda OHSS'yi engellemek, düşük ovaryan yanıtı olanlarda tedavi dozlarında ayarlamalar yapmak için monitorizasyon gereklidir.

Transvajinal ultrasonografi; folikül boyutunun belirlenmesi ve ovulasyonun tetiklenme zamanının tayininde önemli role sahiptir. Ayrıca kadının folikül havuzunun ilk başlangıçta değerlendirilmesi, kullanılacak olan protokol ve dozların belirlenmesinde de yardımcıdır. Normal bir tedavi siklusunda, foliküllerin 1-3 mm/gün büyümesi ve östradiolün bir gün önceki değerine göre %50 civarında artışının olması beklenir (75). Çoğunlukla 7-12 gün stimülasyon süresi gereklidir. Amaç, 17-18 mm çapında, en az iki ve 14-16 mm çapında birkaç tane folikül sağlamak ve kohortun büyüklüğüne ve matüritesine uygun E2 seviyelerine ulaşmaktır (Örn: 14 mm'lik folikül için yaklaşık 200 pg/ml E2).

Artan östradiol seviyeleri endometriumda da değişikliklere yol açmaktadır. Endometrial kalınlık ile gebelik sonuçları arasında korelasyon bulunmaktadır.

HCG uygulama günü endometrial kalınlık 8-9 mm ya da trilaminar görünümdeyse prognozun çok iyi olduğu, endometrium 6-7 mm'nin altında ise prognozun kötü olduğu bildirilmiştir (54-60).

2.6. Ovulasyonun Tetiklenmesi

LH piki folikül maturasyonunda son evre ve folikül çatlamasında temel noktadır. LH piki ile oositin metafaz-II aşamasına geçişi uyarılır, luteinizasyon ve korpus luteumun oluşumu sağlanır. LH'nın bu etkileri gebelik oluşumu için gereklidir (76). hCG ve LH arasındaki benzerlik, LH reseptörleri ile çapraz reaksiyona olanak sağlayarak oosit matürasyonunu ve ovulasyon tetiklemesini sağlar. LH'nın yarılanma ömrü 1-5 saat iken, hCG'nin yarılanma ömrü 2,32 gündür (77).

GnRH antagonist protokollerde GnRH agonisti flare etkisiyle ovulasyon tetiklemede kullanılabilir. Agonist hem LH hem FSH piki sağlaması açısından doğal siklusu taklit etmektedir. hCG ve GnRH agonistlerinin ovulasyon tetiklemesinde eş zamanlı birlikte kullanımı "dual trigger" olarak isimlendirilir. GnRH analogu kullanımının avantajı, hCG'nin uzun süreli ve potent etkisinden uzak kalınarak OHSS riskinin azaltılması, dezavantajı ise GnRH analogunun baskın luteolitik etkisi nedeni ile daha yüksek dozda luteal destek yapılmasına gerek duyulmasıdır (78).

Double trigger: oosit toplamadan 40 saat önce GnRH agonisti, 34 saat önce hCG uygulamasıdır.

2.7. Oosit Toplanması (OPU)

Ovulasyonun tetiklenmesinden 34-36 saat sonra oosit toplama işlemi gerçekleştirilmektedir. Transvajinal ultrasonografi ile OPU, günümüzde lokal anestezi altında ve transvajinal ultrasonografi rehberliğinde yapılmaktadır. İşleme başlarken vajen steril serum fizyolojik ile veya formüle edilmiş dengeli solüsyonlarla yıkanır. Yaralanmayı önlemek için mesanenin boş olmalıdır.

Aspirasyon iğnesi takılı transvajinal prob steril kılıf içine sarılır. 16-17 G 'luk iğne kullanılır bu iğne tek veya çift lümenli olabilir. 100-200 mmHg vakum basıncında ultrasonografi eşliğinde foliküllere girilerek sıvı ve oositler aspire edilir. Folikül içine sıvı verip tekrar aspire etmenin avantajı gösterilmediği gibi hem işlem zamanını hem de analjezik ihtiyacını artırır (79,80). Yeterli folikül boyut gelişimine rağmen aspire edilen foliküllerden oosit elde edilememesi boş folikül sendromu olarak adlandırılır.

Boş folikül sendromu; yeterli foliküler gelişmeye rağmen aspire edilen foliküllerden oosit elde edilememesi durumudur. Siklusların yaklaşık %0,5-2 kadarında mevcuttur. hCG enjeksiyonunun yapılmaması, planlanan saatten sonra yapılması veya kullanılan preparatın etkisiz olduması bu duruma yol açmada kesin sebebi hep bir bilinmezdir. Tek overden oosit çıkmaması halinde siklusu kurtarmak için hCG dozu tekrar edilerek 36 saat sonra diğer overdeki foliküller aspire edilebilir (81).

Profilaktik antibiyotik tedavisi (doksisisiklin 100 mg, sefoksitin 2 g) toplamadan 30-60 dakika önce yapılabilir (enfeksiyon oranı %0,3-0,6) (82). Alternatif olarak, oral antibiyotikler (tetrasiklin, doksisisiklin) işlemden hemen sonra başlanabilir. Pelvik enfeksiyon riski artmış olan hastalara (pelvik inflamatuvar hastalık, endometriyoma) profilaktik intravenöz antibiyotik verilir.

OPU sırasında ciddi komplikasyon ihtimali sık değildir. İğne yerinden olan vajinal kanama %8 oranında görülür, genellikle sıkı bir şekilde kanama bölgesine bastırmak yeterlidir. Overlerden akut kanama, uterin, ovarian veya iliak damar hematomları nadir (%0,04-0,07) görülür (83). İşlem sırasında endometriomaların içine girip aspire edilirse vajinal flora kistin içine taşınabileceği için abse oluşumu görülebilir.

Profilaktik antibiyotik tedavisi (doksisisiklin 100 mg, sefoksitin 2 g) toplamadan 30-60 dakika önce yapılabilir (enfeksiyon oranı %0,3-0,6) (82). Alternatif olarak, oral antibiyotikler (tetrasiklin, doksisisiklin) işlemden hemen sonra başlanabilir. Pelvik enfeksiyon riski artmış olan hastalara (pelvik inflamatuvar hastalık, endometriyoma) profilaktik intravenöz antibiyotik verilir.

2.8. Fertilizasyon

OPU işlemi sırasında aspire edilen folikül içeriği hemen laboratuvara gönderilir. Mikroskopta incelenen bu sıvının içinde bulunan oosit kültür sıvısının içine konarak inkubatöre kaldırılır. İnkubatör, sıcaklığı 37 °C, karbondioksit oranını da %5-6 düzeyinde sabit tutar. Oositlerin matür olmadığı durumlarda inkubatörde 30 saate kadar bekletilebilir. Oositin matür olup olmadığı çevresinde kumulus korona hücre kompleksinin morfolojisi, germinal vezikülün parçalanıp parçalanmaması ve birinci polar cisimciğin atılıp atılmamasına göre değerlendirilmektedir.

Kadından oositlerin toplandığı esnada erkek de sperm verir. Elde edilen semen özel bir kap içine alınır ve likefiye olması beklenir. Likefiye olan semen sperm sayısı, hareketliliği ve morfolojisi yönünden incelenir. Sperm hazırlamak için en çok kullanılan iki yöntem ‘yüzme’ (swim up) ve ‘yoğunluk gradienti santrifügasyon’ (density gradient centrifugation) dır. Her iki yöntem de inseminasyon için yüksek hızdaki hareketli spermleri seçer. Ancak ikinci yöntem, şekil olarak normal olanları daha iyi ayırır. Semen sonuçları anormal olduğunda yoğunluk gradienti santrifüj yöntemi daha çok önerilir (84). Spermler daha sonra kapasitasyon amacıyla yüksek oranda protein içeren medyumda 0,5-4,0 saat bekletilir.

Oosit kültürü ve sperm hazırlanması tamamlandıktan sonra fertilizasyon işlemine geçilir. Genelde oosit başına 50-100 bin hareketli sperm, 37C° 'de, %5'lik karbondioksitli, %98'lik nemli ortamda, 12-18 saat kadar bekletilir (38). Sperm penetrasyonu aynı zamanda ikinci mayotik bölünmeyi uyararak, kromatidlerin oosit ve ikinci polar cisimcik arasında dağılmasını sağlar. Oositler fertilizasyonu değerlendirmek için inseminasyondan 18 saat sonra incelenir. Normalde fertilize olmuş bir oositte biri spermden biride oositten kaynaklanan 2 ayrı pronukleus görülür (38). Fertilizasyon aşaması yaklaşık 24 saat gerektirir ve ilk mitotik bölünmeyle birlikte sona erer (klivaj).

2.9. İntrasitoplasmik sperm injeksiyonu (ICSI)

Spermilerin zona pellusidayı geçme zorunluluğunu ortadan kaldırmak için geliştirilmiş bir tekniktir. Bu yöntemde; enjeksiyon pipetiyle seçilmiş tek bir sperm kuyruğuna basılarak hareket etmemesi sağlanır. Daha sonra pipete çekilir. Oositin polar cisimciği saat 6 ve 12'ye gelecek şekilde sabitlenir ve oosite saat 3 hizasında girilir. Pipet zonayı ve oolemmayı geçerek spermi direkt olarak ooplazmaya yerleştirir. İkinci mayotik içcikler her zaman aynı lokalizasyonda bulunmayabilir. Polar cisimcik komşuluğundaki bölgeden girilmese bile bazen mayotik içcikler zarar görebilir. ICSI'de akrozom reaksiyonu oluşmasına gerek yoktur. Erkek faktör yokluğunda ICSI ve IVF'in fertilizasyon oranları benzerdir (38). Endikasyonları;

- Erkek faktörü infertilitesinde (şiddetli oligospermi, astenospermi, teratospermi dahil)
- Cerrahi olarak sperm elde edildiği durumlar (olgun sperm sayısı daha az olacağından)
- PGT planlanan durumlarda (konvansiyonel inseminasyonda PCR sonucunu etkileyebilecek şekilde zonaya fazladan sperm tutunabilir.)
- Daha önce IVF başarısızlığı olanlarda ya da fertilizasyon sağlanamayanlarda uygulanabilir.

2.10. Embriyo Transferi

Elde edilen embriyolar inkubatörler içerisinde gerekli CO2 basıncı, nem ve sıcaklık şartları sağlanarak uygun in-vitro kültür ortamında 2-5 gün süreyle geliştirilirler. Embriyolar pronuklear fazdan blastokist aşamasına kadar herhangi bir dönemde transfer edilebilmekle beraber, en sık tercih edilen transfer zamanı embriyo gelişiminin 3. günü, embriyonun 6-8 hücreli olduğu aşamadır. Bazı araştırmacılar üçüncü ve beşinci gün transferi arasında anlamlı bir fark olmadığını

savunurken bazıları blastokist transferi ile özellikle implantasyon oranlarının anlamlı bir şekilde arttığını ileri sürmektedirler (85,86).

İlk transfer tekniğinin tanımlandığı 1984 yılından beri önemli bir değişiklik olmamıştır (87). Litotomi pozisyonunda dolu mesane ile transabdominal ultrasonografi eşliğinde kateterin serviksten geçişi izlenerek, embriyoların atravmatik, hızlı biçimde uterusu yerleştirilmesi amaçlanır. Mukus, kan ve uterusun kontraksiyonlarının tetiklenmesinden mümkün olduğu kadar kaçınılmalıdır (88,89). Teknik olarak zor transfer sırasında yapılan manipülasyonlar uterusun kontraksiyonları uyarır. Bu durum embriyoların tubalara ya da servikse doğru gitmesine neden olabilir. Uterin kontraksiyonları önlemek için embriyolar fundusun yaklaşık 1-2 cm gerisine bırakılır (90). Nadir olarak embriyolar kateterde kalabilir ve tekrar transferi gerekebilir.

Transfer sonrası minimum 30 dakika yatak istirahati önerilse de bunun sonuçları etkilediğine dair kanıt yoktur (91,92).

2.11. YÜT Gebelik Riskleri

Çoğul gebelik: Çoğul gebelikler artmış maternal ve neonatal riskleri beraberinde getirir. Gebelik komplikasyonlarının yüksek olması ve erken doğum gibi nedenler ile maliyetin artması nedeni ile pek çok ülkede transfer edilen embriyo sayısının kısıtlanması yoluna gidilmektedir. Ülkemizde Sağlık Bakanlığı'nın talimatnamesi uyarınca 35 yaşından genç olgularda tek, 35 yaş üzeri olgularda ise iki embriyo transferi yapılmaktadır.

Preterm doğum ve düşük doğum ağırlığı: YÜT ile tekil gebelik durumlarında doğal yollarla oluşan gebeliklere göre 2 kat risk artışı mevcuttur (93).

Konjenital anomaliler: Birçok çalışma YÜT ile konjenital anomali oranlarının artmadığını belirtse de, bazı çalışmalar genitoüriner anomaliler, nöral tüp defekti, yarı damak dudak, gastrointestinal anomaliler, kromozomal anomaliler ve kas iskelet sistemi anomalilerinin arttığını söyler (38). YÜT ile doğan bebeklerde preterm doğum ve düşük doğum ağırlığı görülsede anomalilerin YÜT tedavisine ya da başka sebebe bağlı olup olmadığı tam olarak belli değildir. Sadece tekiz

doğumları içeren bir çalışmada doğal yoldan oluşan gebelik sonuçlarına göre genitoüriner malformasyonda artış saptanmıştır (38).

Genetik anomaliler: Yardımcı üreme teknikleri sonucu oluşan gebeliklerde imprinting bozukluklarından özellikle Beckwith-Wiedeman Sendromu ve Angelman Sendromunun riski artmıştır (93).

Gelişim: YÜT ile doğan çocuklar, doğal yolla gebe kalıp doğan çocuklarla 18 yaşına kadar ki dönemleri karşılaştırılmış; mental motor gelişim, kendini ifade etme, algılama kapasitesi ve aile ilişkileri açısından fark bulunmamıştır.

Kanser: Genetik kodlama bozuklukları kanser gelişiminde de önemli olup yardımcı üreme teknikleri sonucu genetik kodlama hataları oluşabilir. YÜT sonucu oluşan bebeklerde, çocukluk çağı kanserlerinin artmadığı bildirilmişse de (94), retinoblastom riskinin arttığını bildiren yayınlar da mevcuttur (95). Bu genetik imprinting bozukluklarının IVF kültüründen mi, manipulasyondan ya da kullanılan ortam medyumundan mı olduğu bilinmemektedir (38).

Özetle; YÜT sonucu oluşan gebeliklerde olumsuz perinatal sonuçlar, gebelik komplikasyonları, yapısal anomaliler, bazı imprinting bozuklukları ve ICSI gebeliklerinde kromozomal anomali riski artmaktadır. Bu infertiliteden kaynaklanabileceği gibi uygulanan tedavilerin yöntemlerine de bağlı olabilir. Gebelik öncesi infertil çiftler gebelik sonuçları üzerinde bilgilendirilmeli, uygun durumlarda genetik danışmanlık sağlanmalıdır. Gebelik elde edilen olgularda da yakın takip yapılmalıdır.

2.12. Over Hiperstimulasyon Sendromu (OHSS)

OHSS eksojen gonadotropin tedavisinin en önemli komplikasyonudur. Nadiren klomifen ile indüklenmiş sikluslarda görülebilir. Tablonun şiddetine göre orta veya ciddi; başlangıç zamanına göre erken veya geç başlangıçlı; etyolojisine göre spontan veya iatrojenik OHSS olarak sınıflandırılabilir.

Kapiller permeabilite artması nedeni ile intravasküler alandan ekstravasküler alana proteinden zengin sıvının kaçmasıyla periton ve plevrada sıvı artışı, ödem,

hiperkonsantrasyon, hipovolemi, anüri, hipotansiyon ve akut respiratuar distress sendromu (ARDS) gelişebilmektedir. Patofizyolojide ovulasyon indüksiyonu sonrası çok sayıdaki folikül ve korpus luteumdan salınan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) suçlanmaktadır (96). Abdominal dolgunluk, abdominal ağrı, mide bulantısı, kusma, ishal ve nefes darlığı semptomları ile kendini gösterir. İki faktör OHSS'nin gelişiminde önemli rol oynar. Yüksek dozlarda gonadotropin kullanımına bağlı serum östradiol seviyesi hızla yükseldikçe, gelişen folikül sayısı ve toplanan oosit sayısı arttıkça OHSS riski de artar (97).

KOH sırasında OHSS'nin gelişeceği öngörülürse gonadotropin uyarısını keserek tedaviye devam etme (coasting), siklusu iptal etme ve hCG uyarısından kaçınma alternatifleri değerlendirilmelidir. Ovulasyonun tetiklenmesi düşünülüyorsa hCG'den ziyade GnRH analogları tercih edilmelidir. Siklus ortasında hCG veya GnRH agonisti uygulamasından bağımsız olarak luteal faz desteği için hCG yerine progesteron verilmesi OHSS riskini azaltabilir (98).

OHSS genellikle kendini sınırlayan ve gebelik olmadığı takdirde 7-10 gün içerisinde gerileyen bir tablodur. Gebelik mevcudiyeti durumunda buna bağlı artan hCG seviyesi tablonun gerilemesini geciktirebilir veya çok şiddetlendirebilir. Bu nedenle çok riskli olgularda tüm embriyoların dondurularak saklanması ve embriyo transferinin iptali iyi bir seçenektir. Klinik yaklaşımda önemli olan; elektrolit dengesizliğinin düzeltilmesi, nörohormonal ve hemodinamik bozuklukların giderilmesi, tromboembolik olay, akciğer ve karaciğer disfonksiyonunun önlenmesi ve tedavisidir (99). Genel yaklaşım hastalığın ciddiyetine bağlıdır.

YÜT sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılan temel kriterler:

Siklus başına gebelik oranı: Tedaviye kabul edilen ve KOH gerçekleştirilen hastaların içlerinde gebelik elde edilen hastalar değerlendirilir.

OPU başına gebelik oranı: OPU işlemi gerçekleştirilen hastaların içlerinde gebelik elde edilen hastalar değerlendirilir (KOH sonucunda yetersiz folikül

gelişimi veya prematür ovulasyon nedeniyle iptal edilen hastalar değerlendirme dışında bırakılır).

Embriyo transferi başına gebelik oranı: Embriyo transferi yapılan hastaların içlerinde gebelik elde edilen hastalar değerlendirilir (OPU sonrası matür oosit elde edilemeyen, fertilizasyonu olmayan veya transfer edilecek sağlıklı embriyosu bulunmayan hastalar değerlendirme dışı bırakılır).

Klinik gebelik oranı: Embriyo transferi yapılan hastalar içerisinde gebelik gözlenen ve fetal kalp atımları izlenen hastalar değerlendirilir (ilk β -hCG testi pozitif çıktıktan sonra kan değerleri düşen ve biyokimyasal abortus olarak kabul edilen hastalar değerlendirme dışı bırakılır).

İmplantasyon oranı: Hastalara transfer edilen toplam embriyolar içerisinde fetal kalp atımları izlenen embriyolar değerlendirilir.

Eve götürülen bebek oranı: Embriyo transferi yapılan hastalar içerisinde eve canlı bebek doğumu ile dönen hastalar değerlendirilir. Yardımcı üreme tekniklerinde temel hedef gebelik elde etmek değil, sağlıklı bebeklerin doğmasıdır.

3. METOD

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Üreme Tıbbı ve İnfertilite Ünitesi Tüp Bebek Merkezi'nde gerçekleştirildi. Çalışmaya başlanmadan önce Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı'ndan etik kurul onayı alındı. Aralık 2017 ile Mayıs 2018 tarihleri arasında başvuran hasta dosyaları retrospektif olarak tarandı. GnRH antagonisti protokolü uygulanan ardından ICSI işlemi yapılan, 21-41 yaş arası hastalar çalışmaya dahil edildi. Çalışmada son oosit maturasyonu için hCG trigger uygulanan hastalar ile dual trigger (HCG + GnRH_a) uygulanan hastaların genel özellikleri, stimülasyon yanıtları ve gebelik sonuçları karşılaştırıldı. GnRH-a trigger uygulananlar, fertilitte koruma amaçlı tedaviye başvuranlar, şiddetli erkek faktör nedeniyle infertilite tedavisi alanlar ve malign hastalığı olanlar çalışma dışı bırakıldı.

Antagonist tedavi protokol seçimi; hastanın yaşına, kilosuna, bazal E2, FSH seviyesine, antral folikül sayısına, ultrasonografik değerlendirmede ek patoloji durumuna ve varsa önceki ovülasyon indüksiyonu yanıtına bakılarak belirlenmiştir. GnRH antagonist protokolü için klinikte eş etkinlik ve potansiyele sahip olan cetoreliks veya ganireliks adlı GnRH antagonisti kullanılmıştır. Cetorelix flakon (Cetrotide flakon 0,25 mg, merck Serono, Almanya) 1x1 s.c veya Ganirelix flakon (Orgalutran flakon 0,25 mg, N.V. Organon, Hollanda) 1x1 s.c. stimülasyonun 5. gününde uygulanmaya başlanmıştır ve trigger gününe kadar devam ettirilmiştir. Gonadotropin başlama dozu; hastanın yaşına, kilosuna, bazal E2, FSH seviyesine, antral folikül sayısına ve varsa önceki ovülasyon indüksiyonu yanıtına bakılarak belirlenmiştir. Tedavi süresince stimülasyon yanıtına göre dozda değişiklik yapılmış ya da aynı dozda devam edilmiştir. Belirlenen doz ve ilacın kullanılması hastaya her visitte tarif edilmiş ve düzenli kullanımı teyit edilmiştir. Seri TVUSG kontrollerinde 18 mm'den büyük en az iki-üç folikül gelişen hastalarda oosit toplama işlemi planlanmış. Son oosit maturasyonu için hCG grubunda 250 µg ya da 500 µg rekombinant hCG (ovitrelle, 250 µg, Merck Serono, İtalya) uygulandı. Dual grubunda 250 µg rekombinant hCG (ovitrelle, 250 µg, Merck Serono, İtalya) ve GnRH antagonisti olarak 0,2 mg triptorelin

(gonapeptyl, 0,1 mg, Ferring, Almanya) uygulandı. Trigger sonrası 35-36. saatte yumurta toplama işlemi (OPU) uygulandı. Toplanan oositler 30-60 dakika 37°C ve %6 CO2 içeren ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Ardından denüstasyon işlemi gerçekleştirilmiş ve oositler gelişimine göre GV, MI, MII olarak sınıflandırılmıştır. MII oositler ICSI için hazırlanmıştır. Bu arada eşler 2-6 günlük cinsel perhizden sonra semen örneği vermişlerdir.

Embriyo sınıflaması 2011 ESHRE İstanbul Konsensus'a göre yapıldı (100). Blastokist skorlamasında; $\geq 3AA$ yüksek kalite, 3,4,5,6, AB ve BA iyi kalite, 3,4,5,6 BB, AC ve CA orta kalite, $\leq 3BB$ ve diğer embriyolar düşük kalite olarak sınıflandırıldı (101).

Embriyo transferi transabdominal ultrasonografi eşliğinde uygulanmıştır. OPU tarihinden 15 gün sonra serum β -hCG değerlendirilmiştir. Luteal faz desteğine OPU gününde başlanmıştır. Bu amaçla günlük 90 mg intravajinal progesteron (Crinone %8, Merck, İngiltere), gūnaşırı 50 mg intramuskuler progesteron (Progynex, 50 mg, Farmako, Tekirdağ) ve 6 mg estradiol (Estrofem, 2 mg, Novo Nordisk, Danimarka) uygulanmıştır. β -hCG sonucu pozitif ve katlaması olanlarda 10. gebelik haftasına kadar devam edilmiştir. Gebelik elde edilen hastalar son adet tarihine göre 6-7. haftada tekrar çağırılmıştır. Bu kontrolde TVUSG ile intrauterine kese mevcudiyeti ve sayısı ile fetal kalp atımı değerlendirilmiştir. Implantasyon oranı; transfer edilen embriyoların toplam sayısının görülen toplam kese sayısına oranı olarak tanımlandı. Klinik gebelik, transfer yapılan hastalarda 6-7 hafta arası fetal kalp atımı izlenenleri oluştururken, canlı doğum yapanların transfer yapılan hasta sayısına oranı ise canlı doğum oranı olarak tanımlandı. Fetal kalp atımı izlenen <20. hafta gebelik sonlanması düşük,>20. hafta gebelik sonlanması doğum olarak tanımlandı. Dış merkez takipli hastaların gebelik süreçleri, doğum şekilleri, bebek ağırlıkları, cinsiyetleri ve bebeklerin sağlık durumları bilgilerine sözel olarak hasta aranarak ulaşıldı. Kliniğimizde takipli hastalar için hasta dosyaları tarandı.

Çalışmadan elde edilen bulguların istatistik analizleri için IBM-SPSS 20.0 (Statistical Package for Social Sciences) programı kullanıldı. Örneklemi tanımlamak için sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma, ortanca

(minimum-maksimum), kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde ile belirtildi. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma Shapiro Wilk Testi ile incelendi. Kategorik değişkenlerin yüzdelerinin farkı “Pearson Chi-Square” testi ile analiz edildi, beklenen sıklıkların %20’den fazlasının 5’ten küçük olması durumunda “Fisher’s Exact Test” kullanıldı. Parametrik test varsayımlarının sağlanmaması nedeniyle bağımsız iki grup ortalamalarının farkı “Mann-Whitney U Test” ile incelendi. Analizlerde farklılıkların belirlenmesi için $\alpha=0.05$ hata payı (ya da %95 anlamlılık düzeyi) alındı.



4. BULGULAR

Toplam 295 hasta çalışmaya dahil edilmiş, hCG trigger grubunda 111 siklus, dual trigger grubunda 184 siklus incelenmiştir.

Tablo 4.1. de hCG ve dual trigger gruplarının karakteristik özellikleri karşılaştırılmıştır. Kadın medyan yaşı hCG grubunda 33,0 (21-41), dual grupta 32,0 (24-41) olarak bulunmuştur. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır ($p=0,431$). İnfertilite süreleri hCG grubunda 48,0 (2-240), dual grupta 42,5 (2-276) ay olarak bulundu. İstatistiksel olarak her iki grup arasında infertilite süreleri arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=0,636$). Her iki grup arasında BMI açısından fark bulunmadı ($p=0,933$). Bazal hormon (FSH ve E₂) değerlerinde de her iki grupta benzer olarak görüldü. HCG grubunun antral follikül sayısı 13,0 (1-50) iken dual grubunda bu değer 12,0 (1- 50) olarak bulunmuş olup gruplar arasında fark saptanmadı ($p=0,387$).

Ek hastalıklar açısından değerlendirildiğinde; hCG trigger grubunda 32 (28,8%), dual trigger grupta 46 (25,0%) hastada eşlik eden hastalık durumu saptandı. Gruplar arası anlamlı fark bulunmadı ($p=0,470$). Ek hastalıklar içerisinde infertilite ile ilişkili olabilecek tiroid disfonksiyonu, PKOS, endometriozis açısından alt gruplar karşılaştırıldığında yine anlamlı bir fark izlenmedi (sırasıyla $p=0,874$, $p=>0,999$, $p=0,510$).

Gruplar stimülasyon öncesi genel karakteristik özelliklerine göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Tablo 4.1. HCG ve Dual Trigger Grubunun Karakteristik Özellikleri

	HCG	DUAL	P değeri
Siklus sayısı	111	184	-
Yaş	33,0 (21-41)	32,0 (24-41)	0,431 ^a
İnfertilite süresi (ay)	48,0 (2-240)	42,5 (2-276)	0,636 ^a
BMI (kg/m ²)	24,6 (17,3-44,1)	24,7 (16,6-44,9)	0,933 ^a
Bazal FSH (mIU/mL)	8,0 (0,3-22,5)	7,4 (0,8-31)	0,252 ^a
Bazal E2 (pg/mL)	42,0 (8-400)	42,0 (5-380)	0,800 ^a
Antral follikül sayısı	13,0 (1-50)	12,0 (1-50)	0,387 ^a
Ek hastalık olmayan	79 (71,2%)	138 (75,0%)	0,470 ^b
Ek hastalığı olanlar N (%)	32 (28,8%)	46 (25,0%)	
Tiroid disfonksiyonu	12 (10,8%)	21 (11,4%)	0,874 ^b
PKOS	4 (3,6%)	7 (3,8%)	>0,999 ^c
Endometriozis	5 (4,5%)	5 (2,7%)	0,510 ^c
Diğer hastalık	13 (11,7%)	17 (9,2%)	0,496 ^b

a: Mann Whitney U Test

b: Pearson Chi-Square

c: Fisher's Exact Test

Tablo 4.2. HCG ve Dual Trigger Gruplarında İnfertilite Nedenleri

	HCG (n:111)	DUAL (n:184)	P değeri
Açıklanamayan İnfertilite	40 (36,0%)	61 (33,2%)	0,591 ^a
Azalmış Over Rezervi	32 (28,8%)	44 (23,9%)	0,350 ^a
Anovulasyon	16 (14,4%)	20 (10,9%)	0,368 ^a
Şiddetli Olmayan Erkek Faktör	12 (10,8%)	31 (16,8%)	0,155 ^a
Tubal Faktör	4 (3,6%)	8 (4,3%)	>0,999 ^b
Kombine Nedenler ^c	7 (6,3%)	20 (10,9%)	0,188 ^a

a: Pearson Chi-Square

b: Fisher's Exact Test

c: Birden fazla nedene sahip çiftler

Tablo 4.2.'de hCG ve dual trigger uygulanan hastaların infertilite nedenleri görülmektedir. HCG ve dual grubunda infertilite nedeni içerisinde en büyük grubu açıklanamayan infertilite nedeniyle tedavi alan grup oluşturmuştur. Dual grubunda bu oran %33,2 iken hCG grubunda %36,0'dır ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0,591). Azalmış over rezervi çalışma grubumuzda ikinci sık infertilite nedenidir. Dual grubunda %23,9 hCG grubunda %28,8 hastada AOR nedeniyle tedavi uygulanmış olup gruplar arası anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,350). Dual grubunun %16,8'ine, hCG grubunun %10,8'ine şiddetli olmayan erkek faktör nedeniyle tedavi uygulanmıştır (p=0,155). Çalışmaya dahil edilen hastalarda daha az oranda karşımıza çıkan infertilite nedenleri tubal faktör ve ovulatuvar bozukluk olarak bulundu. HCG ve dual trigger grubunda bu iki neden arasında fark saptanmadı. Gruplar arası infertilite nedenleri arasında anlamlı fark oluşturan alt grup bulunmadı.

Tablo 4.3. HCG ve Dual Trigger Grubunun Ovaryan Stimülasyon, Özellikleri

	HCG (n:111) Medyan (min-max)	DUAL (n:184) Medyan (min-max)	P değeri
Gonadotropin başlangıç dozu (IU)	300,0 (150,0-450,0)	300,0 (150,0-450,0)	0,273 ^a
Total gonadotropin dozu (IU)	3150,0 (1200,0-7050,0)	2993,8 (450,0-7200,0)	0,193 ^a
Stimülasyon süresi (gün)	10,0 (6,0-15,0)	10,0 (3,0-16,0)	0,325 ^a
Tedavi süresince doz değişimi n (%)			
Arttırılanlar	29 (26,1%)	46 (25,0%)	0,419 ^b
Değişmeyenler	69 (62,2%)	106 (57,6%)	
Azaltılanlar	13 (11,7%)	32 (17,4%)	
Trigger günü E ₂ (pg/mL)	1991,0 (196,0-5158,0)	2207,5 (237,0-7888,0)	0,14 ^a

a: Mann Whitney U Test

b: Pearson Chi-Square

HCG ve dual trigger grubunun ovaryan stimülasyon, özellikleri tablo 4.3.'de karşılaştırıldı. Gonadotropin başlangıç dozu açısından her iki trigger grubunda anlamlı fark saptanmadı ($p=0,273$). Stimülasyon süresince aldıkları total gonadotropin dozu dual trigger grubunda 2998,3 IU (450,0-7200,0) iken hCG trigger grubunda 3150,0 IU (1200,0-7050,0) olarak bulundu. Dual trigger grubu total gonadotropin dozu medyan değeri hCG grubuna göre düşük bulunsada anlamlı fark bulunmadı ($p=0,193$). Stimülasyon süresi her iki trigger grubunda da benzer uzunlukta bulundu. Trigger günü E₂ düzeyi hCG trigger uygulanan hastalarda 1991,0 pg/mL (196,0-5158,0) iken dual trigger grubunda 2207,5 pg/mL (237,0-7888,0) bulundu. İstatistiksel olarak anlamlı fark olmasada ($p=0,14$), dual trigger grubunda E₂ medyan değeri daha yüksektir.

Tablo 4.4. HCG ve Dual Grubunun Yumurta Toplama, Fertilizasyon ve Embriyo Özellikleri

	HCG Medyan (min-max)	DUAL Medyan (min-max)	P Değeri
Toplanan oosit sayısı	9,0 (0,0-22,0)	10,0 (0,0-61,0)	0,085 ^a
MII oosit sayısı	6,0 (0,0-19,0)	7,0 (0,0-26,0)	0,092 ^a
MI oosit sayısı	0,53 (0,0-1,0)	0,51 (0,0-1,0)	0,369 ^a
Matur oosit oranı	0,69 (0,0-1,0)	0,69 (0,0-1,8)	0,746 ^a
2PN sayısı	3,0 (0,0-15,0)	3,0 (0,0-14,0)	0,352 ^a
Fertilizasyon oranı	0,53 (0,0-1,0)	0,52 (0,0-1,0)	0,792 ^a
Elde edilen toplam embriyo sayısı	1,0 (0,0-5,0)	1,0 (0,0-6,0)	0,041 ^a
Elde edilen embriyoların kalitelerine göre dağılımı n (%)			
1. ve 2. kalite embriyo	88 (69,8%)	226 (83,7%)	0,002
Diğer kalite embriyolar	38 (30,2%)	44 (16,3%)	

a: Mann Whitney U Test

Tablo 4.4.'de trigger gruplarının elde edilen oosit sayıları, fertilizasyon ve embriyo özellikleri karşılaştırılmıştır. Toplanan oosit sayısı, MII oosit sayısı dual trigger uygulanan hastalarda daha fazla olmasına rağmen istatistiksel anlamlı fark bulunmamaktadır. Matur oosit oranı her iki trigger grubunda benzer bulunmuştur ($p=0,746$). 2PN sayıları ve fertilizasyon oranlarında trigger gruplarının birbirlerine üstünlükleri bulunmamasına rağmen dual trigger uygulanan grupta elde edilen toplam embriyo sayısı daha fazla bulunmuştur ($p=0,041$).

Embriyolar; 1. kalite, 2. kalite ve diğer kalite embriyo sayıları açısından değerlendirilmiştir. Dual trigger uygulanan hastalarda elde edilen 1. ve 2. kalite embriyo sayıları hCG grubuna göre belirgin fazla bulunmuştur ($p=0,002$)

Tablo 4.5. HCG ve Dual Trigger Grubunun ICSI-ET Sonuçları

	HCG	DUAL	P değeri
İmplantasyon oranı (%)	23,33 (21/90)	22,64 (36/159)	0,901 ^a
Klinik gebelik oranı (%)	28,38 (21/74)	27,87 (34/122)	0,936 ^a
>24 hafta gebelik oranı (%)	24,32 (18/74)	24,59 (30/122)	0,967 ^a
Düşük oranı (%)	14,29 (3/21)	11,76 (4/34)	>0,999 ^b
Canlı doğum oranı (%)	24,32 (18/74)	22,95 (28/122)	0,826 ^a

a: Pearson Chi-Square

b: Fisher's Exact Test

HCG trigger grubunda 74 hastaya, dual trigger grubunda 122 hastaya embriyo transfer işlemi uygulanmıştır. HCG trigger uygulanan gruba toplam 90 dual trigger uygulanan gruba ise toplam 159 embriyo transfer edilmiştir. HCG grubunda 21 gestasyonel kese TVUSG ile izlenirken dual grubunda 36 gestasyonel kese izlendi. HCG ve dual trigger grubunun implantasyon oranları %23,33 ve %22,64 olarak bulundu ($p=0,901$). 6 ile 7. gebelik haftaları arasında TVUSG ile fetal kalp atımı izlenme oranı sırasıyla hCG ve dual grubunda %28,38 ve %27,87 olarak saptandı, klinik gebelik oranlarında istatistiksel fark bulunmadı ($p=0,936$). HCG trigger grubunda klinik gebeliği olan 3 hasta 20. gebelik haftasına ulaşmadan gebelik kaybı yaşadı, dual grubunda 4 hasta da düşük gerçekleşti. Her iki grup arasında düşük oranları açısından fark bulunmadı ($p>0,999$). HCG trigger uygulanan hastalardan 18 hasta, ≥ 24 . gebelik haftasına ulaşmış ve hepside sağlıklı şekilde doğum yapmıştır. Dual trigger grubunda 30 hasta ≥ 24 . gebelik haftasına ulaşmış ancak 28 hasta sağlıklı, 2 hasta ölü doğum

yapmıştır. Hastaların birinde gebelik sürecinin 25. haftasında diğerinde 31. haftada intrauterin eksitus gerçekleşmiştir. HCG grubunda canlı doğum oranı %24,32 iken dual trigger grubunda %22,95 bulundu. Gruplar arasında canlı doğum oranları açısından fark izlenmedi.

Tablo 4.6. HCG ve Dual Grubunda Canlı Doğum Yapan Hastaların Gebelik Sonuçları

	HCG (n:18)	DUAL (n:28)	P değeri
Ek komplikasyon ile karşılaşan	4 (22,2%)	3 (10,71%)	0,407 ^a
Doğum şekli;			
Normal doğum	2 (11,11%)	5 (17,86%)	0,688 ^a
Sezaryen	16 (88,89%)	23 (82,14%)	
Canlı doğanların cinsiyetleri;			0,008 ^b
Kız	13 (72,22%)	9 (32,14%)	
Erkek	5 (27,78%)	19 (67,86%)	

a: Fisher's Exact Test

b: Pearson Chi-Square

Tablo 4.6. da canlı doğum yapan hastaların gebelik sonuçları özetlenmiştir. Her iki grupta da ek komplikasyon olarak preterm eylem ve/veya erken membran rüptürü dışında problem ile karşılaşılmamıştır. Bu bakımdan gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ($p=0,407$). Her iki grupta da hastalar çoğunlukla sezaryen ile doğum yaptı. HCG grubunda doğan bebeklerin cinsiyeti ağırlıklı olarak kız (%72,22) iken dual grubunda erkek bebek oranı (%67,86) daha yüksek olarak bulundu. Canlı doğan bebeklerde cinsiyet bakımından her iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulundu ($p= 0,008$).

Tablo 4.7. HCG ve Dual grubunda Transfer Yapılmama Nedenleri

	HCG	DUAL	P değeri
Transfer yapılanlar	74 (66,67%)	122 (66,30%)	0,949 ^a
Transfer yapılmayanlar	37 (33,3%)	62 (33,70%)	
Transfer yapılamama nedeni (%)			
Total cryo yapılanlar	4 (10,8%)	17 (27,4%)	0,068 ^a
MII oosit olmayanlar	3 (8,1%)	5 (8,1%)	>0,999 ^b
Fertilizasyon olmayanlar	10 (27,0%)	15 (24,2%)	0,817 ^a
Embriyo gelişim aşamasında arrest	18 (48,6%)	20 (32,3%)	0,180 ^a
Diğer nedenler	2 (5,4%)	5 (8,1%)	0,714 ^b

a: Pearson Chi-Square

b: Fisher's Exact Test

HCG grubunda %66,67, dual grubunda %66,30 hastaya embriyo transferi uygulanmıştır (p=0,949). Çalışmaya alınan 99 hastaya çeşitli sebeplerle taze embriyo transferi uygulanamamıştır. Tablo 4.7.'de bu sebepler karşılaştırıldı ve transfer yapılmayanların nedensel yüzdeleri verildi. Her iki trigger grubunda da en büyük oranı embriyoların gelişim aşamasında arrest olması oluşturmaktadır. HCG grubunda 4 hastaya dual grubunda 17 hastaya total cryo yapılmıştır. Dondurma sebepleri; trigger günü anormal hormon düzeyleri, endometrial polip, endometrial kavitede mayi ve başarısız transfer uygulamasıdır. HCG trigger uygulanan 3 hastada, dual trigger uygulanan 5 hastada MII oosit çıkmamıştır. HCG grubunda 10 hastada, dual grubunda 15 hastada fertilizasyon gerçekleşmemiştir. Taze transfer iptal ve embriyo dondurma nedenleri arasında her iki grupta istatistiksel anlamlı fark bulunmadı.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmadaki amacımız; antagonist tedavi protokolü uygulanan genel hasta popülasyonunda, son oosit maturasyonu için standart uygulanan hCG kullanımına GnRHa eklenmesinin, in vitro fertilizasyon sonuçlarına etkisini araştırmaktır. Çalışmaya dahil edilen 295 hasta, son oosit maturasyonunda GnRHa verilenler (dual trigger grubu) ve verilmeyenler (hCG trigger grubu) olarak iki gruba ayrıldı. İki grubun genel karakteristik özelliklerinde yaş, BMI, bazal FSH, LH, antral follikül sayısı, infertilite süreleri ve ek hastalıkları bakımından herhangi bir fark saptanmadı. Stimülasyon süresi ve total gonadotropin gereksinimleri iki grupta benzerdi. Çalışmamızın sonuçlarında; GnRHa eklenen grupta, elde edilen toplam oosit sayısı ve embriyo kalitesi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Buna karşılık matur oosit oranı, fertilizasyon, klinik gebelik ve canlı doğum oranında iki grup arasında fark saptanmadı.

İn vivo oosit maturasyonu LH artışıyla gerçekleşmekle birlikte bu esnada FSH piki de izlenmektedir. Oosit mayoz I'i tamamlayarak mayoz II metafaz evresine geçer. Kontrollü ovaryan stimülasyonda hCG'nin tek başına kullanımı, etkisini içerdiği uzun yarılanma ömürlü LH aktivitesi üzerinden gösterir (4). HCG'den farklı olarak ovulasyon tetiklemesinde GnRH agonisti kullanımıyla pituiter bezden endojen olarak LH ve FSH salınımı uyarılır, bu şekilde doğal menstrüel siklus kısmen taklit edilmiş olur. Mid-siklusta oluşan FSH artışının etkileri tam olarak açıklığa kavuşturulamasada, granüloza hücrelerindeki LH reseptörlerini arttırarak korpus luteum fonksiyonu optimize etmesi önemli işlevlerinden biridir (102). Ayrıca nükleer maturasyon ve kumulus genişlemesinde rol aldığı çalışmalarda gösterilmiştir (103,104). FSH'nın sonuçlara olan pozitif etkisini araştırmak için Lamb ve ark. hCG ile birlikte bolus FSH kullanmış ve fertilizasyon oranının FSH alan hastalarda daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (105).

Düşük oosit kalitesi ya da daha az sayıda matur oosit elde edilmesi in vitro fertilizasyonda başarısız sonuçlarla ilişkilidir. Doğal fizyolojiye daha benzer bir ortam oluşturmasından dolayı GnRHa kullanımının elde edilen matur oosit sayısı ve oranını arttırdığı ileri sürülmüş bu amaçla çalışmalar yapılmıştır. Griffin ve ark. önceki stimülasyonda hCG trigger uygulanmış, %25'den daha fazla oranda immatür ve GV oosit elde edilen hastalarda, sonraki siklusta antagonist tedavi protokolü ile dual trigger uygulamışlardır (106). 27 hastayı içeren bu retrospektif çalışmada hCG'ye GnRHa eklenmesinin matur oosit sayısı ve oranını anlamlı düzeyde arttırdığını göstermişlerdir. Aynı şekilde Fabris ve ark. hastalar arası farkı minimize eden benzer çalışmaya imza atarak 81 hastayı inceledi (107). Retrospektif yaptıkları çalışma sonucunda dual trigger uygulamayla MII oosit sayısı ve oranında artış gözlemlendi. Li ve ark. yüksek ovaryan yanıtı hastalarda dual trigger uygulamasının toplanan oosit sayısını olumlu etkilediğini belirtmiş olsada MII oosit sayısı ve oranı hakkında bilgi vermedi (108). Normal yanıtı hastalarda yapılan diğer bir çalışma da toplam oosit, MII oosit sayısı ve oranında fark izlenmezken 2PN ve iyi kalite embriyo sayısının dual trigger ile arttığı bulundu (109). Seval ve ark. ise oosit sayısı ve MII sayısı bakıldığında dual trigger grubunda istatistiksel anlamlı fark buldu (5). Yapılan randomize kontrollü çalışmalarda Kim ve ark. elde edilen oosit sayılarında gruplar arası fark saptamadı (110). Mahajan ve ark.'nın 76 hasta, Decler ve ark.'nın 120 hasta ile yaptıkları randomize kontrollü çalışmalarda MII oosit sayılarında fark bulunmadı (111,112).

2PN sayısının arttığını gösteren yayınlar olsada yapılan meta-analiz sonucunda GnRHa eklenmesiyle 2PN sayısı arasında ilişki bulunmadı (113). Fertilizasyon oranının karşılaştırıldığı üç retrospektif çalışmada dual triggerın olumlu etkisi bulunmadı (106-108). Bizim çalışmamızda da MII oosit, 2PN sayısı ve fertilizasyon oranı bakımından grupların birbirlerine üstünlüğü bulunmadı.

Dual ve hCG triggerın embriyo kalitesine etkisi karşılaştırıldığında, bizim çalışmamızda ki gibi dual grubunda iyi kalite embriyo sayısının daha fazla olduğunu gösteren yayınlar olsada (5,108,112), etkisinin olmadığını gösterenler de mevcuttur (110,114).

GnRH reseptörlerinin sadece pitüiter bezde değil, endometriyum, myometriyum, fallop tüpü, over, plasenta ve implante olmamış embriyo gibi ekstrapitüiter alanlarda bulunduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (115-122). Plasental trofoblastlarda GnRH, matriks metalloproteinazı (MMPs) modüle eder. MMPs, ekstraselüler matriks degradasyonu ve trofoblast hücre invazyonunda rol alır (7). Antagonist siklus uygulanan hastalarda doğal ya da agonist siklus uygulananlara göre, endometrial stromal hücrelerde endometrial reseptivitede modülatör görevi yapan HOXA-10 ekspresyonunun belirgin azaldığı gösterildi (123). Devroey ve ark.' da antagonist siklusteki düşük implantasyon oranını endometriyum reseptivitesindeki bu değişimlerden kaynaklandığını düşündü (124). Bu bilgiyi destekler diğer bir çalışma Bukulmez ve ark. tarafından yapıldı. Agonist siklus ile antagonist siklusun karşılaştırdığı bu çalışmada GnRH antagonist tedavisi uygulananlarda embriyo kalitesi değişmemesine rağmen düşük klinik gebelik oranı gözlemlendi (125).

Schachter ve ark. GnRH agonistinin antagonistine göre reseptör afinitesinin daha fazla olduğunu öne sürdüler (126). Antagonistin bloke ettiği reseptöre GnRH agonistinin yüksek reseptör afinitesinden dolayı bağlanması sonucu endometriyal hücrelerde gerçekleşen post-reseptör etki ile implantasyonun düzelebileceği hipotezini geliştirdiler. Schachter ve ark. aynı çalışmada gebelik oranı ve devam eden gebelik oranını dual trigger uygulanan grupta anlamlı düzeyde yüksek buldular ancak canlı doğuma çalışmalarında yer vermediler (126). Lin ve ark. retrospektif 378 embriyo transferi yapılan hasta grubunda; implantasyon, klinik gebelik ve canlı doğum oranlarını dual trigger uygulamasında daha yüksek bulurken, abortus oranlarında fark izlemedi (114). Benzer sonuçlar Kim ve ark. 120 hastada yaptığı randomize kontrollü çalışmayla da gösterildi (110). Yine başka bir çalışmada da klinik gebelik ve implantasyon oranı dual trigger uygulananlarda daha yüksek bulundu (10). Decler ve ark. (112) ise bizim çalışmamızda ki gibi implantasyon oranı ve devam eden gebelik oranı açısından grupları benzer buldu.

Çalışmamızda dual trigger sonucu canlı doğan bebeklerin %67,86'sı erkek cinsiyette iken hCG triggerda bu oran %27,78 olarak bulundu. İstatistiksel olarak anlamlı olarak ($p=0,008$) canlı doğumlarda dual trigger uygulanan hastalarda

erkek bebek oranı artmış bulundu. Bildiğimiz kadarıyla trigger uygulamanın cinsiyete etkisini araştıran yayımlanmış çalışma bulunmamaktadır.

Birincil cinsiyet oranı (PSR) konsepsiyon anındaki cinsiyet, ikincil cinsiyet oranı (SSR) ise doğum anındaki cinsiyet olarak tanımlanır. Genellikle oranlar erkek cinsiyet üzerinden hesaplanır. İnsandaki doğal siklusta birincil cinsiyette erkek oranı kız oranına göre 1,7 kat daha fazladır (127). Gebelik süresince yaşanan kayıplarla bu oran düşüş göstermekte ve doğum anında erkek cinsiyet oranı 1,05 seviyesine gerilemektedir (128). Böylece cinsiyetler arası sayısal denge sağlanmaktadır. Konsepsiyon anında yüksek olan erkek cinsiyet oranının ileri maternal ve paternal yaş, biyolojik ve çevresel faktör, stres ve toksin (sigara, çevre kirliliği vb.) gibi faktörlerden etkilendiği düşünülmektedir (127). Preimplantasyon genetik tanıya dayalı çalışmalarda PSR değerlendirildiğinde IVF embriyolarında ICSI embriyolarına göre erkek cinsiyet oranı yüksek bulunmuştur (129-131). Embriyo gelişim evrelerine göre yapılan çalışmalarda ise erkek cinsiyet oranı doğumda blastokist evresinde embriyo transferi uygulananlarda klivaj evresine göre daha yüksek bulunmuştur (132,133). Chen ve ark. bu durumu erkek embriyoların daha hızlı gelişmesine bağlamıştır. Diğer etken de blastokist evresine ulaşabilme başarısının erkek embriyolarda daha kolay olması olabileceğini öne sürmüşlerdir (128). Bizim çalışmamızda transfer edilen embriyo evresiyle cinsiyet ilişkisini değerlendirdiğimizde anlamlı bir fark bulmamakla birlikte bu değerlendirme için yeterli sayıda hasta popülasyonumuz bulunmamaktadır.

Dual trigger uygulananlardaki erkek bebek oranının fazla olması, GnRHa eklenmesi ile erkek embriyoların daha hızlı gelişmesi ve embriyolog tarafından kohort içinde ki iyi kalitede olan embriyonun transfer için öncelikli seçilmiş olması bu farkı oluşturmuş olabilir. SSR'yi biyolojik ve çevresel faktörlerin etkilediği bilinmekte bunun yanında belkide trigger için GnRHa eklenmesinin değiştirdiği düşünülen endometrial ortam da etken olabilir. Dual trigger uygulamayla erkek embriyoların tutunmasını kolaylaştıran bir endometriyal ortam oluşturmuş olabilir. Dual trigger uygulananlarda doğumda erkek cinsiyet lehine bir artış olduğunu göstermek ve doğrulamak için daha geniş popülasyonda ve çok merkezli prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır

6. SONUÇ

Bizim çalışmamızda elde edilen total ve iyi kalite embriyo sayısı dual trigger uygulananlarda daha yüksek bulunurken gebelik sonuçları açısından gruplar arası fark izlenmedi. Dual trigger uygulamanın SSR üzerine etkisi olabileceği çalışmamızda gösterilmiş olup bunun doğrulanması için daha çok hastayı içeren daha geniş çaplı ve prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Literatürde son oosit maturasyonunda standart olarak tek başına hCG kullanımı ile, buna eş zamanlı GnRH α eklenmesiyle yapılan, dual triggerin ıvf başarısı ve sonuçlarının karşılaştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Fakat randomize kontrollü çalışmalar ve metaanalizler sınırlıdır. Daha iyi standartize edilmiş hasta gruplarında daha fazla sayıda hastayı kapsayan randomize kontrollü prospektif çalışmalarla ıvf sonuçları açısından dual trigger lehine elde edilen bazı olumlu bulguların geçerliliği kanıtlanabilir.

7. ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı; gonodotropin salgılatıcı hormon antagonisti kullanılan sikluslarda son oosit maturasyonunda insan koryonik gonadotropin (hCG) ile gonodotropin salgılatıcı hormon agonisti (GnRHa) kullanımının in vitro fertilizasyon/ intrasitoplazmik sperm enjeksiyon sonuçlarına etkisini araştırmaktır.

Kurgu: Retrospektif çalışma

Çalışmanın yapıldığı yer: Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Üreme Tıbbı ve İnfertilite Ünitesi Tüp Bebek Merkezi'nde gerçekleştirildi.

Materyal ve Metod: Çalışmamıza, 1 Aralık 2017 ve 31 Mayıs 2018 tarihleri arasında GnRH antagonist protokolü uygulanmış 41 yaş ve altı kadınlar dahil edilmiştir. Son oosit maturasyonunda hCG ile birlikte GnRHa uygulanmış olanlar (dual) ve yalnız hCG uygulanmışlar olarak iki grup oluşturuldu. Çalışmaya dahil edilen 295 kadının 111'i hCG grubunda, 184'ü dual grubunda incelendi. Çalışmaya başlamadan Akdeniz Üniversitesi Etik Kurul Komitesi onayı alındı.

Sonuçlar: Genel karakteristik özellikler bakımından gruplar arası fark bulunmamaktadır. Çalışmamızda elde edilen total oosit sayısı ($P = 0,085$), matur oosit sayısı ($P = 0,092$), ve fertilizasyon oranı ($P = 0,792$) açısından dual ve hCG grupları arasında fark bulunmadı. İyi kalite embriyo sayısı dual trigger uygulanan hasta grubunda yüksek bulunmasına rağmen ($P = 0,002$) klinik gebelik ve canlı doğum oranları açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Dual trigger uygulanıp canlı doğum yapan hastalarda erkek bebek oranı hCG grubuna göre daha fazla bulunmuştur ($P = 0,008$).

Yorum: Son oosit maturasyonunda dual trigger kullanımını canlı doğum oranlarını değiştirmemiştir fakat embriyo sayısı ve kalitesi üzerinde olumlu etkisi izlenmiştir. Bu sonuçlarını doğrulamak için geniş hasta grubu içeren prospektif çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: GnRH antagonist protokol, Dual tetikleme, Son oosit maturasyon, GnRH agonist, Ovaryan stimülasyon



8. ABSTRACT

Objective: To investigate whether dual triggering of final oocyte maturation with a combination of gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa) and human chorionic gonadotropin (hCG) can improve in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection (IVF/ICSI) outcomes in gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles.

Design: Retrospective study.

Setting: Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, IVF (in vitro fertilization) unit.

Material and method(s): This retrospective cohort study included women aged up to 41 years who underwent IVF/ICSI under GnRH antagonist protocol, between December 1 2017 and May 31 2018. Patients were grouped by whether oocyte maturation was triggered with GnRHa plus hCG (dual) or hCG alone. Study population included 295 women; 111 women who received hCG trigger and 184 women who received dual trigger. The study was approved by the ethics committee of, Faculty of Medicine, Akdeniz University.

Result(s): There was no difference in baseline demographics of patient receiving hCG or hCG plus GnRHa. The study showed statistically insignificant differences between dual group versus hCG group in terms of the number of oocytes retrieved ($P = 0,085$), the number of mature oocytes ($P = 0,092$), fertilization rate ($P = 0,792$). The number of high-quality embryos ($P = 0,002$) was higher with dual group compared with hCG-only group, nevertheless, the clinical pregnancy and the live delivery rate did not differ significantly between the groups ($P = 0,826$). Male sex rate within live delivery was higher in dual trigger group compare with hcg-only group ($P = 0,008$).

Conclusion(s): Dual trigger of oocyte maturation was associated with no change in the live delivery rate but was associated with improvements in the quantity and quality of embryos. More prospective studies involving large patient groups are needed to verify the results of this study.

Key words: GnRH antagonist protocol, Dual trigger, Final oocyte maturation, GnRH agonist, Ovarian stimulation



9. KAYNAKLAR

1. Eppig JJ, Wigglesworth K, Pendola F, Hirao Y. Murine oocytes suppress expression of luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acid by granulosa cells. *Biology of reproduction*,1997; 56.4: 976-984.
2. Morgan, F. J., Birken, S., & Canfield, R. E. The amino acid sequence of human chorionic gonadotropin. The alpha subunit and beta subunit. *Journal of Biological Chemistry*, 1975; 250.13: 5247-5258.
3. Orvieto R. Triggering final follicular maturation-hCG, GnRH-agonist or both, when and to whom? *Journal of ovarian research*, 2015; 8.1: 60.
4. Gonen Y, Balakier H, Powell W, Csaper RF. Use of gonadotropin-releasing hormone agonist to trigger follicular maturation for in vitro fertilization. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*,1990; 71.4: 918-922.
5. Seval MM., Özmen B, Atabekoğlu C, Şükür YE, Şimşir C, Kan Ö, Sönmezer M. Dual trigger with gonadotropin-releasing hormone agonist and recombinant human chorionic gonadotropin improves in vitro fertilization outcome in gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 2016; 42.9: 1146-1151.
6. Liu, J., MacCalman, C. D., Wang, Y. L., & Leung, P. C. Promotion of human trophoblasts invasion by gonadotropin-releasing hormone (GnRH) I and GnRH II via distinct signaling pathways. *Molecular Endocrinology*, 2009; 23.7: 1014-1021.
7. Liu, J., Cao, B., Li, Y. X., Wu, X. Q., & Wang, Y. L. GnRH I and II up-regulate MMP-26 expression through the JNK pathway in human cytotrophoblasts. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2010; 8.1: 5.

8. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Gynecologic Practice and Practice Committee. Female age-related fertility decline. Committee Opinion No. 589. *Fertil Steril* 2014; 101:633.
9. Zinaman MJ, Clegg ED, Brown CC, et al. Estimates of human fertility and pregnancy loss. *Fertil Steril* 1996; 65:503.
10. Slama R, Hansen OK, Ducot B, et al. Estimation of the frequency of involuntary infertility on a nation-wide basis. *Hum Reprod* 2012; 27:1489.
11. Chandra A, Copen CE, Stephen EH. Infertility and impaired fecundity in the United States, 1982-2010: data from the National Survey of Family Growth. *Natl Health Stat Report* 2013; 1-19
12. WHO Technical Report Series. Recent Advances in Medically Assisted Conception Number 820, 1992, pp 1-111.
13. Fritz MA, Speroff L, Kadın İnfertilitesi Klinik Jinekolojik Endokronoloji ve İnfertilite (Çeviri Editörü Günalp S). 8th ed. Güneş Tıp Kitabevleri 2014; 27: 1137-90
14. Brosens I, Gordts S, Valkenburg M ve ark. Investigation of the infertile couple: when is the appropriate time to explore female infertility? *Hum Reprod.* 2004;19(8):1689-92
15. Pritts EA. Fibroids and İnfertilite: a systematic review of the evidence, *Obstet Gynecol Survey* 2001; 56:483.
16. Donnez J, Jadoul P. What are the implications of myomas on infertility? A need for debate? *Hum Reprod* 2002; 17:1424.
17. Björndahl L, Mortimer D, Barratt CL, Castilla JA, Menkveld R, Kvist U, Haugen TB. A practical guide to basic laboratory andrology. Cambridge University Press, 2010
18. Kadiođlu, A. WHO Laboratuvar El Kitabı. İnsan semeninin incelenmesi ve işlemlerden geçirilmesi. *Türk Üroloji Derneđi*, 2011, 1-50.
19. Van Rooij IA, Broekmans FJ, Te Velde ER, Fauser BC, Bancsi LF, De Jong FH, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Human Reproduction*, 2002; 17.12: 3065-3071.

20. Javelaud D., Mauviel A. Mammalian transforming growth factor- β s: smad signaling and physio-pathological roles. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 2004;36(7):1161–1165.
21. Seifer DB, Lambert-Messerlian G, Hogan JW, Gardiner AC, Blazar AS, Berk CA. Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome. *Fertility and Sterility*. 1997; 67.1: 110-114.
22. Visser, J. A., de Jong, F. H., Laven, J. S., & Themmen, A. P. (2006). Anti-Mullerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction*, 2006; 131.1: 1-9.
23. Mutlu MF, Erdem A. Evaluation of ovarian reserve in infertile patients. *Journal of the Turkish German Gynecological Association*, 2012; 13.3:196.
24. Scheffer GJ, Broekmans FJ, Dorland M, Habbema JD, Looman CW, te Velde ER, Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility, *Fertil Steril* 1999; 72:845
25. Hsu A, Army M, Knee AB, Bell C, Cook E, Novak A L, Grow DR. Antral follicle count in clinical practice: analyzing clinical relevance. *Fertility and sterility*, 2011; 95.2: 474-479.
26. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Human Reproduction Update*. 2006;12(6):685-718.
27. Jayaprakasan K, Campbell B, Hopkisson J, Johnson I, Raine-Fenning N. A prospective, comparative analysis of anti-Müllerian hormone, inhibin-B, and three-dimensional ultrasound determinants of ovarian reserve in the prediction of poor response to controlled ovarian stimulation. *Fertility and sterility*, 2010; 93.3: 855-864.
28. The Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Diagnostic evaluation of the infertile woman: a committee opinion. *Fertility and Sterility*. 2012;98(5):1103-1111.

29. Jordan J, Craig K, Clifton DK, Soules MJ. Luteal phase defect: the sensitivity and specificity of diagnostic methods in common use. *Fertility and Sterility*.1994;62(1):54-62
30. Coutifaris C, Myers ER, Guzick DS, Diamond MP, Carson SA, Legro RS. Histologic dating of timed endometrial biopsy tissue is not related to fertility status. *Fertility and Sterility*. 2004;82(5):1264-1272
31. Schankath AC, Fasching N, Urech-Ruh C, Hohl MK, Kubik-Huch RA. Hysterosalpingography in the workup of female infertility: indications, technique and diagnostic findings. *Insights into imaging*, 2012; 3.5: 475-483.
32. Spring D., Barkan HE, Pruyn SC. Potential therapeutic effects of contrast materials in hysterosalpingography: a prospective randomized clinical trial. *Radiology*,2000; 214.1: 53-57.
33. Luttjeboer F, Harada T, Hughes E, Johnson N, Lilford R, Mol BW. Tubal flushing for subfertility. *Cochrane Database of Syst Rev*. 2007; 18.3:CD003718.
34. Rajesh H, Lim SL, Yu SL. Hysterosalpingo-foam sonography: patient selection and perspectives. *International journal of women's health*, 2017; 9, 23.
35. Yucebilgin MS, Aktan E, Bozkurt K, et al. Comparison of hydrosalpingography and diagnostic hysteroscopy in evaluation of infertile patients. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol*. 2004; 31:56.
36. Gomel V, Taylor PJ. Diagnostic laparoscopy in infertility. In Key WR, Chang RJ, Rebar RW, Soules MR. *Infertility evaluation treatment*. 330-348. W.B. Saunders,1995.
37. Steptoe PC, Edwards RG, Reimplantation of a human embryo with subsequent tubal pregnancy, *Lancet* 1976; 1:880.
38. Fritz MA, Speroff L, Kadın İnfertilitesi Klinik Jinekolojik Endokronoloji ve İnfertilite (Çeviri Editörü Günalp S). 8th ed. Güneş Tıp Kitabevleri 2014; 32: 1331-82

39. Centers for Disease Control and Prevention, 2007 Assisted Reproductive Technology Success Rates. National Summary and Fertility Clinic Reports. Atlanta, GA, 2009.
40. Reich H, Abrao MS, Post-surgical ovarian failure after laparoscopic excision of bilateral endometriomas: is this rare problem preventable?, *Am J Obstet Gynecol*, 2006; 195:339.
41. Thonneau P, Marchand S, Tallec A, Ferial ML, Ducot B, Lansac J, Lopes P, Tabaste JM, Spira A, Incidence and main causes of infertility in a resident population (1,850,000) of three French regions (1988-1989), *Hum Reprod*, 1991; 6:811.
42. Schlegel PN, Girardi SK, Clinical review 87: In vitro fertilization for male factor infertility, *J Clin Endocrinol Metab*, 1997; 82:709.
43. Matsumoto AM. Spermatogenesis, In *Reproductive endocrinology, surgery and technology*. Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z. Lippincott-Raven; New York. 1996; 359-84
44. Irvine DS. Epidemiology and aetiology of male infertility. *Human reproduction*, 13(suppl_1), 1998; 33-44.
45. Lee RK, Hou JW, Ho HY, Hwu YM, Lin MH, Tsai YC, Su JT, Sperm morphology analysis using strict criteria as a prognostic factor in intrauterine insemination, *Int J Androl*, 2002; 25:277.
46. Ashrafi, M., Madani, T., Tehranian, A. S., & Malekzadeh, F. Follicle stimulating hormone as a predictor of ovarian response in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for IVF. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 2005; 91.1: 53-57.
47. Centers for Disease Control and Prevention, 2007 Assisted Reproductive Technology Success Rates. National Summary and Fertility Clinic Reports. Atlanta, GA, 2009.
48. Oktay K, Rodriguez-Wallberg K, Schover L, Preservation of fertility in patients with cancer, *New Engl J Med*, 2009;360:2681; author reply 2682.
49. Meldrum DR, GnRH agonists as adjuncts for in vitro fertilization, *Obstet Gynecol Surv*, 1989; 44:314.

50. Edwards RG, Lobo R, Bouchard P, Time to revolutionize ovarian stimulation, *Hum Reprod*,1996; 11:917.
51. Janssens RM, Lambalk CB, Vermeiden JP, Schats R, Bernards JM, Rekers-Mombarg LT, Schoemaker J, Dose-finding study of triptorelin acetate for prevention of a premature LH surge in IVF: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study, *Hum Reprod*, 2000; 15:2333.
52. Meldrum DR, Wisot A, Hamilton F, Gutlay AL, Huynh D, Kempton W. Timing of initiation and dose schedule of leuprolide influence the time course of ovarian suppression, *Fertil Steril* 1988; 50: 400.
53. Urbancsek J, Witthaus E. Midluteal busserelin is superior to early follicular phase busserelin in combined gonadotropin-releasing hormone analog and gonadotropin stimulation in in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1996; 65: 966.
54. Ueno J, Oehninger S, Bryzski KT, Acosta AA, Philput B, Muasher SJ. Ultrasonographic appearance of the endometrium in natural and stimulated in vitro fertilization cycles and its correlation with outcome, *Hum Reprod* 1991; 6: 901.
55. Bergh C, Hillensjo T, Nilsson L. Sonographic evaluation of the endometrium in in vitro fertilization IVF cycles. A way to predict pregnancy ? *Acta Obstet Gynecol Scand* 1992; 71: 624.
56. Oliveira JB, Baruffi RL, Mauri AL, Petersen CG, Borges MC, Frango JG, Jr. Endometrial ultrasonography as a predictor of pregnancy in an in vitro fertilization programme after ovarian stimulation and gonadotropin-releasing hormone and gonadotrophins, *Hum Reprod* 1997; 12: 2515.
57. Noyes N, Liu HC, Sultan K, Schattman G, Rosenwaks Z. Endometrial thickness appears to be a significant factor in embryo implantation in in vitro fertilization, *Hum Reprod* 1995; 10: 919.
58. Dickey RP, Olar TT, Curole DN, Taylor SN, Rye PH. Endometrial pattern and thickness associated with pregnancy outcome after assisted reproductive technologies, *Hum Reprod* 1992; 7: 418.

59. Fanchin R, Righini C, Ayoubi JM, Olivennes F, de Ziegler D, Frydman R. New look at endometrial echogenicity: objective computer- assisted measurements predict endometrial receptivity in in vitro fertilization – embryo transfer, *Fertil Steril* 2000; 74: 274.
60. Check JH, Nowroozi K, Choe J, Lurie D, Dietterich C. The effect of endometrial thickness and echo pattern on in vitro fertilization outcome in donor oocyteembryo transfer cycle, *Fertil Steril* 1993; 59: 72.
61. Weissman A, Gotlieb L, Casper RF. The detrimental effect of increased endometrial thickness on implantation and pregnancy rates and outcome in an in vitro fertilization program, *Fertil Steril* 1999; 71: 147.
62. Dietterich C, Check JH, Choe JK, Nazari A, Lurie D. Increased endometrial thickness on the day of human chorionic gonadotropin injection does not adversely affect pregnancy or implantation rates following in vitro fertilization-embryo transfer, *Fertil Steril* 2002; 77: 781.
63. Yakın K, Akarsu C, Kahraman S. Cycle lumping or-sampling a witches' brew?, *Fertil Steril* 2000; 73: 175.
64. El-Nemr A, Bhide M, Khalifa Y, Al-Mizyen E, Gillott C, Lower AM, Al-Shawaf T, Grudzinskas JG. Clinical evaluation of three different gonadotrophin-releasing hormone analogues in an IVF programme: a prospective study, *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002; 103: 140.
65. Albuquerque LE, Saconato H, Maciel MC, Baracat EC, Freitas V. Depot versus daily administration of GnRH agonist protocols for pituitary desensitization in assisted reproduction cycles: a Cochrane Review, *Hum Reprod*, 2003, 18.10: 2008-2017.
66. Scott RT, Navot D, Enhancement of ovarian responsiveness with microdoses of gonadotropin-releasing hormone agonist during ovulation induction of in vitro fertilization, *Fertil Steril*, 1994; 61:880.
67. Schoolcraft W, Schlenker T, Gee M, Stevens J, Wagley L, Improved controlled ovarian hyperstimulation in poor responder in vitro fertilization patients with a microdose follicle-stimulating hormone fl are, growth hormone protocol, *Fertil Steril*, 1997, 67.1: 93-97

68. Surrey ES, Bower J, Hill DM, Ramsey J, Surrey MW, Clinical and endocrine effects of a microdose GnRH agonist fl are regimen administered to poor responders who are undergoing in vitro fertilization, *Fertil Steril*,1998, 69:419.
69. Albano C, Smitz J, Camus M, Riethmuller-Winzen H, Van Steirteghem A, Devroey P, Comparison of different doses of gonadotropin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during controlled ovarian hyperstimulation, *Fertil Steril*, 1997, 67:917,
70. The Ganirelix Dose-Finding Study Group, A double-blind, randomized, dose-fi nding study to assess the efficacy of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462) to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone (Puregon). *Hum Reprod*,1998, 13:3023,
71. Itskovitz-Eldor J, Kol S, Mannaerts B, Use of a single bolus of GnRH agonist triptorelin to trigger ovulation after GnRH antagonist ganirelix treatment in women undergoing ovarian stimulation for assisted reproduction, with special reference to the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: preliminary report: short communication, *Hum Reprod*,2000, 15.9: 1965-1968.
72. Olivennes F, Cunha-Filho JS, Fanchin R, Bouchard P, Frydman R, The use of GnRH antagonists in ovarian stimulation, *Hum Reprod Update* 8:279, 2002.
73. Albano C, Felberbaum RE, Smitz J, Riethmuller-Winzen H, Engel J, Diedrich K, Devroey P, Ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-antagonist cetrorelix and the LHRH-agonist buserelin. European Cetrorelix Study Group, *Hum Reprod*,2000, 15:526.
74. Ludwig M, Katalinic A, Diedrich K, Use of GnRH antagonists in ovarian stimulation for assisted reproduction tecnologies compared to the long protocol, Meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet* 2001; 265:175.

75. Kahraman S, Yakın K. Ovulasyon indüksiyonu. Esin Ofset, 2000.
76. Loraine, JA. Assays of human chorionic gonadotrophin in relation to clinical practice. *Reproduction*, 1966; 12.1: 23-31.
77. Human Recombinant Luteinizing Hormone Is as Effective as, But Safer Than, Urinary Human Chorionic Gonadotropin in Inducing Final Follicular Maturation and Ovulation in In Vitro Fertilization Procedures: Results of a Multicenter Double-Blind Study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 86, Issue 6, 1 June 2001, 2607–2618.
78. Humaidan P, Papanikolaou EG, Tarlatzis BC. GnRHa to trigger final oocyte maturation: a time to reconsider. *Hum Reprod* 2009; 24:2389-94.
79. Akman MA, Erden HF, Tosun SB, Bayazit N, Aksoy E, Bahceci M. Comparison of agonistic flare –up-protocol and antagonistic multipl dose protocol in ovaryan stimulation of poor responders: results of a prospective randomized trial. *Hum Reprod* 16: 868- 870, 2001.
80. Olivennes F, Alvarez J, Bouchard P, Fanchin R, Salat-Baroux J, Frydman R. The use of a GnRH antagonist (Cetrorelix) in a single dose protocol in IVF embryo transfer: adose finding study of 3 versus 2 mg. *Human Reproduction*, 13: 2411-2414, 1998.
81. Uygur D, Alkan RN, Batioglu S, Recurrent empty follicule syndrome, *J Assist Reprod Genet* 2003;20:390.
82. European Recombinant LH Study Group. Human recombinant luteinizing hormone is as effective as, but safer than, urinary human chorionic gonadotropin in inducing final follicular maturation and ovulation in in vitro fertilization procedures: results of a multicenter double-blind study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2001; 86.6: 2607-2618.
83. Bennett SJ, Waterstone JJ, Cheng WC, Parsons J, Complications of transvaginal ultrasound-directed follicle aspiration: a review of 2670 consecutive procedures, *J Assist Reprod Genet* 10:72, 1993.
84. Ludwig M, Doody KJ, Doody KM. Use of recombinant human chorionic gonadotropin in ovulation induction. *Fertil Steril* 79: 1051- 1059, 2003

85. Balaban B, Urman B. Embryo culture as a diagnostic tool. *Reprod Biomed Online* 2003; 7:671-82.
86. Balaban B, Urman B, Alatas C, Mercan R, Aksoy S, Isiklar A. Blastocyst-stage transfer of poor-quality cleavage-stage embryos results in higher implantation rates. *Fertil Steril* 2001; 75:514-8.
87. Edwards RG, Fishel SB, Cohen J, Fehilly CB, Purdy JM, Slater JM, Steptoe PC, Webster JM, Factors influencing the success of in vitro fertilization for alleviating human infertility, *J In Vitro Fert Embryo Transf*, 1987, 1:3.
88. Egbase PE, al-Sharhan M, al-Othman S, al-Mutawa M, Udo EE, Grudzinkas JG, Incidence of microbial growth from the tip of the embryo transfer catheter after embryo transfer in relation to clinical pregnancy rate following in-vitro fertilization and embryo transfer, *Hum Reprod*, 1996, 11:1687.
89. Fanchin R, Harmas A, Benaoudia F, Lundkvist U, Olivennes F, Frydman R, Microbial flora of the cervix assessed at the time of embryo transfer adversely affects in vitro fertilization outcome, *Fertil Steril*, 1998, 70:866.
90. Schoolcraft WB, Surrey ES, Gardner DK, Embryo transfer techniques and variables affecting success. *Fertil Steril* 2001; 76:863.
91. Botta G, Grudzinkas G, Is a prolonged bed rest following embryo transfer useful?, *Hum Reprod*, 1997, 12:2489.
92. Purcell KJ, Schembri M, Telles TL, Fujimoto VY, Cedars MI, Bed rest after embryo transfer: a randomized controlled trial, *Fertil Steril* ,2007, 87:1322.
93. Denomme MM, Mann MR. Genomic imprints as a model for the analysis of epigenetic stability during assisted reproductive technologies. *Reproduction* 2012; 144:393-409.
94. Pinborg A, Loft A, Rasmussen S, Schmidt L, Langhoff-Roos J, Greisen G, Andersen AN. Neonatal outcome in a Danish national cohort of 3438 IVF/ICSI and 10,362 non-IVF/ICSI twins born between 1995 and 2000. *Hum Reprod* 2004; 19:435-41.

95. Moll AC, Imhof SM, Cruysberg JR, Schouten-van Meeteren AY, Boers M, van Leeuwen FE. Incidence of retinoblastoma in children born after in-vitro fertilisation. *Lancet* 2003; 361:309-10.
96. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertility and Sterility*. 2008; 90.3:188-93.
97. Mochtar MH, Hogerzeil HV, Mol BW. Progesterone alone versus progesterone combined with hCG as luteal support in GnRHa\HMG induced IVF cycles: a randomized clinical trial. *Hum Reprod* 11: 1602-1605, 1996
98. Çiçek M. N., Mollamahmutoğlu L. A'dan Z'ye Yardımcı üreme teknikleri. Bölüm 35; 414, 2009.
99. Rizk B, Aboulghar MA. Classification, pathophysiology and management of ovarian hyperstimulation syndrome. In: Brinsden, P, ed. (1999). A textbook of in vitro fertilization and assisted reproduction, second edition. Carnforth, UK: The Parthenon Publishing Group, 1999: Chapter 11, 131-155
100. Embryology, ESHRE Special Interest Group, et al. Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Reproductive biomedicine online*, 2011; 22.6: 632-646.
101. Capalbo A, Rienzi L, Cimadomo D, Maggiulli R, Elliott T, Wright G, Ubaldi FM. Correlation between standard blastocyst morphology, euploidy and implantation: an observational study in two centers involving 956 screened blastocysts. *Human reproduction*, 2014; 29:6. 1173-1181.
102. Humaidan P, Bredkjaer HE, Bungum L et al. GnRH agonist (buserelin) or hCG for ovulation induction in GnRH antagonist IVF/ICSI cycles: A prospective randomized study. *HumReprod* 2005; 20: 1213–1220.
103. Andersen CY, Leonardsen L, Ulloa-Aguirre A, Barrios-DeTomasi J, Moore L, Byskov AG. FSH-induced resumption of meiosis in mouse oocytes: Effect of different isoforms. *Mol Hum Reprod* 1999; 5: 726 –731.

104. Strickland S, Beers WH. Studies on the role of plasminogen activator in ovulation. In vitro response of granulosa cells to gonadotropins, cyclic nucleotides, and prostaglandins. *J Biol Chem* 1976; 251: 5694–5702.
105. Lamb, J. D., Shen, S., McCulloch, C., Jalalian, L., Cedars, M. I., & Rosen, M. P. Follicle-stimulating hormone administered at the time of human chorionic gonadotropin trigger improves oocyte developmental competence in in vitro fertilization cycles: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Fertility and sterility*, 2011; 95.5: 1655-1660.
106. Griffin, D., Feinn, R., Engmann, L., Nulsen, J., Budinetz, T., & Benadiva, C. Dual trigger with gonadotropin-releasing hormone agonist and standard dose human chorionic gonadotropin to improve oocyte maturity rates. *Fertility and sterility*, 2014; 102.2: 405-409.
107. Fabris, A. M., Cruz, M., Legidos, V., Iglesias, C., Muñoz, M., & García-Velasco, J. A. Dual triggering with gonadotropin-releasing hormone agonist and standard dose human chorionic gonadotropin in patients with a high immature oocyte rate. *Reproductive Sciences*, 2017; 24.8: 1221-1225
108. Li, S., Zhou, D., Yin, T., Xu, W., Xie, Q., Cheng, D., & Yang, J. Dual trigger of triptorelin and HCG optimizes clinical outcome for high ovarian responder in GnRH-antagonist protocols. *Oncotarget*, 2018; 9.4: 5337.
109. Zhou, X., Guo, P., Chen, X., Ye, D., Liu, Y., & Chen, S. Comparison of dual trigger with combination Gn RH agonist and hCG versus hCG alone trigger of oocyte maturation for normal ovarian responders. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 2018; 141.3: 327-331.
110. Kim CH, Ahn JW, You RM, Kim SH, Chae HD, Kang BM. Combined administration of gonadotropin-releasing hormone agonist with human chorionic gonadotropin for final oocyte maturation in GnRH antagonist cycles for in vitro fertilization. *J Reprod Med*, 2014; 59:63–68
111. Mahajan N, Sharma S, Arora PR, Gupta S, Rani K, Naidu P. Evaluation of dual trigger with gonadotropin-releasing hormone agonist and human chorionic gonadotropin in improving oocyte maturity rates: a prospective randomized study. *J Hum Reprod Sci*, 2016; 9:101–106

112. Decler W, Osmanagaoglu K, Seynhave B, et al. Comparison of hCG triggering versus hCG in combination with a GnRH agonist: a prospective randomized controlled trial. *Facts Views Vis Obgyn*, 2014; 6:203–9
113. Chen, C. H., Tzeng, C. R., Wang, P. H., Liu, W. M., Chang, H. Y., Chen, H. H., & Chen, C. H. Dual triggering with GnRH agonist plus hCG versus triggering with hCG alone for IVF/ICSI outcome in GnRH antagonist cycles: a systematic review and meta-analysis. *Archives of gynecology and obstetrics*, 2018; 298.1: 17-26.
114. Lin MH, Wu FS, Lee RK, Li SH, Lin SY, Hwu YM. Dual trigger with combination of gonadotropin-releasing hormone agonist and human chorionic gonadotropin significantly improves the live-birth rate for normal responders in GnRH-antagonist cycles. *Fertil Steril*, 2013; 100:1296–1302
115. Kim YA, Kim MR, Lee JH, Kim JY, Hwang KJ, Kim HS, Lee ES. Gonadotropin releasing hormone agonist reduces aromatase cytochrome P450 and cyclooxygenase-2 in ovarian endometrioma and eutopic endometrium of patients with endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2009; 68:73–81.
116. Levens E, Luo X, Ding L, Williams RS, Chegini N. Fibromodulin is expressed in leiomyoma and myometrium and regulated by gonadotropin-releasing hormone analogue therapy and TGF beta through Smad and MAPK-mediated signalling. *Mol Hum Reprod* 2005; 11:489–94.
117. Casan EM, Raga F, Bonilla-Musoles F, Polan ML. Human oviductal gonadotropin-releasing hormone: possible implications in fertilization, early embryonic development, and implantation. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:1377–81.
118. Kang SK, Choi KC, Tai CJ, Auersperg N, Leung PC. Estradiol regulates gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its receptor gene expression and antagonizes the growth inhibitory effects of GnRH in human ovarian surface epithelial and ovarian cancer cells. *Endocrinology* 2001; 142: 580–8.

119. Weiss JM, Krautmacher B, Polack S, Diedrich K, Ortmann O. Actions of GnRH antagonists on IGF-II, IGF-binding protein-2 and pregnancy-associated plasma protein-A in human granulosa-lutein cells. *Eur J Endocrinol* 2003; 149:31–7.
120. Chou CS, Beristain AG, MacCalman CD, Leung PC. Cellular localization of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) I and GnRH II in first-trimester human placenta and decidua. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:1459–66.
121. Lin LS, Roberts VJ, Yen SS. Expression of human gonadotropin releasing hormone receptor gene in the placenta and its functional relationship to human chorionic gonadotropin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:580–5.
122. Jelodar GA, Gholami S, Jafarpour F. Effect of GnRH on guinea pig endometrium at preimplantation stage. *Indian J Exp Biol* 2007; 45:242–6.
123. Rackow BW, Kliman HJ, Taylor HS. GnRH antagonists may affect endometrial receptivity. *Fertil Steril* 2008; 89: 1234 –1239.
124. Devroey P, Bourgain C, Macklon NS, Fauser BC. Reproductive biology and IVF: Ovarian stimulation and endometrial receptivity. *Trends Endocrinol Metab* 2004; 15: 84 –90.
125. Bukulmez O, Carr BR, Doody KM, Doody KJ. Serum cetrorelix concentrations do not affect clinical pregnancy outcome in assistedreproduction. *Fertil Steril* 2008; 89:74 –83.
126. Schachter M, Friedler S, Ron-El R, et al. Can pregnancy rate be improved in gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist cycles by administering GnRH agonist before oocyte retrieval? A prospective, randomized study. *Fertil Steril*. 2008; 90:1087–1093.
127. Pergament E, Toydemir PB, Fiddler M. Sex ratio: a biological perspective of ‘Sex and the City’ *Reproductive biomedicine online*. 2002; 5:43-46.
128. Chen, M., Du, J., Zhao, J., Lv, H., Wang, Y., Chen, X., et al. The sex ratio of singleton and twin delivery offspring in assisted reproductive technology in China. *Scientific reports*, 2017; 7.1: 7754.

129. Griffin DK, et al. Clinical experience with preimplantation diagnosis of sex by dual fluorescent in situ hybridization. *J Assist Reprod Genet.* 1994; 11:132–143.
130. Vilorio T, et al. Smoking habits of parents and male: female ratio in spermatozoa and preimplantation embryos. *Hum Reprod.* 2005; 20:2517–2522.
131. Alfarawati S, et al. The relationship between blastocyst morphology, chromosomal abnormality, and embryo gender. *Fertil Steril.* 2011; 95:520–524.
132. Luke B, et al. The sex ratio of singleton offspring in assisted-conception pregnancies. *Fertil Steril.* 2009; 92:1579–1585.
133. Dean JH, Chapman MG, Sullivan EA. The effect on human sex ratio at birth by assisted reproductive technology (ART) procedures—an assessment of babies born following single embryo transfers, Australia and New Zealand, 2002-2006. *BJOG.* 2010; 117:1628–1634.

10. EKLER

Ek-1: Etik Kurul Onayı

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
2018

KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Morfoloji Binası A Blok 1. Kat No: A1-05 Kampüsü /ANTALYA
	TELEFON	0 (242) 249 69 54
	FAKS	0 (242) 249 69 03
	E-POSTA	etik@akdeniz.edu.tr
	ETİK KURUL KODU	2013-KAER-30
PRİM YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Murat ÖZKİNCİ	
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Antagon Sıklaş Yığılı Hastalarda Ovulasyon Tıngünde HCG Kullanımı ile HCG+ Gebeliği Agonisti (Korionadotropin Alfa 250 mg ve Korionadotropin Alfa 250 mg + Triptorelin 0.2 mg) Uygulanmasının IVF Sonuçları (Toplanan Oosit Sayısı, Elde Edilen M2 Oosit Sayısı, Fertilizasyon Oranı, İmplantasyon Oranı, Gebelik ve Canlı Doğum Oranları)	
DESTEKLEVCİ		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 437	Tarih: 27.06.2018
	Yukarıda bilgileri verilen çalışmanın yapılmasında bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar edilmiştir.	

Prof. Dr. İsmail İNANCI
Etik Kurul Başkanı

Dr. Öğr. Üyesi M. Emin ÖZDİĞİ Başkan Yardımcısı	Doç. Dr. Murat ÇARPILAT Üye	Prof. Dr. İbrahim İNAN Üye (Başlı)
Prof. Dr. Volkan YAZIŞI Üye	Doç. Dr. Mustafa AKINCI Üye	Prof. Dr. Özgür İBRAHİM Üye
Doç. Dr. Elif Nur İZMİR Üye	Doç. Dr. Dilek KIPMAK KÖRGEN Üye (Başlı)	Doç. Dr. Buse NUR Üye
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet TURKAY Üye	Dr. Öğr. Üyesi HÜLAL Üye (Başlı)	Turgut ALTUN Üye
		Av. Mustafa AÇIK Üye (Başlı)