

**T.C.**  
**NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ**  
**MERAM TIP FAKÜLTESİ**  
**KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**İNVİTRO FERTİLİZASYON TEDAVİ PROTOKOLÜ UYGULANAN  
İNFERTİL HASTALARDA SERVİKS KANSERİ RİSKİNİN  
ARAŞTIRILMASINA YÖNELİK VAJİNAL SMEAR  
ÖRNEKLERİNDE MİCRONUCLEUS TARAMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR.FEYZA ÖZÇELİK**

**KONYA-2013**

**T.C.**  
**NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ**  
**MERAM TIP FAKÜLTESİ**  
**KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**İNVİTRO FERTİLİZASYON TEDAVİ PROTOKOLÜ UYGULANAN  
İNFERTİL HASTALARDA SERVİKS KANSERİ RİSKİNİN  
ARAŞTIRILMASINA YÖNELİK VAJİNAL SMEAR  
ÖRNEKLERİNDE MİCRONUCLEUS TARAMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR.FEYZA ÖZÇELİK**

**DANIŞMANI: DOÇ.DR.KAZIM GEZGİNÇ**

**KONYA-2013**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmalarım süresince, tezimin labaratuvar kısmında tüm özverisiyle çalışan Yrd.Doç.Dr.Ayşegül Zamani hocamıza ve ekip arkadaşlarına ve klinik hocalarım Prf.Dr.Mehmet Çolakoğlu,Prf.Dr.Metin Çapar,Prf.Dr.Ali Acar,Prf.Dr.Hüseyin Görkemli,Doç.Dr.Kazım Gezginç, Doç.Dr.Harun Toy,Doç.Dr.Osman Balcı ve Yrd.Doç.Dr.Rengin Karataylı hocalarımıza,

Tezimin hazırlanmasında ve asistanlık süresince yaşadığım tüm zorluklarda yanımda olup desteğini hep hissettiren sevgili eşime,

Beni yalnız bırakmayan yanımda olan sevgili aileme,

En içten teşekkürlerimi sunarım...

Eylül 2013-09-20

DR.FEYZA ÖZÇELİK

## ÖZET

### İN VİTRO FERTİLİZASYON TEDAVİ PROTOKOLÜ UYGULANAN İNFERTİL HASTALARDA SERVİKS KANSERİ RİSKİNİN ARAŞTIRILMASINA YÖNELİK VAJİNAL SMEAR ÖRNEKLERİNDE MİCRONUCLEUS TARAMASI, DR.FEYZA ÖZÇELİK, UZMANLIK TEZİ, KONYA, 2013

**Amaç:** Bu çalışmamızdaki amaç, infertilite tedavisinde kullanılan IVF protokolü sonrası serviks kanseri riski artıyor mu incelemektir.

**Yöntem:** Çalışmamızda, IVF protokolü uygulanan ve gebe kalmayan 15 hastadan öncesinde ve sonrasında smear örnekleri alınıp, 15 kontrol grubu ile karşılaştırıp tedavi protokolü ile ilişkili olarak vajinal smear örneklerinde kanser tarama testi olarak kullanıma girmiş olan micronucleus taraması yapıldı. Heriki gruba dahil edilen kişiler sigara kullanmayan, ek hastalığı olmayan ve daha önce radyasyon almamış, smear örnekleri temiz olanlardan oluşmaktadır. Hazırlanan preparatlar 1000x(objektif=100x oküler=10x) büyütmede her bir kimsede totalde 2000 hücre sayılarak analiz edildi. Mikronükleuslar, Stich ve Rosin'nin kriterlerine göre değerlendirildi. Sadece tek düşmüş, üst üste yerleşim göstermeyen, katlanmamış hücreler sayıldı. Sayılırken düzgün sınırları olan, sitoplazmanın içinde yerleşim gösteren çekirdekle aynı ve biraz daha az boyanma yoğunluğuna sahip, çekirdeğin üçte ikisinden küçük ebatta olan yapılar mikronükleus olarak değerlendirildi. Mikronükleus (MN), iki nükleuslu hücreleri (BNC), kırık yumurta hücreleri (BEC) ve tomurcuklu hücrelerin(BC) frekansı sonuç olarak rapor edildi.

**Bulgular:** IVF protokolü uygulaması öncesi ve sonrası grupta sonuç değerlendirilmiş olup micronucleus alt grubu ve veya varyasyonları olan BNC, BEC VE BC değerlerinde anlamlı fark bulunmamış olup sadece MN P değeri 0.001 olup anlamlı kabul edilmiştir. IVF protokolü uygulaması öncesi hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırılmış olup MN, BEC, BC, BNC grupları arasında p değeri açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. IVF protokolü uygulandıktan sonra hasta grubu ile kontrol grubu vajinal smear örnekleri karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak MN P değeri 0.001 olup anlamlı kabul edilmiştir. BNC, BEC, BC P değerleri 0.005 değerinden büyük olup anlamsız kabul edilmiştir.

**Sonuç:** Sonuç olarak kontrol grubu 15 hastadan alınan örnekle, 15 ıvf protokolü uygulaması sonrası ve öncesi karşılaştırıldığında micronucleus p değerinde anlamlı bir artış olduğu ( $p < 0.005$ ) ama varyantları olan BNC, BC, BEC P değerlerinde anlamlı bir fark olmadığı izlenmiştir ( $p > 0.005$ ).

**Anahtar Kelimeler:** IVF, SERVİKS CA, MİCRONUCLEUS

## ABSTRACT

### IN VITRO FERTILIZATION TREATMENT PROTOCOL IMPLEMENTATION IN INFERTILE PATIENTS CERVICAL CANCER RISK RESEARCH ORIENTED IN THE VAGINAL SMEAR SAMPLES THE MICRONUCLEUS SCAN, FEYZA ÖZÇELİK, SPECIAL PROJECT, KONYA, 2013

**Aim:** Aim of this study was, in the treatment of infertility, IVF protocol used to examine the risk of cervical cancer been increasing.

**Methods:** In this study, 15 nonpregnant patients underwent IVF protocol smear samples were taken before and after, to compare with a control group of 15 smear samples of vaginal cancer associated with treatment protocols which are used as a screening test was performed micronucleus. Both groups are included in the non-smoking people, additional disease and previously received radiation, smear samples consists of clean ones.

The cells were examined with a binocular light microscope, with an objective of 100X and oculars of 10X .A total of 2000 cells per person were evaluated. The criteria used for the identification of a micronucleus have been established by Stich and Rosin. the micronucleus must have a regular contour, round or oval, and must be inside the cytoplasm of a cell; it must be Feulgen-positive and of an equal or lower intensity, it must be smaller than the main nucleus, that is, its diameter must be 1/3 of the diameter of the main nucleus. Frequency as a result report has been Micronucleus (MN),two nuclei of cells (BNC), broken egg cells (BEC) and cells in bud (BC) .

**Results:** IVF Protocol implementation is evaluated in the group before and after the result of variations in the lower group and micronucleus or BNC, BEC and BC does not have significant difference at P value is meaningful, only if it has been accepted in MN 0.001.

Patient group before IVF protocol implementation compared with the control group MN, BEC, BC, BNC significant difference was found between the groups in terms of the value of p. Patient group after IVF protocol implementation compered with the control group's vaginal smear samples. As a result, the value of MN P is 0.001 was considered significant. BNC, BEC, BC P values greater than 0005 and has been considered insignificant.

**Conclusion:** As a result, the example of a control group of 15 patients, compared with 15 IVF protocol implementation patients before and after ,micronucleus is a significant increase in the value of p ( $p < 0.005$ ), but that variants of the BNC, BC, BEC P values showed no significant differences ( $p > 0.005$ ).

**Key words:** IVF,SERVİKS CA,MICRONUCLEUS

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
<b>TEŞEKKÜR.....</b>	<b>i</b>
<b>ÖZET.....</b>	<b>ii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....</b>	<b>iv</b>
<b>TABLolar DİZİNİ.....</b>	<b>v</b>
<b>ŞEKİLLER, RESİMLER, GRAFİKLER DİZİNİ.....</b>	<b>vi</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....</b>	<b>vi</b>
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ.....</b>	<b>1</b>
<b>2 GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
2.1. İnfertilite Nedir.....	3
2.1.1. İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi.....	3
2.1.2. İnfertilite Nedenleri.....	7
2.1.3. İnfertilite Tedavisi.....	12
2.2. Serviks Kanseri .....	17
2.2.1. Serviks Kanseri Risk Faktörleri.....	18
2.2.2. Pap Smear Testi Ne Sıklıkta Yapılmalı.....	18
2.2.3. Patoloji Ve Yayılım.....	19
2.2.4. Semptomlar Ve Bulgular.....	19
2.2.5. Tanı.....	19
2.2.6. Evreleme.....	20
2.2.7. Tedavi.....	20
2.3. Micronükleus Nedir.....	20
<b>3 MATERYAL VE METOD .....</b>	<b>25</b>
<b>4 BULGULAR.....</b>	<b>27</b>
<b>5 TARTIŞMA.....</b>	<b>28</b>
<b>6 SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>30</b>
<b>7 KAYNAKLAR.....</b>	<b>31</b>

## **TABLolar VE ŞEKİLLER DİZİNİ**

**Tablo 4.1** Çalışma grubu karakteristik özellikleri

**Tablo 4.2** IVF öncesi ve sonrası grubun istatistiksel karşılaştırılması

**Tablo 4.3** IVF öncesi grup ile kontrol grubu istatistiksel karşılaştırılması

**Tablo 4.4.** IVF sonrası ile kontrol grubu istatistiksel karşılaştırılması

**Şekil 2.1.** Sitotoksik ajanın etkisindeki hücrelerin olası durumları

## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>ART</b>	: Assisted Reproductive Techniques
<b>BBT</b>	: Bazal Vücut Sıcaklığı
<b>BC</b>	: Tomurcuklu Hücre
<b>BEC</b>	: Kırık Yumurta Hücreleri
<b>bHCG</b>	: Human Koryonik Gonodotropin
<b>BNC</b>	: İki Nükleuslu Hücre
<b>CBMN</b>	: Cytokinesis Block Micronucleus
<b>CIN</b>	: Servikal İntraepitelyal Neoplazi
<b>E2</b>	: Estrodiol
<b>FİSH</b>	: Floresan İn Situ Hibridizasyon
<b>FSH</b>	: Follükül Stümölate Hormon
<b>GNRH</b>	: Gonodotropin Releasing Hormon
<b>HPV</b>	: Human Papilloma Virus
<b>IUI</b>	: İntrauterin İnseminasyon
<b>IVF</b>	: İnvitro Fertilizasyon
<b>LH</b>	: Lüteinize Hormon
<b>MN</b>	: Mikronükleus
<b>NPB</b>	: Nükleoplazmik Köprü
<b>OHSS</b>	: Ovaryal Hiperstimülasyon Sendromu
<b>PID</b>	: Pelvik İnflamatuvar Hastalık
<b>Rfsh</b>	: Recombinant Fsh
<b>SIL</b>	: Squamoz İntraepitelyal Lezyon
<b>SPSS</b>	: Statistical Package For Social Sciences
<b>TV USG</b>	: Trans Vajinal Ultrasonografi
<b>Ufsh</b>	: Üriner Follükül Stümölate Hormon
<b>WHO</b>	: Dünya Sağlık Örgütü



## 1.GİRİŞ ve AMAÇ

İnfertilite, 1 yıllık korunmasız ilişkiye rağmen konsepsiyonun gerçekleşmemesi olarak tanımlanmaktadır. Sağlıklı çiftlerin yaklaşık % 85- 90' nında ilk bir yıl içerisinde gebelik gerçekleşmektedir. Dolayısıyla infertilite çiftlerin % 10 -15' ini ilgilendiren bir sorundur. Asiste reproduktif teknolojilerin gelişmesiyle beraber infertilite tedavilerinde başarı oranları artmış ve daha çok infertil çiftin sağlıklı bebeklere sahip olması sağlanmıştır. Böylece infertil çiftlerin tedaviye yönelik umutları artmış ve bu nedenle hastaneye başvuru sayısında önemli artışlar olmuştur. Evlilik yaşının ilerlemesinin, geç anne olma isteğinin, toplumda kadınların rolünün değişmesinin ve yetersiz sosyokültürel koşullarının da infertil çiftlerin artışına katkısı olabilir.

Halen yardımcı üreme tekniklerinin başarısını arttırmak için çalışmalar sürmektedir. Tedavinin başarısı, hastaların uygun olarak değerlendirilmesine, uygun tedavinin planlanmasına, uygun tekniklerin kullanılmasına ve hasta uyumuna bağlıdır. Tüm bu aşamalarda hastaların bazal olarak doğru değerlendirilmesi, semen kalitesi ve over rezervinin saptanması çok önemlidir. Çünkü yardımcı üreme teknikleri tedavisi infertil çiftler için pahalı, düzenli zaman gerektiren, aynı zamanda stresli bir tedavidir ve tedavinin başlangıcında hastalarla başarı oranları tartışılarak klinisyenle ortak karar vermeleri sağlanmalıdır.

Over rezervi oosit sayısı ve kalitesiyle ilgilidir ve kadının reproduktif potansiyelini gösterir. Over rezervinin gösterilmesi klinisyenin başarı şansı konusunda hastayı realistik olarak bilgilendirilmesini sağlar. Böylece over rezervinin kötü olduğu hastaların başarısız bir tedavi siklusu yaşamasından kaynaklanan emosyonel stres, maddi kaynaklarının boşa harcanması ve zaman kaybı önlenmiş olur. Bunun yanısıra tedaviden fayda görebilecek hastaların da tedavi programında tutulması sağlanır.

Günümüze kadar gelen yayınlarda belirtilen ve over rezervini değerlendirmede kullanılan geleneksel parametreler yaş, bazal FSH ve E2 düzeyleri, vücut kitle indeksidir. Bunların yanısıra over volümü, antral folikül sayısı, ovarian ve uterin arterlerin vasküler rezistansı üzerinde de çalışılmıştır. Fakat tüm endokrin sistemlerde örneğin Cushing sendromunda olduğu gibi normal bazal hormon düzeyleri normal fonksiyonu göstermeyebilir. Bu nedenle bazı provakatif ve dinamik testler geliştirilmiştir. Scott ve Hofmann, GnRH agonist testi ile ilk kez Navot ve arkadaşlarının tanımladığı klomifen sitrat testi üzerinde çalışmışlardır.

Halen tüm dünyada over rezervini belirlemede kesin bir standartizasyon yapılmamıştır. En güvenilir parametrenin ne olduğu konusunda tartışmalar ve karşıt çalışmalar mevcuttur. Bu nedenle araştırmalar sürmektedir.

Serviks kanseri dünyada kadınlar arasında sık görülen bir kanser olmasına karşın gelişmiş ülkelerde tarama ve erken tanı sayesinde giderek alt sıralarda görülmektedir. Dünya verilerine göre meme ve kolorektal kanser sonrası üçüncü sırada yer almakta iken, ülkemizde de 2004-2008 verilerine göre uterus korpus kanseri ve over kanseri sonrası jinekolojik kanser olarak üçüncü sırada yer alır. Daha çok yoksul ve sağlık hizmeti iyi olmayan toplumlarda daha sık görülmektedir.

İnfertilite ve nulliparite özellikle over ve endometrium kanserleri için bağımsız risk faktörleridir. İnfertilite tedavisinde kullanılan infertilite ajanlarının jinekolojik kanserler üzerindeki olası etkisi birçok çalışmada değerlendirilmiştir. Klomifen sitrat kullanımının over ve endometrium kanseri üzerine prediktif etkisi olduğu savunulmaktadır. Ama bugüne kadar serviks kanseri ile infertilite ve tedavi protokolleri sonrası ilişki var mı tam olarak aydınlatılmış geniş çapta bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmayı yapmamızdaki amaç; in vitro fertilizasyon uygulanan hastalarda tedavi protokolü sonrası serviks kanser riski artıyor mu? izleyebilmek için vajinal smear örneklerinde kanser tarama markerı olarak kullanıma giren micronucleus incelemektir. Halen tedavi gebeliklerinde kullanılan tedavi protokolleriyle ilişkili olarak kanser riskinin artıp artmadığı ya da infertilite ile ilişkisinin olup olmadığı kesin olarak bilinmemekte olup çok fazla çalışma bulunmamaktadır.

Amacımız birçok kanser üzerinde çalışmalara dahil edilen micronucleus ve varyantlarını inceleyip serviks ca riski artıyor mu ? yoksa azalıyor ya da etkilenme olmuyor mu ? bakmaktır.

## **2.GENEL BİLGİLER**

### **2.1 İNFERTİLİTE NEDİR**

İnfertilite 1 yıllık korunmasız ilişkiye rağmen konsepsiyonun gerçekleşmemesi olarak tanımlanmaktadır. Sağlıklı çiftlerin yaklaşık % 85- 90' nında ilk bir yıl içerisinde gebelik gerçekleşmektedir. Dolayısıyla infertilite çiftlerin % 10-15'ini ilgilendiren bir sorundur. Daha önce hiç gebelik oluşmamışsa, primer infertilite, canlı doğumla sonuçlansın ya da sonuçlanmasın, en az bir gebelik oluşmuşsa, sekonder infertilite denir. Evlilik yaşının ilerlemesi, geç çocuk sahibi olma isteği kontrasepsiyon kullanımının artışı, toplumda kadınların rolünün değişmesi, çevresel ve sosyoekonomik faktörler fertilitenin azalmasını etkileyen nedenlerdir (1).

Günümüzde yardımcı üreme tekniklerinin gelişmesiyle infertil çiftlerin tedavi şansları artmış, bu yönde olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Doğru tedavi için infertiliteye neden olan sebepler iyi belirlenmeli ve nedene yönelik tedavi yapılmalıdır.

#### **2.1.1 İNFERTİL ÇİFTİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

##### **2.1.1.1 Anamnez:**

-Yaş: Kadında ilerleyen yaşla beraber over rezervi, overin gonadotropinlere verdiği cevap ve tedavi başarısı olumsuz etkilenir ve aneuploidi oranı artar. Fekondabilite 31 yaşından sonra azalmaktadır. Buna karşın erkekte ileri yaşla sperm parametreleri arasında böyle bir ilişki olmadığı görülmüştür (2).

-İnfertilitenin süresi: Tedavi edilmemiş hastalarda spontan gebelik oluşumunda infertilite süresi major bir faktördür. Bu hastalarda üreme sisteminde organik bir problem ya da germ hücrelerinde fonksiyonel bir sorun olabilir.

-Primer ya da sekonder olup olmadığı ve varsa önceki gebeliklere yönelik anamnezin alınması: Daha önce termde gebeliği olanlarda genital organların intrauterin gelişim için yeterli olabileceğini gösterebilir. Düşük, postpartum ve postoperatif komplikasyonlar kadın fertilitasını engelleyebilir.

-Menstrasyon düzeni ve son adet tarihi: Hipotalamus, hipofiz, overler ve endometrium aksının düzeni hakkında bilgi verir.

-Sistemik hastalık varlığının ve özellikle galaktore, hirsutismus gibi şikayetlerin sorgulanması

-Sigara ve alkol kullanımının sorgulanması: Kadın ve erkeğin sigara içiciliği fekondabiliteyi olumsuz etkilemektedir (3).

-Geçirilmiş operasyon varlığı: Operasyon sonrası oluşabilecek adhezyonlardan enfeksiyonlara kadar geniş bir yelpaze oluşturan problemler tedavi ve sonuçlarını etkileyebilir.

-Daha önce infertilite tedavisinin uygulanıp uygulanmadığı, uygulandı ise kullanılan ilaçlar, bunlara alınan cevap ve sonuçlarının sorgulanması: Tedavi şeklinin belirlenmesinde yardımcıdır.

#### **2.1.1.2 Fizik muayene**

-Tiroid muayenesi, galaktorenin ve hirsutismusun tespit edilmesi endokrin problemleri açığa çıkarılmasına yardımcı olabilir.

#### **2.1.1.3 Jinekolojik muayene**

- Rutin jinekolojik muayene organik ve anatomik bazı bozuklukların saptanmasını sağlar.
- Servikal koterizasyon: Servikal osların açıklığının ve serviks-fundus mesafesinin belirlenmesini sağlar.
- Pap smear alınması,
- Direkt yayma ve taze preparatlar, servikal kültür, mikoplazma kültürü, servikal klamidyaya antijeni bakılması

#### **2.1.1.4 Ultrasonografi**

-Uterus boyutu, kontür ve pozisyonu; myometrimun homojenitesi, myomatöz yapı varlığı ve bunların uterustaki yerleşimi; endometriumun kalınlığı, yapısı, siklus fazı ile uyumu, intrakaviter patoloji varlığı; overlerin ekojenitesi ve stromal yapısı, volümü, siklus dönemine göre dominant folikül veya korpus luteum varlığı, over içi ya da paraoveryan solid-kistik kitle varlığı hakkında bilgi verir.

#### **2.1.1.5 Laboratuvar incelemeleri**

-Hormonal testler: Folikül stimulan hormon (FSH), LH, östrodiol (E2), prolaktin, inhibin B, serbest testosteron, 17-OH- progesteron, DHEA-S, androstenedion, Tiroid uyarıcı hormon(TSH),

-Serolojik testler: Hbs Ag, Anti-Hbs, Anti-HCV, Anti-HIV, Rubella IgG (ve/veya IgM), toxoplasma IgG (ve/veya IgM)

-Hematolojik testler: Kan grubu ve tam kan sayımı

-Endometrial biyopsi: Luteal faz yetmezliği düşünölen olgularda kullanılır. Çoğu kez siklusun 21. günü progesteron bakılarak tespit edilebilmektedir.

-Histerosalpingografi: Konjenital anomaliler, intrakaviter yer kaplayan lezyonlar, sineşiler ve tubal pasaj değerlendirmesinde kullanılır.

### **2.1.1.6 Laparoscopi ve histeroscopi**

#### **2.1.1.7 Over rezervinin değerlendirilmesi:**

Adet kanamasının 2. ya da 3. gününde alınan bazal değerler kullanılmaktadır.

-FSH: Over cevabı azaldıkça FSH'nın kan düzeyi artar. FSH'nın 10'un üzerinde olduğu olgularda konvansiyonel ovölasyon indüksiyonu ve YÜT uygulamalarında overin verdiği cevap azalmaktadır.

-E2: Yüksek östrojen değerleri over rezervinin kısıtlı olduğu yönünde uyarıcıdır. Ayrıca, kontrollü over stimülasyonunda insan korionik gonadotropini (hCG) günü E2 değerinin 800 pg/ml'nin altında olması da zayıf cevap olarak adlandırılmaktadır.

-İnhibin-B: 45 pg/ml ve altında saptanan olgularda gebelik oranlarının düşük, iptal riskinin yüksek olduğu gösterilmiştir.

-Klomifen sitrat challenge testi: Siklusun 5 -9. günleri arasında 100 mg Klomifen sitrat verilir. Siklusun 3. ve 10. günlerinde FSH ölçölür. Bu ölçölümde laboratuvar sınırlarını aşan bir FSH değerini bulunmuşsa test pozitif olarak değerlendirilir. Bu sınır genellikle 10- 12 mIU/mL dir . (2,4)

-GnRH analogu stimülasyon testi (GAST): İkinci ya da 3. günü verilen GnRH analoguna cevaben E2'deki değişim paternleri değerlendirilir. Diğer testlere göre üstünlüğu olmadığı belirlenmiştir. (2)

-Ultrasonografik ölçölmler: Antral foliköl sayısı ile kadın yaşı, indüksiyon için kullanılan toplam ilaç miktarı, hCG günü toplam E2 değerini, elde edilen toplam ve metafaz II oosit sayısı ve gebelik oranları arasında istatistiksel anlamlılık saptanmıştır. Antral foliköl sayısına göre yapılan derecelendirme tedavi şeması ve ilaç dozları belirlemede yardımcıdır . (2,5)

Buna göre:

Grade I overler 4 ve altında antral foliköl içerir, yanıtlar genellikle başarısızdır.

Grade II overlerde 4-6 AF bulunur. KOH'a cevap yetersizdir.

Grade III overlerde 7-10 AF olup, bu hastalar iyi cevap verirler.

Grade IV overler PCO ya da PCO benzeri olup, bunlarda foliküler atrezi ya da OHSS riski yüksektir.

Doppler USG ile over kan akımının ölçülmesi folikül ve oosit sayısını tahmin etmede

belirleyici olabilir (5).

-Önceki tedavilere verilen cevap

### **2.1.1.8 Sperm yeterliliğinin değerlendirilmesi:**

Erkek hastaların değerlendirilmesi primer olarak infertilite kliniklerindeki ekibin bir bireyi olması gereken ürologlar tarafından yapılmalıdır. Erkek faktörünün varlığını belirlemek için gerekli değerlendirme öykü, fizik muayene, başlangıçtaki laboratuvar inceleme (kan grubu, Hbs Ag, Anti-HIV, Anti-HCV, total testosteron; gerekli görüldüğünde FSH, LH, prolaktin, periferik karyotip, Y kromozomu mikrolelesyonu, kistik fibrozis delesyonu) ve diğer invaziv girişimleri içerir. Öykü ve fizik muayeneye ek olarak semen analizi etiyoloji ve yeterlilik konusunda bilgi verir. Semen örneği 2- 3 günlük abstinens süresi sonunda tercihen mastürbasyon yöntemi ile alınır. İlk sperm örneği normal sınırlarda ise test tekrarlanmaz; aksi takdirde 6- 12 hafta sonra ikinci bir örnek alınmalıdır (2).

Semen değerlendirmesinde Dünya Sağlık Örgütü (WHO) nün önerdiği referans değerler şunlardır : (2,6)

-hacim: 2 ml veya daha fazla

-pH: 7,2 ya da daha fazlası

-sperm konsantrasyonu: 20 milyon spermatozoa/ml ya da daha fazla

-total sperm sayısı: 40 milyon spermatozoa/ejakulat veya daha fazlası

-hareketlilik: ejakülasyondan sonra 60 dakika içinde %50 veya daha fazlası hareketli (grade a+b) veya %25 veya daha fazlası ilerleyici hareketliliğe sahip(grade a) ise normal

-morfoloji: %30'tan fazlası normal morfolojide (kruger kriterlerine göre >%14)

-vitalite: %75 veya daha fazlası canlı

-lökosit sayısı:  $1 \times 10^6$ 'dan daha az

-immunubead testi: motil spermatozoaların %50'den azı immuntaneciklere bağlı

-MAR testi: motil spermatozoaların %50'den azında partiküller yapışık.

Bu referans değerlerinden farkları tanımlamak için kullanılan terminoloji herhangi bir nedensel ilişkiyi belirlemez:

-normozoospermi: Referans değerlerle tanımlanan normal ejakulat

- oligozoospermi: Referans değerlerden düşük sperm konsantrasyonu
- asthenozoospermi: Hareketlilik için referans değerden daha düşük değer
- teratozoospermi: Morfoloji için referans değerden daha düşük değer
- oligoasthenoteratozoospermi: Her üç değişkende olan bozukluğa işaret eder
- azoospermi: Ejakülatta hiç spermatozoa olmaması
- aspermi: Hiç ejakülat elde edilememesi (17,18)

## **2.1.2 İNFERTİLİTE NEDENLERİ**

Gebelik, sağlıklı oosit ve sperm üretimi, reproduktif traktusta gametlerin bir araya gelebilmesi, oluşan embriyonun uterin kaviteye ulaşip endometriuma yerleşmesi ile gerçekleşir. Bu aşamalardaki bozukluklar subfertilite olarak karşımıza çıkar. İnfertil çiftlerdeki reproduktif hastalıkların dağılımı bilimsel verilerden ziyade tarifsel gözlemlere ve hastalıklar hakkındaki varsayımlara dayanmaktadır.

İnfertiliteye neden olan belli başlı sebepleri aşağıdaki gibi sıralayabiliriz:

- Ovulatuvar disfonksiyon - %15 ( gençlerde daha sık)
- Tuba - peritoneal patoloji - %30- 40 ( gençlerde daha sık)
- Erkek faktörü - %30- 40 ( yaşlı çiftlerde daha sık )
- Uterin patoloji
- Açıklanamayan infertilite (yaşlı çiftlerde daha sık )

### **2.1.2.1 Ovulatuvar disfonksiyon**

Normal bir sperm, kadın genital sisteminde 3- 5 gün kalabilir ve bu süre içinde oositi fertilize edebilir. Oosit için bu süre 12- 24 saattir(8) .Ovulasyon ile birlikte fertilite azalır ve ovulasyondan sonra fertil dönem sonlanır. Bu yüzden fertilitenin en yüksek olduğu dönemi tespit etmeye yönelik bir takım testler pratik uygulamada kullanılmaktadır.

Bu amaçla yapılan testler aşağıda sıralanmıştır:

- Menstruel hikaye
- Bazal vücut sıcaklığı ölçümü
- Serum progesteron konsantrasyonu ölçümü
- Üriner LH ölçümü
- Endometrial biopsi
- Transvajinal ultrasonografi ile ovulasyonun gözlenmesi

**2.1.2.1.1 Menstruel hikaye-** Normal olarak ovule olan kadınlar genellikle düzenli adet görürler. Adet miktarı ve süresi genellikle sabittir ve genellikle premenstruel ve menstruel semptomlar eşlik eder.

**2.1.2.1.2 BBT-** Bazal vücut sıcaklığı foliküler fazda düşüktür, ovulasyondan sonra luteal fazda 0.4- 0.8 derece artar ve menstruasyondan hemen önce tekrar bazal seviyelerine düşer. Ovulatuvar kadında bazal vücut sıcaklığında izlenen bu bifazik patern, sabah yapılan ölçümlerle kolaylıkla tespit edilebilir. Bazal vücut sıcaklığının en düşük seviyesi, ovulasyondan bir gün önce ya da ovulasyon günü izlenir.

Termojenik kayma yani bazal vücut ısısının yükselmeye başlaması, progesteron konsantrasyonu > 5ng/ml olduğunda gerçekleşir. Bu dönem LH yükselişinden 1- 5 gün sonra başlar ve ovulasyondan sonraki dördüncü güne kadar sürer. BBT en yüksek dereceye ulaştığında fertil period bitmiştir. Dolayısıyla en fertil dönem bazal vücut sıcaklığının midsiklus peakinden 7 gün önceki dönemdir. Siklusları düzenli olan kadınlarda, bu bifazik paternin şeması çıkartılırsa – bunun için birkaç siklus takibi gerekebilir. Ozaman en erken ve en geç BBT kaymasının başladığı intervali içeren zaman diliminde gūnaşırı ilişki önerilerek en fertil periodun atlanması engellenmiş olur. BBT'nin diğer ovulasyon testlerine üstünlüğü maliyetinin düşük olmasıdır. Ancak bazı kadınlarda, düzenli ovulasyon olmasına rağmen bifazik patern gözlenmediği de unutulmamalıdır.

**2.1.2.1.3 Serum progesteron ölçümü -** Foliküler fazda genelde <1ng/ml'dir. Progesteron konsantrasyonları LH yükseliş günü hafifçe artarak 1-2 ng/ml olur. Bu artış ovulasyondan 7-8 gün sonrasına kadar devam eder ve menstruasyondan hemen önce azalmaya başlar. 3ng/ml üzerindeki değerler ovulasyon olduğunun göstergesidir. Serum progesteron ölçümü için en uygun zaman, progesteronun en yüksek değerlerine ulaştığı, menstruasyondan bir hafta öncesidir. Progesteronun miktarı ve süresi korpus luteumun fonksiyonel kapasitesini, dolayısıyla luteal fonksiyonun kalitesini gösterir. Ovulasyondan sonraki 5- 9. günler arasında alınan üç ölçümün toplamının 30 ng /ml olması ya da tek bir ölçümün 10 ng/ ml olması luteal faz eksikliğinin olmadığını göstergesidir (9) .

**2.1.2.1.4 Üriner LH sekresyonu -** LH tırmanışı, 48- 50 saat süren kısa süreli bir olaydır. Saat 16 ve 22 arasında yapılması önerilir çünkü LH tipik olarak sabah saatlerinde salınır ve ancak birkaç saat sonra idrarda tespit edilebilir. En fertil dönem LH tırmanışının (surge)



olduğu gün ya da bir sonraki gündür. LH tırmanışından sonraki gün, planlanmış ilişki ve inseminasyon için en uygun gündür.(10,11,12)

**2.1.2.1.5 Endometrial biopsi-** Korpus luteumun fonksiyonel kapasitesini ve end-organ yanıtını değerlendiren bir testtir. Progesteronun, endometrium üzerinde yaptığı değişiklikler gözlenerek ovulasyonun gerçekleşip gerçekleşmediği izlenir. Anovulatuvar kadınlarda endometrium hep proliferatif hatta hiperplazik tiptedir.

Endometrial biopsi diğer tanı yöntemlerinden daha fazla bilgi sağlamaz, ancak endometrial hiperplaziyi ya da kronik endometriti ya da luteal faz eksikliğini tanımak açısından faydalıdır. İnfertil kadınlarda, luteal faz eksikliğinin görülme prevalansı %5- 10 civarında olup, bu oran tekrarlayan gebelik kaybı olan kadınlarda daha yüksektir.

GnRH pulse frekansını ve kısa hipofizer cevabı bozan ekstresek veya intrensek birçok faktör, luteal faz defektine neden olabilir (Örn: endokrinopatiler, östrojen klirensinin azalması, SHBG seviyeleri, vs.).Histolojik tarih ve örnekleme tarihleri arasındaki fark <2 gün ise, corpus luteum fonksiyonları normaldir. Histolojik tarih ve örnekleme tarihleri arasında >2 gün fark varsa luteal faz yetmezliğinden bahsedilebilir. Örnekleme, premenstruel dönemde yapılmalıdır(13,14). Luteal faz yetmezliği en az iki örnekleme ile teyid edilmelidir, çünkü normal ovule olan kadınlarda da sporadik olarak luteal faz defekti gerçekleşebilir.

**2.1.2.1.6 Tv USG (transvajinal ultrasonografi)** – Ovumun atılmasından önceki ve sonraki olayların değerlendirilmesine dayanır. Gelişiminin son dönemlerinde preovulatuvar folikül günde 2 mm büyür. Ovulasyondan sonra folikül küçülür, kenarları belirsizleşir, internal eko dansitesi ve cul-de-sac'daki sıvı dansitesi artar(15,16). Özellikle eksojen gonadotropinler ile ovulasyon indüksiyonu yapılan vakalarda, Tv USG takip için vazgeçilmezdir.

### **2.1.2.2 Erkek faktörü**

Semen analizi ile erkek faktöründen şüphelenilerek ek klinik ve biokimyasal değerlendirmelere yönelinir. Konsantrasyon, motilite ve morfoloji özellikle önemlidir.Bu 10 parametrelerden bir tanesi bozursa, infertilite olasılığı 2- 3 kat, iki tanesi bozursa 5-7 kat, üçü de bozursa 16 kat artar.Erkek faktörü dışında sperm ve mukus ilişkisi de incelenmelidir. Östrojen, servikal mukus salınımını artırır ve viskozitesini azaltır, servikal

mukus berraklaşır sperm geçişine izin verir. Progesteron ise viskoziteyi arttırır. Post-coital test ( simshuhner) testi ile servikal faktör infertilitesi taranabilir.

### **2.1.2.3 Uterin faktör**

**2.1.2.3.1** Kronik endometrit- endometrial reseptiviteyi bozduğunu iddia edenler vardır.

**2.1.2.3.2** Konjenital uterin malformasyonlar—Septat uterus, fertil ve infertil kadınlarda eşit oranda (%1) görülmektedir, ancak tekrarlayan gebelik kaybı olanlarda daha fazladır (%3.5). En sık görülen ve infertilite ile en fazla ilişkisi olan konjenital malformasyondur. Septal kan akımının bozukluğu, implantasyona uygun bir alan olmaması embryo gelişimini olumsuz etkilerken, relatif servikal yetersizliğin de bu duruma eşlik etmesi infertilite ile ilişkisini açıklamaktadır.

### **2.1.2.3.3 Edinsel uterin malformasyonlar-**

**2.1.2.3.3.1 myoma uteri:** İnfertiliteyi etkilediği kesinlikle bilinen, en kötü yerleşimli myom, kornual myomdur. Tüpün interstisyel segmentini bozar, uterin kontraktilite ve ovum-sperm transportu bozulur. Submüköz myomlar da implantasyonu bozarak infertiliteyi etkiler. Subseröz ve intramural myomlar da ise, endometrial kavite bozulmuyorsa fertilitate etkilenmez. Posterior duvarda yerleşimli myomlar, adezyon riskini arttırdığı için infertilite açısından risklidir.

**2.1.2.3.3.2 Asherman sendromu:** Hipomenore, amenore veya dismenore ile kendini gösterir. Mukozal, fibromuskuler, ya da konnektif dokudan meydana gelen bantlar vardır. Histeroskopik adezyolizis sonrası, normal menstruasyon düzeni %70- 90 oranında, gebelik ise %25- 70 oranında sağlanır.

**2.1.2.3.3.3 Endometrial polip:** Prevelansı %3- 5 dir. İnfertilite üzerine etkisi belirsizdir.

**2.1.2.4 Tubal faktör :**İnfertil çiftlerin %30-35'inde rastlanır. İlk PID (pelvik enflamatuvar hastalık) atağından sonra tubal adezyon riski %10-15, ikinci PID'den sonra tubal adezyon riski % 23-35, üçüncü ataktan sonra ise % 54-75 tir. Laparoskopik adezyolizis sonrası, ilk bir yıl içerisinde, gebelik şansı %50, hafif dereceli distal oklüzyonlarda gebelik şansı %80, orta dereceli oklüzyonlarda

%30, ciddi oklüzyonlarda ise %15 dir. Distal tubal oklüzyonların prognozunu belirleyen adezyon dışındaki faktörler, tubal kalınlık ve ampuller mukozal yapıdır. Birçok gebelik cerrahiden sonraki iki yıl içinde gerçekleşir. Tanıda, HSG( histerosalpingografi) orta derecede duyarlı, nispeten daha özgüldür; yani HSG tubal açıklık gösterdiğinde tubanın gerçekten açık olma ihtimali %60'dır, ancak kapalı olma ihtimali düşüktür (%5).

**2.1.2.5 Açıklanamayan infertilite:** İnfertil çiftlerin %10-30'ında infertilite nedeni açıklanamaz. Bu hastalar, normal semen ve normal ovulatuvar fonksiyona sahip, normal uterus yapısı ve bilateral tubal açıklığı olan hastalardır. Bu hastalarda siklus fekunditesi %2- 4 tür. (Ortalama siklus fekondabilitesi normalde %20- 25). Tedavi siklus fekunditesini arttırmaya yöneliktir. İnfertilite nedenlerini anlamaya çalışırken, öncelikle reproduktif yaşlanma fizyolojisini bilmek özellikle önemlidir. Fetal hayatta germ hücreleri mitoz ile bölünerek, 16- 20. gebelik haftasında, 6-7 milyon oogoniayı oluşturur. Bu haftadan sonra germ hücre popülasyonu gen düzeyinde apoptozis ile gittikçe azalır. 1. mayoz bölünmeden sonra germ hücre sayısı, doğumda 1- 2 milyon olup, pubertede 300 -500 bin civarındadır. 35- 40 yıllık reproduktif hayat boyunca sadece 400- 500 oosit ovule olur. Geri kalan oositler ise atreziye uğrar. Reproduktif dönem boyunca, 37- 38 yaşına kadar, folikül sayısında azalma oranı sabittir ancak bu olay menapozdan 10- 15 yıl önce ivme kazanır. Menapozda, overde yaklaşık 1000 folikül kalmıştır. Yapılan gözlemler, menapozun yaştan bağımsız olarak, folikül sayısı belli bir seviyenin altına düştüğünde (<1000) gerçekleştiğini göstermektedir. Genetik özelliklere bağlı olarak over dokusunu bozan hastalıklar, overin çıkarılmasına neden olan hastalıklar, konjenital olarak folikül sayısının az olması ya da rezervin hızlıca azalmasına neden olan durumlar da vardır. Erken menapoz ve prematür overyan yetmezliğinin genetik özelliklerinin benzer olduğu ve gerek anne gerekse baba tarafından dominant kalıtıldığı bildirilmiştir.

Overyan stimülasyona zayıf cevap veren hastaların, ivmelenmiş rezerv azalması ile fertilitenin tamamen kaybolması arasındaki geçiş döneminde olan hastalar olduğu düşünülmektedir. Foliküler azalmanın başladığı dönemde, henüz menstruel düzensizlikler oluşmadan önce, FSH seviyesi artmaya başlar. LH konsantrasyonu ise değişmez. Bu monotropik yükselişin nedeni, foliküllerdeki azalmaya bağlı overyan hormonların ve inhibin-B'nin azalması ve hipofizer FSH sekresyonu üzerindeki negatif feedback inhibisyonun yeterince gerçekleşmemesi ile açıklanabilir. FSH konsantrasyonundaki artışla birlikte hatta biraz daha önce dolaşımda foliküler faz inhibin-B seviyeleri azalmaktadır . Daha sonra luteal faz inhibin-A seviyeleri düşer. İki inhibin de selektif olarak hipofizer FSH salınımını inhibe eden peptidler olduğundan folikül havuzundan salınan inhibin azaldıkça, özellikle erken foliküler fazda, FSH konsantrasyonu artar. İnhibin üretimindeki azalma, azalan folikül sayısını veya kalan foliküllerin azalan fonksiyonel kapasitesini gösterir.

Hipofizer FSH salınımını tetikleyen aktivinler, ovarian rezerv üzerine etkili diğer peptidlerdir. Activin- A'nın yaşı ilerleyen kadınlarda arttığı gösterilmiştir. Ancak

menopozda, artan FSH seviyeleri üzerine ne derece etkili olduğu bilinmemektedir (25,26,27). Overyan steroid hormonların ise rezerv üzerine herhangi bir etkisi yoktur. FSH konsantrasyonundaki artış, estradiol seviyeleri düşmeden çok önceki senelerde gerçekleşir ve yaşlanan kadınlarda foliküler faz E2 seviyesi, genç kadınlarla aynı, hatta daha yüksektir. Luteal faz progesteron düzeyleri de yaşlı ve genç hastalarda aşağı yukarı benzerdir. Yaş ve FSH seviyesi arttıkça, foliküler faz kısalır, LH seviyesi ve luteal faz süresi ise değişmez. Sikluslar düzenli olsa da, siklus uzunluğu ve siklus variabilitesi azalmıştır(28). FSH arttıkça ve foliküler faz kısaldıkça E2 seviyeleri daha erken artmaya başlar. FSH artışı foliküler gelişimin daha hızlı ve erken olmasına neden olur. Folikülün erkenden iyi gelişmesi ve dominant folikülün erken seçimi, E2 seviyesinde akut artışlara neden olur (29,30).

Sonuç olarak, menstruel siklusun endokrin özelliklerindeki yaşa bağlı değişimler, progresif foliküler azalmadan kaynaklanmaktadır ve bunun sonucunda overyan rezervde ve erken foliküler fazda, tv USG ile saptanan antral folikül sayısında azalma gözlenmektedir.

İlerleyen yaşla birlikte, foliküllerin gonadotropin stimülasyonuna duyarlılığı progresif olarak azalır ve dolayısıyla bu hastalarda multiple foliküler gelişimi sağlamak için kullanılan ilaç dozu ve tedavi süresi artar.

Ancak yapılan çalışmalar göstermektedir ki, foliküler gelişme ve büyüme birkez başladığında, yaşa bağlı herhangi bir foliküler fonksiyon bozukluğu izlenmez (21). Siklusları devam eden ileri yaştaki kadınlar da gençler kadar düzenli hatta daha sık ovule olurlar. Artan FSH değerleri ile, gonadotropin uyarısına karşı azalan sensitiviteyi kompanse ederler. Yaşlanan kadınlarda preovulatuvar foliküller daha erken yola koyulmasına rağmen normal hızda gelişir ve normal boyuta ulaşır. Foliküler sıvı karakteristikleri de bu foliküllerin sağlıklı olduklarını göstermektedir.

Bütün bu olumlu verilere rağmen reproduktif yaşlanmaya bağlı fertilitenin azalmasının nedeni progresif foliküler azalma ve oositlerdeki yaşa bağlı anomali riskindeki artıştır. Yaşla birlikte leiomyom, endometrial polip, adenomyozis prevelansı artsa da, yaşlanmanın uterus ve endometrial gelişim ve fonksiyon üzerine olumsuz etkisi yoktur(31,32).

### **2.1.3 TEDAVİ**

Normal çiftlerde siklus fekondabilitesi %20- 25 oranındadır. İnfertil çiftlerde (açıklanamayan infertilite) ise bu oran daha düşüktür. Tedavi siklus fekondabilitesini arttırmaya yöneliktir.

Ortalama siklus fekondabilitesi	
Tedavi Yok ise	%1.3-4.1
IUI	%3.8
Klomifen sitrat kullanımı	%5.6
Klomifen sitrat kullanımı+ IUI	%8.3
Gonadotropins	%7.7
Gonadotropins+ IUI	%8-15
IVF	%20.7

ART (Assisted Reproductive Techniques), özellikle açıklanamayan infertilite tedavisinde çığır açan ve her geçen gün daha da ilerleyen bir tekniktir. En sık kullanılan ART teknikleri IVF, ICSI, GIFT, ZIFT, TET dir. GIFT, ZIFT, TET daha invazif olmalarının yanısıra diğer tekniklerle karşılaştırıldığında çok da avantajlı değildir. IVF, ART teknikleri arasında en sık uygulanandır. Ciddi tubal hastalık, ciddi endometriozis, ciddi erkek faktörü, multifaktoryel infertilite, overyan yetmezlik, yaşa bağlı ya da açıklanamayan infertilite olgularında gebelik şansını artırır. IVF'te sperm sayısı <3milyon, normal morfoloji <%4 ise prognoz kötüdür. Oligoastenospermi ve teratospermi de tercih edilen yöntem ICSI dir.

### **2.1.3.1 TEDAVİ PROTOKOLLERİ**

2.1.3.1.1 Doğal sıklusa bırakılan IVF lerde siklus iptal oranları yüksektir (33,36), ayrıca doğal sıkluslarda 1 oosit ve 1 embryo elde edilir. Doğal sıkluslar, overyan stimulusyona zayıf cevap veren hastalarda (1- 2 folikül ile) ya da stimulusyonu tolere edemeyecek durumdaki hastalarda kullanılır. Tedaviye GnRH antagonistinin eklenmesi, prematur LH yükselmesini önleyerek IVF sonuçlarını iyileştirir.

2.1.3.1.2 Klomifen sitrat ile ovulasyon indüksiyonu: Siklusun 3. günü 100 mg/gün dozunda başlanır,5-8 gün devam edilir. Doğal sıkluslara oranla siklus iptali oranları daha düşüktür. Toplanan oosit, transfer edilen embryo ve gebelik oranları daha yüksektir. Prematür LH yükselmesini engellemek için GnRH antagonisti ve eksojen HCG tedaviye eklenebilir (37).

2.1.3.1.3 Klomifen sitrat + eksojen gonadotropin tedavisi: Multifoliküler gelişim sağlanır. Beş gün 100 mg/gün dozunda klomifen sitrat tedavisine ek olarak, düşük doz eksojen gonadotropin tedavisi başlanır(38,40). Transfer ve cryopreservasyon için long protokole oranla daha az oosit ve embryo elde edilir, ancak gebelik oranları daha az değildir ve OHSS riski daha düşüktür. Çok kullanılmamasının nedeni total reproduktif potansiyelinin az olmasıdır. Erken LH yükselmesini engellemek için GnRH antagonisti de tedaviye eklenebilir.

2.1.3.1.4 Long protokol ( uzun etkili GnRH agonisti ile down regülasyon sonrası eksojen gonadotropin uygulaması ) :Uzun etkili GnRH agonistleri, endojen hipofizer gonadotropin sekresyonunu suprese eder. Böylece eksojen gonadotropin stimülasyonu sırasında gelişebilecek prematur LH yükselişi engellenmiş olur. Bu uygulama sayesinde hastanın uyumunu zorlaştıran sık sık LH ölçümüne gerek kalmadığı gibi, siklusların %20 inin iptaline neden olan prematur lüteinizasyon da engellenmiş olur . GnRH agonist down regülasyonundan sonra siklusların sadece <%2 inden azında prematur LH yükselmesi izlendiğinden, foliküller yeterince büyüyene kadar stimülasyon devam edebilir. GnRH agonisti kullanılan çalışmalarda, sadece gonadotropin kullanılanlara oranla yumurta ve gebelik oranlarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir . Bahsettiğimiz bu long protokol, ART için uzun yıllar tercih edilen stimülasyon protokolu olmuştur. Tek dezavantajı, uzun süreli agonist tedavisinin, takip eden eksojen gonadotropin tedavisine yanıtı azaltmasıdır.

Gonadotropin stimülasyonuna başlamadan önce serum E2 seviyelerini ve overyan foliküler aktiviteyi değerlendirmek gerekir.

E2 < 40 pg/ ml olmalı

Bazal tv USG ile > 10-15 mm foliküler kist izlenmemeli

Bazı araştırmacılar, foliküler kist oluşumunun gonadotropin stimülasyonuna iyi cevap oluşmayacağını bir işareti olduğunu ve düşük sayıdaki oosit ve embryo sayısı nedeniyle, kötü bir IVF başarı oranı sağlayacağını iddia etmektedir. Bazı araştırmacılar ise etkisi olmadığını iddia eder (47-56) . Sonuçlar aynı olsa da siklus iptali ve kullanılan total gonadotropin dozu, kisti olan hastalarda artar. Ovarian kisti aspire etmek, stimülasyon cevabını kötü etkilemez hatta aspire edilen overde foliküler cevabı artırır (57) . Ancak kontralateral over normale, infeksiyon riski yaratmamak için bu işleme gerek duyulmaz. Gonadotropinin klasik başlama dozu 225- 300 IU/gün'dür.

Kullanımda olan gonadotropinler  riner FSH, rekombinant FSH,  riner menotropin (hMG)dir. Hepsi subkutan uygulanır. Fakat menotropin (hMG) tercihen intramuskuler kullanılır.

Stimulasyona cevap, E2 ve tvUSG ile takip edilir. İlk E2  l m  gonadotropin uygulamasından 3-5 gün sonra yapılır ve 1-3 gün arayla tekrarlanır. Birçok kadına 7-12 gün stimulasyon gerekir.

Amaç, 17-18 mm çapında, en az iki ve 14-16 mm çapında birkaç tane folik l sağlamak ve kohortun b y kl ğine ve mat ritesine uygun E2 seviyelerine ulaşmaktır. ( rn:14 mm'lik folik l için yaklaşık 200 pg/ml E2). Yararı tartışmalı olmakla beraber endometrial gelişim de incelenmektedir. HCG uygulama günü endometrial kalınlık > 8-9 mm, ya da trilaminar görünümdeyse prognozun çok iyi olduğu, end < 6-7 mm ise ve homojen görünümdeyse prognozun kötü olduğu bildirilmiştir(59-65). Endometrium kalınlığının çok arttığı (<14 mm) vakalarda da prognozun kötü olduğu bildirilmiştir. Foliküller hazırlandığında, hCG 5000-10000 mIU dozunda uygulanır (Rekombinant formu 250 microgram ).

Gonadotropin stimulasyonuna iyi cevap veren hastalarda da midsiklus progesteronseviyeleri artabilir (Progesteronun midsiklusta yükselmesi >0.9- 1.0 ng /ml, özellikle zayıf yanıt veren olgularda önemli).

#### **2.1.3.1.5 Kısa protokol varyasyonları:**

2.1.3.1.5.1 Ultra - kısa protokol:3 gün agonist uygulamasıyla flare cevap alınır daha sonra agonistler kesilerek sadece gonadotropinlerle tedaviye devam edilir. Endojen gonadotropin baskılanması için yeterince uzun süre GnRH agonisti kullanılmadığı için prematür LH yükselmesi daha sık gözlenir. Bu protokol nadiren kullanılır,  nk  sonuçlar klasik kısa ve uzun protokole göre daha kötüdür.

2.1.3.1.5.2 OKS+ mikrodoz + GnRH agonist: 14-21 günlük OKS supresyonunu takiben mikrodoz olarak hazırlanmış leuprolid asetat, siklusun 1. günü, 40 microgr günde 2 kez olacak şekilde başlanır. Siklusun 1.gününden HCG gününe kadar uygulanır. Leuprolid tedavisinin 3.günü yüksek doz (300-450 IU/ gün) gonadotropin başlanır. Bu tedavi kısa protokole göre daha avantajlıdır.Uygulanan GnRH agonist dozu düşük olduğundan ve OKS ile cevap verebilecek corpus luteum oluşması engellendiğinden serum progesteron ve androjen konsantrasyonlarında artış olmaz.

Serum FSH değerinde dramatik artışlar izlenen, zayıf cevaplı olgular için iyi bir protokoldür. Siklus iptal oranı azalır, serum tepe E2 seviyesi, transfer oranı, klinik ve devam eden gebelik oranları artar. Dezavantajı, mensturasyonun OKS ile kontrol edilmediği hastalarda, hastayı sık sık kontrole çağırma gerekliliğidir. Flare protokolüyle, corpus luteumun geç kurtarılmasına bağlı serum progesteron ve androjen seviyeleri artmaktadır. Bu durum, oosit kalitesi, fertilizasyon ve gebelik üzerine ters etki göstermektedir.

2.1.3.1.6 Eksojen gonadotropin + antagonist: GnRH agonistleri reseptör down regulasyonu ile gonadotropinlerin GnRH'a karşı desensitize olmasını sağlar böylece gonadotropin sekresyonu önce stimule sonra inhibe olur. Antagonistler ise GnRH reseptörlerini doza bağlı kompetitif şekilde bloke eder, flare etki yaratmaz ve gonadotropinleri suprese eder (66) .

Antagonistlerin agonistlere göre avantajları çoktur:

-Tedavi süresi agonistlere oranla daha azdır.

-Kullanılmasındaki amaç LH yükselmesini engellemek olduğundan ve etkisini hemen gösterdiğinden, antagonist tedavisi foliküler gelişimin geç dönemine kadar ertelenebilir(gonadotropin tedavisinin 5-7 gününden sonraya kadar).Hatta E2 seviyeleri yükseldikten sonra bile uygulanabilir. Böylece GnRH agonist tedavisi ile gözlenen östrojen eksikliğine bağlı semptomlar görülmez (67).

-Agonistlerin, gonadotropin stimülasyonuna karşı overyan cevabı suprese eden etkileri de olmayacağından, kullanılan gonadotropin dozu ve süresi azalır. Dolayısıyla standart uzun protokolden fayda görmeyen zayıf cevaplı olgularda antagonist tedavisi fayda sağlar.

-Agonistlerin flare etkisi olmayacağından folikül kisti oluşmaz.

-OHSS riski, agonistlerden daha azdır (67-70).

Dezavantajları:

- Hasta uyumunun çok iyi olması gerekmektedir.

- Antagonistler, endojen gonadotropin sekresyonunu agonistlerden daha iyi baskılar. Bu nedenle agonistlerle sağlanan ve folikülogenez için az da olsa gereken LH konsantrasyonları antagonistler ile sağlanamaz.

- Serum E2 seviyeleri azalır ya da plato yapar (71-73).

- Foliküler büyüme etkilenmemiş görünse de , düşük doz hMG gerekebilir (75 IU).



- Gebelik oranları GnRH agonistlerinin kullanıldığı uzun protokollere oranla biraz daha düşüktür. Çünkü GnRH antagonistleri folikülogenezde rol oynayan hücrelerin mitotik programlanmasına, blastomer oluşumuna ve endometrial gelişim üzerine etkilidir.

Ganirelix ve cetrorelix klinik kullanımda olan GnRH antagonistleridir. Prematür LH yükselmesini önleyen minimum doz 0.25mg/gün'dür. Subkutan olarak uygulanır (74,75).

Bu çalışmadaki amaç, in vitro fertilizasyon uygulanan 15 hastadan uygulama öncesi vajinal smear örneği alınıp kontrol grubu 15 hasta ve 15 ıvf uygulanan hastadan gebe kalmayanların kontrol vajinal smear örnekleri incelenip micronucleus artışı var mı bakılacak. Amaç, ileri ki yıllarda uygulanan tedavi protokolü ile ilişkili olarak serviks ca açısından risk var mı araştırmaktır.

Serviks kanseri ile ıvf protokolleri arasındaki ilişkiyi araştıran fazla bir çalışma bulunmaması açısından çalışmamız önem arz etmektedir.

## **2.2 SERVİKS KANSERİ**

Serviks kanseri dünyada kadınlar arasında sık görülen bir kanser olmasına karşın gelişmiş ülkelerde tarama ve tanı testlerinin artmış olmasından dolayı erken tanı alması sayesinde alt sıralarda yer almaktadır. Daha çok yoksul, sağlık sistemi tam oturmamış toplumlarda sık görülmektedir. Dünya verilerine göre meme ve kolorektal kanser sonrası üçüncü sırada yer almakta iken, ülkemizde de 2004-2008 verilerine göre uterus korpus kanseri ve over kanseri sonrası jinekolojik kanser olarak üçüncü sırada yer alır (104-105). ABD'de kadınlarda görülen tüm jinekolojik kanserlerin yarısına yakınına oluşturmaktadır. 2003 yılında ABD'de 27.000 jinekolojik kanser tanısı almış ve

27.000 den fazla kadın bu nedenle hayatını kaybetmiştir (106). WHO dünyada 2 milyondan fazla kadının serviks kanseri olduğunu tahmin etmektedir. Her yıl 500.000 yeni serviks kanseri olgusuna tanı koyulmaktadır (105-106). Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de serviks kanseri kadınların hayatını tehdit etmektedir(105). 2003 yılı Sağlık Bakanlığı verilerine göre, serviks kanseri kadınlarda en sık görülen 10 kanserin içinde yer almaktadır. Ülkemizde 763 serviks kanserli kadın olduğu belirtilmektedir. Serviks kanseri tanısı konulan kadınların %50'si 35-55 yaşlar arasındadır (107).WHO liderliğinde 2004 yılında toplanan Dünya Sağlık Asamblesi serviks kanserlerinin önlenmesini üreme sağlığı açısından en önemli 5 konudan biri olarak seçmiştir (108). Serviks kanserinde en önemli risk faktörü Human papillomavirus (HPV) ile enfekte olmaktır. Cinsel yönden aktif olan kadınlarda HPV enfeksiyonu ilk koitus ile adölesan çağda başlayarak doğurganlık çağında

ve daha az olmak üzere ileri yaşlarda görülebilir. 118 HPV tipi tanımlanmıştır. 40 HPV tipi genital enfeksiyondan sorumludur. 14 tip yüksek riskli HPV tipi bulunmaktadır (109). Epidemiyolojik çalışmalar %99 serviks kanserinden HPV sorumlu tutulmuştur. Pap testi ile HPV virusunun serviksteki hücrelerde neden olduğu değişiklikleri saptanabilir. Haziran 2006 da FDA tarafından HPV (6,11,16,18 tipi) aşısı onaylanmıştır. Korunmada HPV aşısının %100 etkili olduğu belirtilmektedir. HPV'nin diğer tipleri için bu aşının koruyucu etkisi bulunmamaktadır. FDA HPV aşısını 9-26 yaş kızlara 3 doz şeklinde uygulanmak üzere onaylamıştır. Ülkemizde kullanılma oranı yüksek olmayan kondom ve bariyer önlemleri riski azaltır, ancak tam olarak koruyucu değildir. Genital siğil şikayeti ile tedavi için başvuranlarda da önemli artışlar gözlenmektedir. Daha çok genç yetişkinlerde görülen bu hastalığın cinsel yaşam tarzında ortaya çıkan değişikliklere bağlı olarak son yıllarda özellikle gençler arasında ülkemizde de giderek artan bir sıklıkta görülmektedir (104). Serviks kanseri birden bire değil daha öncesinde kanser öncesi lezyonların oluşmasıyla gelişir. Bu lezyonlar CIN (Servikal intraepitelyal neoplazi) ya da SIL (Squamoz intraepitelyal lezyon) adlandırılır. Bu lezyonların erken tanı ve tedavisi pap smear testi kullanımının yaygınlaşması sonucu mümkündür. Böylece serviks kanseri tanısı almadan hasta kanserden korunmaktadır.

### **2.2.1 SERVİKS KANSERİ RİSK FAKTÖRLERİ**

Yüksek riskli HPV tipleri ile karşılaşma en büyük risk faktörüdür. Bunlar arasında en fazla tip 16,18,31 ve 33 suçlanmaktadır. İlk cinsel ilişkinin genç yaşta olması ya da birden fazla partnerinin olması, sünnnet olmamış erkekle cinsel ilişki yaşanması, ilişki sırasında korunma yöntemi (kondom) kullanılmaması, sigara içilmesi (riski 2 kat artırmaktadır), Aids hastalığının mevcut olması (immün sistemi baskılayarak direnci azaltıp eş zamanlı HPV riskinin de mevcut olmasına neden olur), klamidy enfeksiyonu, anne ya da kız kardeşinde serviks kanseri olması, obezite, sebze ve meyveden fakir beslenme (vitamin A ve folik asit eksikliği), sosyoekonomik düzeyin düşük olması, düzenli pap smear testi yapılmaması ve doğurganlığın fazla olması sayılabilir.

### **2.2.2 PAP SMEAR TESTİ NE SIKLIKTA YAPILMALIDIR?**

Cinsel yönden aktif ya da 18 yaş üstü her kadına yılda 1 kez pap smear yapılması gerekir. Ama 30 yaş üstü en az 3 tane üst üste normal pap smear testi varsa, 70 yaş üstü 10 yıl içinde en az üç tane normal smear testi varsa, serviks kanser dışı bening bir nedenle

çıkarılmışsa ,ailede serviks kanser öyküsü yoksa ,risk faktörlerini taşııyorsa her yıl smear testi yapılmayabilir.

### **2.2.3 PATOLOJİ VE YAYILIM**

Serviks kanserlerinin büyük çoğunluğunda sorumlu hücre tipi (80-85'i) squamoz hücreli kanserlerdir( yassı hücreli kanser),%10-20 oranında ise adenokanser sorumludur.malign hücreler epitelinbazal membranını aşarak serviksin stromasına girdiğinde durum geriye dönüşümsüz bir hal almış demektir.Lezyon eksternal otsan kaynaklandığında ekzofitik ,endoservikal kanaldan kaynaklandığında endofitik olarak gelişir;infiltratif ve nekroze bağlı ülseratif gelişim de mümkündür.

Dört çeşit yayılım şekli vardır:

- 1.direk yayılım
- 2.lenfatik yayılım
- 3.hematojen yayılım
- 4.intraperitoneal yayılım

Çoğunlukla komşu dokulara ,vajinaya,paraservikal ve parametrial dokulara yayılır,daha ileri evrelerde mesane ve rektum yayılımı mevcuttur.myometriuma doğru yayılım %10-30 arasında görülür(110).lenfatik yayılım sırasıyla paraservikal ve parametrial,oradan obturator ,hipogastrik,eksternal iliak ve presakral lenf nodlarına oradan da sekonder grup olarak bilinen common iliak ,periaortik ve inguinal lenf nodlarına yayılım gerçekleşebilir (109).

### **2.2.4 SEMPTOMLAR VE BULGULAR**

Serviks kanseri ilk başta fazla bulgu vermez.En sık lekelenme tarzı kanama,işki sonrası kanama ileri evrelerde kötü kokulu akıntı,çevre dokulara yayılım nedeniyle bacakta belde kasıkta ağrı,bacakta şişme ve idrar yollarında genişleme kötü prognozu gösterir.Serviks kanseri genelde lokal ,bölgesel ve lenf yoluyla yayılım göstermekle beraber uzak organ metastazları olduğunda tutlan organa göre semptom verir.Kan yoluyla en çok uzak organ metastazı karaciğerdir.

### **2.2.5 TANI**

Tanı için en önemli yöntem kolposkopi (serviksin kamera ile 30 kat büyütülmesi) eşliğinde biyopsi alınmasıdır. Biyopsi aşamasına gelmeden önce şikayeti olan veya olmayan ancak pap smear testi şüpheli olan hastalarda öncelikle muayene yapıp kolposkopi eşliğinde

biyopsi önerilir. Bazen kolposkopi eşliğinde alınan biyopsi sonucuna göre kanser sınırında şüpheli varsa konizasyon (serviksin geniş bir bölümünün koni şeklinde çıkarılması) gerekebilmektedir.

### **2.2.6 EVRELEME (FIGO 'ya göre klinik)**

Evre 1: tümör servikste sınırlıdır.

Evre 1a: yalnızca mikroskop altında görülür ve en derinde <5mm en geniş yatay uzanım <7mm.

Evre 1a1: en derinde >3mm ama <5mm ,en geniş yatay uzanım <7mm.

Evre 1b: servikste sınırlı ama evre 1a dan daha ileri

Evre 1b1: en geniş yerinde <4cm

Evre 1b2: en geniş yerinde >4cm

Evre 2: vajen 2/3 üst sınırı ya da parametrium tutulumu vardır.

Evre 2a: vajen 2/3 üst sınır tutulumu var ,parametrium tutulumu yok

Evre 2b: parametrium tutulumu var

Evre 3: vajen alt 1/3 tutulum var ve veya pelvik yan duvar tutulumu var

Evre 3a: vajen alt 1/3 tutulum var

Evre 3b: pelvik yan duvar tutulumu var (hidronefroz)

Evre 4: rectum ve mesane ya da uzak organ tutulumu var

Evre 4a: rectum ve mesane tutulumu var

Evre 4b: uzak organ tutulumu var

### **2.2.7 TEDAVİ**

Tedavi seçenekleri kanserin evresine, tümörün boytuna ,hastanın yaşına ve çocuk isteğine göre değişir. Ama evre 2a dahil öncesi evrelerde cerrahi tedavide yer alırken, evre 2b ve sonrasında kemoradyoterapidir.

Hastalar en çok böbrek tutulumu sonrası üremiden kaybedilir. Agresif kötü prognozlu bir kanser olması nedeniyle erken tanı ve tedavisi, korunma yöntemleri önem arz etmektedir.

### **2.3 MİKRONUCLEUS NEDİR**

Mikronükleus, kromozom parçalarından veya tüm kromozom kaynaklı olup bölünme esnasında anafazda geciken küçük ve fazladan oluşan nükleer oluşumlardır. Son yıllarda in vitro mikronükleus testi, genotoksisite için umut verici bir metod olarak kabul görmeye

başlamıştır. Cytokinesis Block MicroNucleus (CBMN) analizi mikronukleusla beraber apoptotik ve nekrotik hücreleri de tanımlar. Bu test kanser tedavisi sırasında ve genotoksitesi belirlemede kullanılabilir. Bu gibi ölçümler kromozom kırığı ve apoptoz - kanser yolağındaki mekanizmaların aydınlanmasında da faydalı olacaktır. Kromozom kırıkları, ya kendiliğinden ya da mutajenik ajanlar nedeniyle oluşabilirken; bazen de iyonize radyasyon veya DNA hasarına neden olan kimyasallardan köken alabilmektedir. Genellikle kırılmış uçlar yeniden birleşir ve kırık onarılır ancak bazı durumlarda, bir kırık kromozomlarda delesyona yol açabilir veya bir hücrede birden fazla kırık meydana gelmişse kromozomların yeniden düzenlenmeleri mümkün olabilmektedir (76). Kromozom kırıkları hücre siklusunun G1, S ve G2 evrelerinde mitoz ve mayoz süresince oluşabilir. Kromozom kırık çalışmaları, gen mutasyonlarında yapılan araştırmalar ile bağlantılıdır. Çünkü pek çok mutajen hem kromozom kırıklarını hem de gen mutasyonlarını indükler. DNA'nın bir kolunda kırık oluşma nedenlerini; pirimidin dimerlerinin oluşması (kısa dalga boylu UV), baz alkilasyonu (alkilleyici ajanlar), iplikçikler arasında çapraz bağlantı (uzun dalga boylu UV, çok fonksiyonlu alkilleyici ajanlar), DNA çift sarmalının arasına mutajen girmesi (acriflavin, proflavin vb.) gibi etkenleri söyleyebiliriz (77,78,79,80).

Kromozomlarda yapısal olarak iki tip kırık vardır. Bunlar, kromozom tipi kırık ve kromatid tipi kırıklardır. Bir ajanın kromozom ya da kromatid tipi kırıklara neden olması, hücre siklusunun hangi fazında etkili olduğuna bağlıdır. Eğer ajan mitoz bölünmenin Go ya da G1 fazında etkiliyse kromozom tipi kırıklara, S ya da G2 fazında etkili ise kromatid tipi kırıklara neden olur. Kromozom kırıkları, eğer G1 fazında yalnız bir kromatid de bir kırık meydana getirir ve S fazı boyunca devam ederse, metafazdan sonra her iki kromatid de kırık oluşur ve böylece kromozom tipi kırık meydana gelir. Bu kırık tekrar birleşmez ise, bir delesyonlu kromozom ve bir asentrik fragment meydana gelir. Kromozom kırılması sonucu oluşan asentrik parçalar ya metafazda kaybolmakta ya da anafazda mikronükleusları oluşturmaktadır (77,78,79,80).

### **2.3.1 Mikronükleus oluşum mekanizması ve kriterleri**

MN (Mikronükleus) oluşumu ilk olarak Howell ve arkadaşları tarafından eritrositlerde saptanmıştır. Jolly tarafından tanımlanmıştır. Bu nedenle Howell-Jolly cisimciği adı da verilmektedir. Mikronükleus, hücre bölünmesi sırasında serbest kalan kromozom fragmentinin ya da kromozomların ortamda varlığını sürdürmesidir. Bir nükleoplazma ile sarılarak sitoplazma içerisinde ana nükleusun yanında yer alan nükleer materyaldir

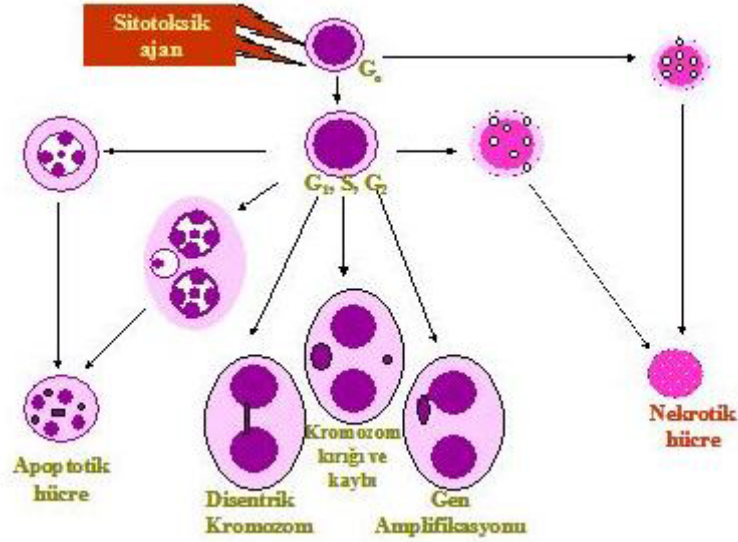
(81).MN oluşumunun temelini, DNA hasarı oluşturmaktadır. Organizmanın çeşitli mutajenik, klastojenik ve karsinojenik ajanlara maruz kalması sonucunda DNA'da harabiyet meydana gelmektedir. Genetik hasar ölçümünde, MN testinin toksikolojide, diyetle, ilaç sanayide, kanser riski oluşumu şüphesinde, radyoterapide önemi anlaşılmıştır (82). DNA hasar oranının in vivo ve in vitro olarak belirlenmesinde, en ekonomik ve pratik tekniklerden biri haline gelmiştir (81,82,83,84,85)MN tekniği, insan periferik kan lenfositlerinde, kemik iliğinde ve yanak mukoza hücresinde kimyasal ajanların genotoksik etkilerinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır.

Tekniğin basit oluşu, kısa zamanda sonuca ulaşılması ve DNA harabiyeti konusunda güvenilir bilgi vermesi tekniği önemli hale getirmiştir (82,83,84)Bugün, pek çok kanser tipi ile spesifik kromozom düzensizlikleri arasında bağlantı olduğu bilinmektedir. Bu amaçla kanserli olgularda mikronükleus testi yapılmakta ve anlamlı sonuçlar elde edilmektedir (85,86,87) MN testi ile ölçülen genotoksitesi ve iyonize radyasyonla tedavi sırasında sitotoksik ilişki incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre MN testi, gerek kanser gerekse tedavi sırasında kullanılabilen bir test haline gelmiştir.MN testinin geniş bir araştırma ortamı bulduğu diğer bir alanda yaşlanmadır. Yaş artışıyla anöploid sıklığı arasında yakın bir ilişki vardır. Bireyin yaşam içerisinde maruz kaldığı çevresel ajanların etkisiyle kromozomların normal bölünmeden saptığı belirlenmiştir. Her hücrenin mitotik aktivitesi yaş ilerledikçe yavaşlamakta ve mitoz bölünmede iğ iplikçiklerinde katalizör görevi yapan enzimlerde dejenerasyon oluşmaktadır (88,89,90,91,92)

CBMN (Cytokinesis Block MicroNucleus) analizleri, Cyt-B'nin (Cytochalasin-B) hücre bölünmesini sitokinez evresinde durdurması özelliği temel alınarak tanımlanmıştır. (81,82,83). Cyt-B, Helmin dematiodeumdan elde edilen bir ekstraktır. Cyt-B hücre bölünmesini sitokinez evresinde aktin filamentlerini etkileyerek durdurur. Bu etkisini de aktin filamentlerin ucuna bağlanarak, aktinin polimerize olmasını önleyerek gerçekleştirir (90,91,92,93,94,95)Maluf ve arkadaşları, CBMN yönteminden faydalanarak, Down sendromlu ve Fanconi anemili hastalarda MN frekanslarının yüksek olduğunu göstermişlerdir (95)Down sendromlu bireylerin malin hastalıklar için yüksek riske sahip hastalık grubundan olduğunu belirterek, bu hücrelerin çeşitli mutajen, radyasyon, virüs ve kimyasallara karşı fazlaca hassas olduğu için periferik kanlarında MN frekansının yükseldiğini belirlemişlerdir (95). Bıst ve arkadaşları da doza bağlı olarak artan MN dağılımından 1'li MN oranının fazla oluşunun asentrik fragment kaynaklı olduğunu açıklamışlardır (96).

Mikronukleuslardaki kromozom orijinlerini belirleyebilmek için, MN'un orijinin tüm kromozomdan mı (sentromer pozitif MN) yoksa asentrik kromozom parçasından mı kaynaklandığını (sentromer negatif MN) anlayabilmek için de FISH (Floresan In Situ Hibridizasyon) tekniği kullanılmaktadır (96,97,98). Fenech ve arkadaşları ise, NPB (NucleoPlasmic Bridge: Nükleoplazmik Köprü) oluşumlarının anafazda kromozomların sentromerlerin zıt kutuplarına çekilmesi sırasında gerçekleştiğini ve bir yada daha fazla NPB'lerin yanındaki 1'li veya 2'li MN'ların % 60'ından daha fazlasının asentrik kromozom parçasından orijin aldığını göstermişlerdir (80). Bu oluşumların moleküler mekanizması tam olarak ortaya konamamıştır ama gelecekte bu yönlü çalışmalar ile mekanizmalar açığa çıkarılacaktır. Mikronukleus hesaplama kriterleri İnsan lenfositlerinin sitokinezinde bloklanan mikronükleus için detaylı hesaplama yöntemleri Washington'da Genotoxicity International Work Shop'la tüm dünyaya bildirilmiştir (84). Buna göre, CBMN analizlerinde öncelikle hücre tipleri belirlenmelidir. Hücreler, mononükleus, binükleus, multinükleus, hücre tipinde ya da apoptotik veya nekrotik hücre tipinde olabilirler. Mononükleuslu hücreler küçük sitoplazma, büyük nükleus şeklindedir. Binükleuslu hücreler ise aynadaki görüntü kadar eş büyüklükteki iki hücre tipindedir. Bu tip hücreler nükleoplazmik köprüyle (NPB) beraber olabilir. Nükleuslar birbirine dokunabilir veya üst üste olabilir.

Multinükleuslu hücreler üç veya dörtlü halde, farklı büyüklükteki hücre formundadır (84). Bu tip hücreler pek çok MN içerebilir. Apoptotik hücrelerde ise sitoplazma bozulmamıştır. Kromatin yoğunluğu artmıştır. Nükleer sınırlar ya erken ya da geç apoptotik formundadır. Nekrotik hücrelerde, sitoplazmik sınırlar daha az tanımlıdır ve vakuoller vardır. Çok sayıdaki vakuoller sitoplazmadadır. Sitoplazmik membranın hasara uğrayıp nükleusun çok az bozulduğu kısım erken nekrotik hücre fazıdır. Geç nekrotik hücrede ise sitoplazma kaybolmuştur (84).



**Şekil 2.1.** Sitotoksik ajanın etkisindeki hücrelerin olası durumları

Not : Fenech M.: Micronuclei, NPB & nuclear buds induced in folic acid deficient human lymphocytes CBMN assay'den modifiye edilerek alınmıştır. (80).

Son yıllardaki çalışmalar göstermiştir ki; nükleer oluşumlar güçlü gen amplifikasyon ölçümleridir ve bu oluşumlar MN artışıyla beraber görülmektedir. Farklı maddelerdeki sitotoksik etkinin belirlenmesi çalışmaları, CBMN analizlerine farklı boyutlar kazandırmıştır. Binükleus hücrelerdeki, yapışık olan oluşumlar DNA amplifikasyonu olarak değerlendirilmeye başlanmış ve tıpkı CBMN sayımındaki gibi BN hücrelerin yanındaki oluşumlar sitotoksite kontrolü için ayrı birer biyolojik marker olarak kabul görmeye başlamıştır. Sitotoksik ajanların etkisindeki hücreler kromozom kırıklarına, mikronükleus ve apoptotik hücre oluşumlarına yol açmaktadır. Cytokinesis Block MicroNucleus (CBMN) metodu ile apoptotik ve nekrotik hücreler de belirlenerek, DNA hasarı gösterilebilmektedir. Mikronükleus (MN) indeksi kanser riskinde de belirleyicidir.

Böyle çalışmaların eklenmesi ile de kromozom kırığı onu takip eden mikronükleus ve apoptotik hücre oluşumu ve kanser ilişkisi ortaya konabilecektir. Bununla beraber bu yolda daha pek çok mikro düzeydeki çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



### 3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Etik Kurul 'undan (2012/11 gibi) sayılı kararıyla onay alınarak Meram Tıp Fakültesi kadın doğum ve hastalıkları kliniğine başvuran IVF/ICSI programına alınacak 15 olgu dahil edildi.

Çalışmamızda hastalarla görüşme yapılarak anamnezlerine ve önceki tedavilerine ait bilgiler öğrenildi.

Hastaların genel fizik ve jinekolojik muayeneleri yapıldıktan sonra, bazal değerlendirme için gerekli olan tetkikleri istendi. Bu tetkikler; spermogram, menstruasyonun 3. günü yapılan USG ve hormonal değerlendirme, histerosalpingografi (son bir yıl içinde yapılmamışsa tekrarlandı), serolojik testler (HbsAg, anti-HBC, anti-HIV, Rubella-IgG, Toxo-IgG), servikovajinal smear, kan grubu ve tam kan sayımından oluşuyordu. Bazal hormonal değerlendirme amacıyla menstruel siklus 3. gün immunoenzimatik yöntemle kan FSH, E2, LH düzeyleri bakıldı. Aynı gün yapılan ultrasonografik değerlendirme sırasında over boyutları ve antral folikül sayısı sayımı yapıldı (General Elektrik Alfa Logic 200 marka 5 mHz ultrason probu). Menstruel siklus supresyonu amacıyla uzun protokol şeklinde GnRH analogu uygulandı. Siklus 21. gün 10ünite Leuprolide asetat sc. olarak başlandı. Menstruasyonun 2. günü ölçülen serum E2 düzeyinin <50 pg/ml olması ve USG de ölçülen endometrium kalınlığının <4 mm. olması down-reguasyon olarak kabul edildi. Bundan sonra gonadotropin tedavisine geçildi. Tedavide kullanılacak gonadotropin dozu, hastanın yaşı, bazal FSH değeri, vücut kitle indeksi dikkate alınarak bireysel olarak belirlendi. Bu amaçla 150-450 IU/g arasında değişen dozlarda r-FSH ile tedaviye başlandı. 5. gün USG ile yapılan değerlendirmede 9 mm.lik folikül sayısı 3 ten az ve serum E2 düzeyi <100 pg/ml olan hastalarda ilaç dozu artırıldı (step-up protokol).

>3 adet >18 mm.lik folikül oluşumu sağlandıktan sonra 10000 IU. HCG im. uygulandı. Bundan 36 saat sonra genel anestezi altında steril şartlarda litotomi pozisyonunda, üzerine çift lümenli 17 mm. ve 30 cm. boyutlarında oosit aspirasyon iğnesi yerleştirilmiş transvajinal USG probu vaginaya uygulanarak folikül aspirasyonu gerçekleştirildi. Folikül aspirasyonunda 125 mmHg lik negatif basınç uygulandı. Elde edilen folikül sıvısından matür ve immatür oositler tespit edilip matür oositler ayrıştırılarak IVF-G1 ve G2 kültür mediumuna alındı.

Bu çalışmadaki amacımız ,ıvf uygulanan ve gebe kalmayan 15 hastadan öncesinde ve sonrasında smear örnekleri alınıp, kontrol grubu ile karşılaştırıp tedavi protokolü ile

ilişkili olarak serviks kanseri risk artışı için micronucleus taraması yapmaktır.Öncelikle bazal estrodiol seviyeleri alındı . IVF uygulaması sonrası gebe kalmayan olgular 3 ay sonra tekrar çağırılıp estrodiol seviyeleri ile kontrol smear örnekleri tekrar alınıp micronucleus taraması yapıldı. IVF uygulaması sonrası serviks ca riski artıyor mu incelendi.15 kontrol grubu hiç hastalığı olmayan, sigara kullanmayan , ek ilaç tedavisi almamış ,radyasyona maruz kalmamış, 20-40 yaş bayandan oluşturuldu. Bu 15 kontrol grubu bayanlardan vajinal smear alınıp genetik labaratuvarında incelendi.

Ayre spatulasıyla smear yapılarak elde edilen serviks hücreleri daha önceden steril olarak hazırlanmış olan 0.9% 'luk serum fizyolojik içeren falcon tüpleri içinde yıkanarak toplandı. Genetik AD'na aynı gün içinde iletildi. Materyal daha sonra santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırıldı. Tüpte kalan eksfoliyatif serviks hücrelerini içeren pellet üzerine hipotonik solüsyon eklenerek 5 dakika beklendi. Yeniden santrifüj işlemi yapıldı. Süpernatant atıldıktan sonra pellet iki kere soğuk taze hazırlanmış fiksatif solüsyonu ( metanol: asetik asit ,3:1) ile yıkandı. Lamlar damlatma işleminden önce hasta ismi, tarih ve kod numarası verilerek hazırlandı. Elde edilen pellet soğuk ve temizlenmiş lamlara damlatıldı. Preparatlar oda sıcaklığında kuruldu. Daha sonra %5'lik Giemsa boya ile 5 dakika süreyle boyandı. Preparatlar 1000x(objektif=100x oküler=10x) büyütmede 2000 hücre sayılarak analiz edildi. Mikronükleuslar, Stich ve Rosin'nin kriterlerine göre değerlendirildi. Sadece tek düşmüş, üst üste yerleşim göstermeyen, katlanmamış hücreler sayıldı. Sayılırken düzgün sınırları olan, sitoplazmanın içinde yerleşim gösteren çekirdekle aynı ve biraz daha az boyanma yoğunluğuna sahip, çekirdeğin üçte ikisinden küçük ebatta olan yapılar mikronükleus olarak değerlendirildi. **Mikronükleus (MN), iki nükleuslu hücreleri (BNC), kırık yumurta hücreleri (BEC) ve tomurcuklu hücrelerin(BC) frekansı sonuç olarak rapor edildi.**

**Kullanılan Malzeme:** Falcon Tüpü, Serum Fizyolojik ,Santrifüj Tüpü,KCl,Metanol,Asetik Asit,Giemsa,Lam,Sörensens Buffer,Plastik pastör pipeti

## **İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 programı kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanıldı. P değeri < 0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Tezde, Necmettin Erbakan üniversitesi Meram tıp fakültesi kadın hastalıkları ve doğum kliniğinde IVF uygulanan hastaların vajinal smear örnekleri ile kontrol grubu ve hastaların IVF yapılmadan önceki smear örnekleri karşılaştırılmıştır. Toplam 15 IVF hastası ve 15 kontrol grubu alınmıştır. Hastalar da kontrol grubu da 20 – 40 yaş arası olup ek hastalığı olmayan , sigara kullanmayan sağlıklı kişilerden oluşmaktadır.IVF yapılacak tüm hastaların ilk denemeleri olup primer infertilite sorunları mevcuttur (Tablo 4.1.).

**Tablo 4.1.** Çalışma grubu karakteristik özellikleri

ÖZELLİKLER	ORT ± SD	MİNİMUM	MAXİMUM
YAŞ (YIL)	33.1±2	24.0	39.0
İNFERTİLİTE SÜRESİ(YIL)	5 ±2.0	2.0	9
BMI	24,69 ± 3,55	17,31	30.0

#### SONUÇ OLARAK

IVF uygulaması öncesi ve sonrası grupta sonuç değerlendirilmiş olup micronucleus alt grubu ve veya varyasyonları olan BNC, BEC VE BC değerlerinde anlamlı fark bulunmamış olup MN istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir (P< 0.001) (p<0,05) (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2.** IVF öncesi ve sonrası grubun istatistiksel karşılaştırılması

	deney grubu ilk ölçüm (N=15)		deney grubu ilk ölçüm (N=15)		P
	Mean Rank	Sum of Ranks	Mean Rank	Sum of Ranks	
MN	10,33	155,00	20,67	310,00	0,001*
BNC	15,83	237,50	15,17	227,50	0,838
BEC	14,87	223,00	16,13	242,00	0,713
BC	15,50	232,50	15,50	232,50	1,000

\*P<0,05 anlamlı fark. MN: Mikronükleus, BNC: İki Nükleuslu Hücre , BEC: Kırık Yumurta Hücreleri, BC: Tomurcuklu Hücre

IVF yapılmadan önce hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırılmış olup MN, BEC, BC, BNC grupları arasında p değeri açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0,05$ ) (Tablo 4.3).

**Tablo 4.3.** IVF öncesi grup ile kontrol grubu istatistiksel karşılaştırılması

	IVF Öncesi (N=15)		Kontrol Grubu (N=15)		P
	Mean Rank	Sum of Ranks	Mean Rank	Sum of Ranks	
MN	15,23	228,50	15,77	236,50	0,897
BNC	15,37	230,50	15,63	234,50	0,933
BEC	15,37	230,50	15,63	234,50	0,932
BC	15,50	232,50	15,50	232,50	1,000

MN: Mikronükleus, BNC: İki Nükleuslu Hücre , BEC: Kırık Yumurta Hücreleri, BC: Tomurcuklu Hücre

IVF yapıldıktan sonra hasta grubu ile kontrol grubu vajinal smear örnekleri karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak MN  $P<0.001$  olup anlamlı kabul edilmiştir. BNC, BEC, BC P değerleri istatistiksel anlamsız olarak kabul idi (Tablo 4.4).

**Tablo 4.4.** IVF sonrası ile kontrol grubu istatistiksel karşılaştırılması

	IVF Sonrası (N=15)		Kontrol Grubu (N=15)		P
	Mean Rank	Sum of Ranks	Mean Rank	Sum of Ranks	
MN	20,80	312,00	10,20	153,00	0,001*
BNC	15,10	226,50	15,90	238,50	0,806
BEC	16,00	240,00	15,00	225,00	0,775
BC	15,50	232,50	15,50	232,50	1,000

\* $P<0,05$  anlamlı fark. MN: Mikronükleus, BNC: İki Nükleuslu Hücre , BEC: Kırık Yumurta Hücreleri, BC: Tomurcuklu Hücre

## 5. TARTIŞMA

IVF yani tedavi gebelikleri günümüzde yaygın olarak kullanılan ve başarısı yüksek olan bir tedavi şeklidir. Yalnız infertilite ile kanser arasında ya da kullanılan ilaçlarla ilişkili olarak bir etkileşim var mı henüz tam olarak bilinmemektedir. Serviks kanseri dünyada kadınlar arasında sık görülen bir kanser olmasına karşın gelişmiş ülkelerde tarama ve erken tanı sayesinde giderek alt sıralarda görülmektedir. Dünya verilerine göre meme ve kolorektal kanser sonrası üçüncü sırada yer almakta iken ,ülkemizde de 2004-2008 verilerine göre uterus korpus kanseri ve over kanseri sonrası jinekolojik kanser olarak üçüncü sırada yer alır. Daha çok yoksul ve sağlık hizmeti iyi olmayan toplumlarda daha sık görülmektedir.

Bizim bu çalışmadaki hedefimiz, 15 kontrol grubu ile 15 ivf yapılan hasta grubunu öncesi ve sonrasıyla alınan vajinal smear örneklerinde micronucleus taraması yaparak karşılaştırıp kullanılan tedavi protokolü sonrası serviks ca artıyor mu?,azalıyor mu ya da değişmeden kalıyor mu? bakmaktır.Bu hastalar özellikle sigara kullanmayan ,ek hastalığı olmayan ,ilk defa ivf yapılan ve 20-40 yaş arası grup olarak seçilmiştir.Yani hasta grupları açısından homojenizasyonu sağlamak için sonucu etkileyebilecek faktörlere limit konulmuştur.

Sonuç olarak kontrol grubu 15 hastadan alınan örnekle ,15 ivf hastasının tedavi protokolü sonrası ve öncesi karşılaştırıldığında micronucleus p değerinde anlamlı bir artış olduğu ( $p < 0.005$ ) ama varyantları olan BNC,BC,BEC P değerlerinde anlamlı bir fark olmadığı izlenmiştir( $p > 0.005$ ).

Serviks kanseri ile infertilite veya fertilite ilaçları arasındaki ilişkiyi araştıran fazla çalışma bulunmamaktadır. Bir çalışmada infertil kadınlarda anormal squamoz hücre anomalileri infertilite sorunu olmayan kadınlardan daha sık görülmüştür ( 101).

Kallön ve ark.nın çalışmalarında servikal kanserin IVF yapılan olgularda düşük olduğu gösterilmiştir (102).Yine benzer şekilde Yli –Kha ve ark.9175 IVF olgusunu kanser açısından değerlendirdiklerinde invazif servikal kanserin anlamlı olarak daha az görüldüğünü bildirmişlerdir(103).

Yapılan bu çalışmalar sonucuna göre infertilite ve infertilite ilaçları ile servikal kanser arasındaki ilişkiyi araştıran kısıtlı çalışma olmakla birlikte servikal kanserin bu popülasyonda artmadığı hatta azaldığı görülmüştür.

## 6.SONUÇ VE ÖNERİLER

İnfertilite ile serviks kanseri arasında ya da kullanılan ilaçlarla ilişkili olarak bir etkileşim var mı henüz tam olarak bilinmemektedir. Ayrıca serviks kanseri ile infertilite veya fertilitte ilaçları arasındaki ilişkiyi araştıran fazla çalışma bulunmamaktadır . Yapılan çalışmalar sonucuna göre de infertilite ve infertilite ilaçları ile servikal kanser arasındaki ilişkiyi araştıran kısıtlı çalışma olmakla birlikte servikal kanserin bu popülasyonda artmadığı hatta azaldığı görülmüştür.Bizim çalışmamızda sadece invitro fertilizasyon protokolü uygulaması sonrası sadece üç aylık bir süreci içermesi,geleceğe yönelik sonuçların kapsamlı olarak henüz incelenmemesi nedeniyle tam olarak kesin sonuç verememektedir.Daha fazla hasta ile çalışılması ve daha uzun süre takipleri olması daha iyi olacaktır.

## 7. KAYNAKLAR

- 1) Mosher WD, Pratt WF. Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends, *Fertil Steril* 1991,5 : 192.
- 2) Forti G, Krausz C. Evaluation and treatment of the infertile couple. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1998,83(129): 4177-4188.
- 3) Kahraman S, Yakın K. Ovülasyon indüksiyonu. İstanbul Memorial Hastanesi Yardımcı Üreme Teknikleri ve Reprodüktif Endokrinoloji Merkezi, 2000.
- 4) The ASHRE Capri Workshop Group. Optimal use of infertility diagnostic tests and treatments. *Human Reproduction* 2000,15(3): 723-732.
- 5) Carmina E, Lobo RA. In In Strauss FJ, Barbieri RL (eds), *Reproductive endocrinology*. Pennsylvania: Elsevier Inc. 5th ed, 2004, 939-961.
- 6) Popovic-Todorovic B, Loft A, Lindhard A, et al. A prospective study of predictive factors of ovarian response in 'standart' IVF/ICSI patients treated with recombinant FSH. A suggestion for a recombinant FSH dosage normogram. *Human Reproduction* 2003, 18(4): 781-787.
- 7) Günalp S, Aktan E, Yücel A (eds). WHO laboratuvar el kitabı: insan semeni ve spermservikal mukus etkileşimi değerlendirilmesi. Ankara: Tıp Teknik Yayınevi, 4. baskı,2002, 60-61.
- 8) Wilcox AJ, Weinberg CR, Baird DD, Postovulatory ageing of the human oocyte and embryo failure, *Human Reproduction* 1998,13: 394.
- 9) Jordan J, Craig K, Clifton DK, Soules MR, Luteal phase defect: the sensitivity and spesificity of dignostic methods in common clinical use, *Fertil Steril* 1994,62:54.
- 10) Miller PB, Soules MR, The usefulness of urinary LH kit for ovulation prediction during menstrual cycles of normal women, *Obstet Gynecol* 1996,87:13.
- 11) Martinez AR, Bernardus RE, Vermeiden JP, Schoemaker J, Time schedules of intrauterine insemination after urinary luteinizing hormone surge detection and pregnancy results, *Gynecol Endocrinol* 1994,8:1.
- 12) Meyer WR, Smith PM, Clark MR, Cusmano LL, Fritz MA, Therapeutic cup insemination with cryopreserved donor sperm: prognostic value of cervicalmucus score at insemination and the number of motile sperm in mucus at 24 hours, *Fertil Steril* 1996,66:435.
- 13) Wentz AC, Physiologic and clinical considerations in luteal phase defects, *Clin Obstet Gynecol*,1979,22:169.
- 14) Wentz AC, Endometrial biopsy in the evaluation of infertility, *Fertil Steril* 1980,33:121.
- 15) De Crespigny LC, O'Herlihy C, Robinson HP, ultrasonic observation of the mechanism of human ovulation, *Am J Obstet Gynecol* 1981,139:636.
- 16) Ecocard R, Marret H, Rabilloud M, Bradai R, Boehringer H, Giroto S, Barbato M, Sensitivity and spesifity of ultrasound indices of ovulation in spontaneous cycles, *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000,91:59.
- 17) Scott RT, Jr. Illions EH, Kost ER, Dellinger C, Hofmann GE, Navot D, Evaluation of the significance of the estradiol response during the clomiphene citrate challange test, *Fertil Steril* 1993,60:242.

- 18) Akande VA, Fleming CF, Hunt LP, Keay SD, Jenkins JM, Biological versus chronological ageing of oocytes, distinguishable by raised FSH levels in relation to the success of IVF treatment, *Hum Reprod* 2002,17:2003.
- 19) Guzick DS, Sullivan MW, Adamson GD, Cedars MI, Falk RJ, Peterson EP, Stenkampf MP, Efficacy of treatment of unexplained infertility, *Fertil Steril* 1998,70:207, 60.
- 20) Klein NA, Battaglia DE, Fujimoto VY, Davis GS, Bremner WJ, Soules MR, Reproductive ageing accelerated ovarian follicular development associated with monotropic follicle-stimulating hormone rise in normal older women, *J Clin Endocrinol Metab* 1996,81:1038.
- 21) Klein NA, Battaglia DE, Miller PB, Branigan EF, Giudice LC, Soules MR, Ovarian follicular development and the follicular fluid hormones and growth factors in normal women of advanced reproductive age, *J Clin Endocrinol Metab* 1996,81: 1946.
- 22) Hoffmann GE, Danforth DR, Seifer DB, Inhibin-B: the physiologic basis of the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening, *Fertil Steril* 1998,69:474.
- 23) Welt CK, McNicholl DJ, Taylor AE, Hall JE, Female reproductive ageing is marked by decreased secretion of dimeric inhibin, *J Clin Endocrinol Metab* 1999,84:105.
- 24) Seifer DB, Scott RT, Jr., Bergh PA, Abrogast LK, Friedman CI, Mack CK, Danforth DR, Women with declining ovarian reserve may demonstrate a decrease in day 3 serum inhibin B before a rise in day 3 follicle-stimulating hormone, *Fertil Steril* 1999,72: 63.
- 25) Reame NE, Wyman TL, Philips DJ, de Kretser DM, Padmanabhan V, Net increase in stimulatory input resulting from a decrease in inhibin B and an increase in activin A may contribute in part to the rise in follicular phase follicle-stimulating hormone of ageing cycling women, *J Clin Endocrinol Metab* 1998,83: 3302.
- 26) Santarano N, Adel T, Skurnick JH, Decreased inhibin tone and increased activin A secretion characterize reproductive aging in women, *Fertil Steril* 1999,71:658.
- 27) Lass A, Silye R, Abrams D-C, Krausz T, Hovatta O, Margara R, Winston RML, Follicular density in ovarian biopsy of infertile women: a novel method to assess ovarian reserve, *Hum Reprod* 1997,12:1028.
- 28) Vollman RF, The menstrual cycle, In: Friedman E, ed., *Major Problems in Obstetrics and Gynecology*, W.B: Saunders Co., Philadelphia 1977.
- 29) Klein NA, Harper AJ, Houmard BS, Sluss PM, Soules MR, Is the short follicular phase in older women secondary to advanced or accelerated dominant follicular development, *J Clin Endocrinol Metab* 2002,87:5746.
- 30) Zonneveld P, Scheffer GJ, Broekmans FJ, Blankenstein MA, de Jong FH, Looman CW, Habbema JD, te Velde ER, Do cycle disturbances explain the age-related decline of female fertility? Cycle characteristics of women aged Over 40 years compared with a reference population of young women, *Hum Reprod* 2003,18:495.
- 31) Donnez J, Joudel P, what are the implications of myomas on fertility? A need for a debate? *Hum Reprod* 2002,17:1424.
- 40) Dor J, Ben Shlomo, Levran D, Rudak E, Yunish M, Mashiach S, The relative success of gonadotropin-releasing hormone analogue, clomiphene citrate, and gonadotropin in 1099 cycles of in vitro fertilization, *Fertil Steril* 58:986,1992.
- 41) Meldrum D, GnRH agonists as adjuncts for in vitro fertilization, *Obstet Gynecol* 1989, 44:314.



- 42) Edwards RG, Lobo R, Bouchard P, Time to revolutinize ovarian stimulation, *Hum Reprod* 1996,11: 917.
- 43) 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.
- 44) Hughes EG, Federkow DM, Daya S, Sagle MA, Van de Koppel P, Collins JA, The routine use of gonadotropin-releasing hormone agonists prior to in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer: meta-analysis of randomised controlled trial, *Fertil Steril* 1992,58:888.
- 45) Daya S, Gonadotropin releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitization in in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer cycles, *Cochrane Database Syst Rev* CD001299,2000.
- 46) 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.
- 47) Urbancsek J, Witthaus E, Midluteal buserelin is superior to early follicular phase buserelin in combined gonadotropin-releasing hormone analog and gonadotropin stimulation in in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1996,65: 966.
- 48) Ron-El R, Hermann A, Golan A, Nachum H, Soffer Y, Caspi E, Gonadotropins and combined gonadotropin-releasing hormone agonist—gonadotropins protocols in a randomized prospective study, *Fertil Steril* 1991,55:574.
- 49) Thatcher SS, Jones EE, Decherney AH, ovarian cysts decrease the success of controlled ovarian stimulation and in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1989,52: 812.
- 50) Keltz MD, Jones EE, Duleba AJ, Polcz T, Kennedy K, Olive DL, Baseline cyst formation after luteal phase gonadotropin-releasing hormone agonist administration is linked to poor in vitro fertilization outcome, *Fertil Steril* ,64: 568,
- 51) Segal S, Shifren JL, Isaacson KB, Leykin L, Chang Y, Pal L, Toth TL, Effect of a baseline cyst on the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer, *Fertil Steril* 1999,71:274.
- 52) Zeyneloğlu HB, Işık AZ, Kara S, Senoz S, Ozcan U, Gokmen U, Impact of baseline cysts at the time of administration of gonadotropin-releasing hormone analogue for in vitro fertilization, *Int J Fertil Womens Med* 1998,43:300.
- 53) Penzias AS, Jones EE, Seifer DB, Grifo JA, Thatcher SS, DeCherney AH, Baseline ovarian cysts do not affect clinical response to controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1992,57:1017.
- 54) Goldberg JM, Miller FA, Friedman CI, Dodds WG, Kim MH, effect of baseline ovarian cysts on in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer cycles, *Fertil Steril* 1991,55:319.
- 55) Hornstein MD, Barbieri RL, Ravnikaş VA, McShane PM, The effects of baseline ovarian cysts on the clinical response to controlled ovarian hyperstimulation in an in vitro fertilization program, *Fertil Steril* 1989,52:437.
- 56) Karande VC, Scott RT, Jones GS, Muasher SJ, Non-functional ovarian cysts do not affect ipsilateral or contralateral ovarian performance during in vitro fertilization, *Hum Reprod*, 1990,5:431.
- 57) Rizk B, Tan SL, Kingsland C, Steer C, Mason BA, Campbell S, Ovarian cyst aspiration and the outcome of in vitro fertilization, *Fertil Steril*,1990,54:661.
- 58) Balasch J, Vidal E, Penarrubia J, Casamitjana R, Carmona F, Creus M, Fabregues F, Vanrell JA, Suppression of LH during ovarian stimulation; analysing threshold values and effects ovarian response and

the outcome of assisted reproduction in down-regulated women stimulated with recombinant FSH, *Hum Reprod* 2001,16:1636.

59) 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.

60) 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.

61) 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.

62) 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.

63) 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.

64) 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.

65) 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 oocyte embryo transfer cycle, *Fertil Steril* 1993,59:72.

66) Matikainen T, Ding YQ, Vergara M, Huhtaniemi I, Cuuzinet B, Schaison G, Differing responses of plasma bioactive and immunoreactive follicle-stimulating hormone antagonist and agonist treatments in postmenopausal women, *J Clin Endocrinol Metab* 1992,75:820.

67) Olivennes F, Cunha-Filho JS, Fanchin R, Bouchard P, Frydman R, The use of GnRH antagonists in ovarian stimulation, *Hum Reprod Update* 2002,8:279.

68) Felberbaum RE, Albano C, Ludwig M, Riethmuller-Winzen H, Grigat M, Devroey P, Diedrich K, Ovarian stimulation for assisted reproduction with hMG and concomitant midcycle administration of the GnRH antagonist cetrorelix according to the multiple dose protocol : a prospective uncontrolled phase III study , *Hum Reprod* 2000,15:1015.

69) Ludwig M, Felberbaum RE, Devroey P, Albano C, Riethmuller-Winzen H, Schuler A, Engel W, Diedrich K, Significant reduction of the incidence of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) by using the LHRH antagonist Cetrorelix ( cetrotide) in controlled ovarian stimulation for assisted reproduction , *Arch Gynecol Obstet* 2000,264:29.

70) Ludwig M, Katalinic A, Diedrich K, Use of GnRH antagonists in ovarian stimulation for assisted reproductive technologies compared to the long protocol. Meta-analysis, *Arch Gynecol Obstet* 2001,265:175.

71) The Ganirelix Dose-Finding Study Group, A double – blind , randomized, dosefinding study to assess the efficacy of the gonadotropin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462) to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarian stimulation with recombinant folliclestimulating hormone (Puregon), *Hum Reprod* 1998,13:3023.

72) De Jong D, Macklon NS, Eijkemans MJ, Mannaerts BM, Coelingh Bennink HJ, Fauser BC, Dynamics of the development of multiple follicles during ovarian stimulation for in vitro fertilization using recombinant follicle-stimulating hormone (Puregon) and various doses of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (orgalutran/antagon). *Fertil Steril* 2001,75:688.

- 73) Albano C, J, Camus M, Riethmüller-Winzen H , Siebert-Weigel M, Diedrich K, Van Steirteghem AC, Devroey P, Comparison of different doses of gonadotropin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during controlled ovarian hyperstimulation, *Fertil Steril* 1997,67:917.
- 74) Rooney, D.E., Czepulkowski, B.H, ‘‘Human Cytogenetics’’, Second Edition, Oxford University Press, (1992).
- 75) Gardner, R. J. M. K., Sutherland, G. R, ‘‘Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling’’, Oxford University Press, 1996.
- 76) Başaran, N, ‘‘Tıbbi Genetik’’, 7. Baskı, Güneş ve Nobel Tıp Kitabevi, (1999).
- 77)Conner, J.M., Smith, F. M.A, ‘‘Essential Medical Genetics’’, Blackwell Scientific Puplications, Fourth ed.,(1993)
- 78) Fenech, M., Crott, W.J, ‘‘Micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds induced in folic acid deficient human lymphocytes-evidence for breakage-fusion-bridge cycles in the cytokinesis-block micronucleus assay’’,*Mutation Research*,2002, 504: 131-136
- 79) Fenech, M, ‘‘The lymphocyte cytokinesis-block micronucleus cytome assay and its application in radiation biodosimetry’’, *Health Phys*, 98(2): 234-243 (2010).
- 80) Thomas, P., Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E K., Fenech, M. , ‘‘Buccal micronucleus cytome assay’’, *Nat. Protoc.* 2009,4(6) :825-837
- 81) Wu, J., Lyons, GH., Graham, RD., Fenech, M., ‘‘The effect of selenium, as selenomethionine, on genome stability and cytotoxicity in human lymphocytes measured using the cytokinesis-block micronucleus cytome assay’’,*Mutation Research*, 2009,24(3) :225-232
- 82)Fenech, M, ‘‘The in micronucleus technique’’, *Mutation Research*, 2000,455: 81-95,
- 83) Bolognesi, C., Filiberti, R., Neri, M., Perrone, E., Landini, E., Canessa, P.A., Simonassi, C., Cerrano, P.G.,Mutti, L., Puntoni, R, ‘‘High Frequency of Micronuclei in Peripheral Blood Lymphocytes as Index of Susceptibility to Plevral Malignant Mesothelioma’’, *Cancer Research*, 2002,62: 5418-5419
- 84) Rothfub, A., Schütz, P., Bochum, S., Volm, T., Eberhardt, E., Kreienberg, R., Vogel, W, ‘‘Induced Micronucleus Frequencies in Peripheral Lymphocytes as a Screening Test for Carriers of a BRCA1 Mutation in Breast Cancer Families’’, *Cancer Research*, 2000,60: 390-394
- 85) Smimizu, N., Shimura, T., Tanaka, T, ‘‘ Selective elimination of acentric double minutes from cancer cells through the extrusion of micronuclei’’, *Mutation Research*, 2000,448: 81-90.
- 86) Bonassi,S., Fenech, M., Lando, C., Lin, Y.P., Ceppi, M., Chang, W.P., Holland, N., Volders, M.K., Zeiger, E.,Ban, S., Barale, R., Bigatti, M.P., Bolognesi, C., Tia, C., Giorgio, D.M., Ferguson, L.R., Fucic, A., Lima, O.G.,Hrelia, P., Krishnaja, A.P., Lee, T.K., Migliore, L., Mikhalevich, L., Mirkova, E., Mosesso, P., Muller, W.U., Odagiri, Y., Scarfi, M.R., Szabova, E., Vorobtsova,I., Vral, A.,Zijno, A, ‘‘Human Micronucleus Project: International Database Comparison for Results With the Cytokinesis-Block Micronucleus Assay in Human Lymphocytes: I. Effect of Laboratory Protocol, Scoring Criteria, and Host Factors on the Frequency of Micronuclei’’, *Environmental and Molecular Mutagenesis* 2001,37: 31-45 .
- 87) Elhajouji, A., Tibaldi, F., Volders, K.M, ‘‘Indication for thresholds of chromosome non-disjunction versus chromosome lagging induced by spindle inhibitors in vitro in human Lymphocytes’’, *Mutagenesis*, 1997,12:133-140
- 88) Lindholm, C., Norppa, H., Hayashi, M., Sorsa, M, ‘‘Induction of micronuclei and anaphase aberrations by cytochalasin B in human lymphocyte cultures’’, *Mutation Research*, 1991,260: 369-375

- 89) Tawn, E.J., Whitehouse, C.A, "Frequencies of chromosome aberrations in a control population determined by G banding", *Mutation Research*, 2001,490: 171-177 .
- 90) Umegaki, K., Fenech, M, "Cytokinesis-block micronucleus assay in WILZ-NS cells: a sensitive system to detect chromosomal damage induced by reactive oxygen species and activated human neutrophils", *Mutagenesis*, 2000,15: 261-269.
- 91) Seoane, A.I., Dulout, F.N, "Genotoxic ability of cadmium, chromium and nickel salts studied by kinetochore staining in the cytokinesis-blocked micronucleus assay", *Mutation Research*, 2001,490: 99-106.
- 92) Toksi, G., Stankovi, M., Radovanovi, S., Dragi, M, "The use of cytochalasin block (CB) micronucleus test to identify clastogenic and antiproliferative action", *Archives of Oncology*, 2001,9: 47-48.
- 93) Maluf, S.W., Erdtmann, B, "Genomic instability in Down Syndrome and Fanconi anemia assessed by micronucleus analysis and single-cell gel electrophoresis", *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 2000,124: 71-75.
- 94) Bisht, S.K., Devi, U.P, "Dose dependent increase in the frequency of micronuclei and chromosomal aberrations by misonidazole in mouse bone marrow", *Mutation Research*, 1994,325: 57-63
- 95) Digue, L., Orsiere, T., Meo, D.M., Mattei, G.M., Depetris, D., Duffaud, F., Favre, R., Botta, A, "Evaluation of the Genotoxic Activity of Parlitaxel by the in Vitro Micronucleus Test in Combination With Fluorescent in Situ Hybridization of a DNA Centromeric Probe and the Alkaline Single Cell Gel Electrophoresis Technique (Comet Assay) in Human T-Lymphocytes", *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 1999,34: 269-278.
- 96) Fomina, J., Darroudi, F., Boel, J.J. W.A., Natarajan, T, "Discrimination between complete and incomplete chromosome exchanges in X-irradiated human lymphocytes using FISH with pan-centromeric and chromosome specific DNA probes in combination with telomeric PNA Probe", *Int. J. Radiat. Biol.* 2000,76: 807-813
- 97) Migliore, L., Cocchi, L., Nesti, C., Sabbioni, E, "Micronuclei Assay and FISH Analysis in Human Lymphocytes Treated With Six Metal Salts", *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 1999,34: 279-284.
- 98) Thomas, P., Umegaki, K., Fenech, M, "Nucleoplasmic bridges are a sensitive measure of chromosome rearrangement in the cytokinesis-block micronucleus assay", *Mutagenesis*, 2003,18: 187-194 .stimulation protocols for in vitro fertilization, *Fertil Steril* 46: 1108, 1986.
- 99) Giudice LC. Endometrium in PCOS: IMPLANTATION AND PREDISPOSITION TO ENDOCRINE CA. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2006;20(2):235 -44.
- 100) Kallen B, Finnström O, Lindam A, Nilsson E, Nygren KG, Olausson PO. Malignancies among women who gave birth after in vitro fertilization. *Hum Reprod* 2011;26(1):253-8.
- 101) Yli-Kuha AN, Gissler M, Klemetti R, Luoto R, Hemminki E. Cancer morbidity in a cohort of 9175 Finnish women treated for infertility. *Hum Reprod* 2012;27(4):1149-55.
- 102) <http://globocan.iarc.fr/factsheet.asp> WOMEN
- 103) <http://www.kanser.gov.tr/folders/file/8il-2006-SON.pdf>
- 104) Taşkın L (2006). Kadın Hastalıkları ve Doğum Hemşireliği, Palme Yayıncılık.
- 105) T.C. Sağlık Bakanlığı: Türkiye’de Bölgelere ve Cinsiyete Göre Kanser Olguları, 2003 yılı verileri, [www.saglik.gov.tr](http://www.saglik.gov.tr) (son erişim tarihi: 09.03.2008)

106) World Health Organization: Comprehensive cervical cancer control: a guide to essential practice, WHO, Geneva. (2006).

107) Doorbar J: The papillomavirus life cycle, J Clin Virol 2005;32(Suppl 1):7-15.