



T.C.

EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ



KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

**İN-VİTRO FERTİLİZASYON (IVF) TEDAVİSİNDE İMPLANTASYON
BAŞARISININ ENDOMETRİYAL RENKLİ DOPPLER DİNAMİK DOKU
PERFÜZYON ÖLÇÜMÜ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. SEDA AKGÜN KAVURMACI

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. EGE NAZAN TAVMERGEN GÖKER

İZMİR

2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET	II
TABLO-ŞEKİL DİZİNİ	III
KISALTMALAR	V
1.GENEL BİLGİLER	1
1.1.Tarihsel Bakış	1
1.2.İnfertilite	2
1.3.Fertiliteyi Etkileyen Faktörler	3
1.4.İnfertilite Nedenleri	4
1.4.1.Erkek İnfertilitesi	5
1.4.2.Kadın İnfertilitesi	6
1.4.3. Açıklanamayan İnfertilite	9
1.5.Yardımcı Üreme Teknikleri (ART)	10
1.6.İn Vitro Fertilizasyon (IVF)	11
1.6.1.Over Stimülasyonu	12
1.6.2.Oosit Toplanması	17
1.6.3.İn-vitro Matürasyon ve Fertilizasyonu	18
1.6.4.Embriyo Transferi	19
1.6.5.İmplantasyon	21
1.7.IVF'te Ultrasonografinin Yeri	22
2.GİRİŞ	25
3.ARAÇ-YÖNTEM	27
4.BULGULAR	32
5.TARTIŞMA	39
6.SONUÇ	45
7.KAYNAKLAR	46

ÖZET

AMAÇ: Çalışmamızda renkli doppler ultrasonografiyle dinamik doku perfüzyon ölçümü yapılarak IVF tedavisinde implantasyon başarısı değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Çalışmaya Ege Üniversitesi Rektörlüğü Aile Planlaması ve Kısırlık Araştırma Uygulama Merkezi'nde Temmuz-Ekim 2017 tarihleri arasında IVF/ICSI-ET tedavisine alınan ve GnRH antagonist protokolü ile ovulasyon indüksiyonu uygulanan hastalardan diğer çalışma kriterlerini de karşılayan 30 gönüllü dahil edildi. Transfer günü transvajinal ultrasonografi ile endometriyal kalınlık ölçülerek ve endometriyal morfoloji belirlendi. Uterus midsagittal kesitte daha önce belirlenmiş olan ön ayarda renkli doppler özelliği kullanılarak 15 saniyelik görüntü kaydedildi. Kaydedilen görüntüler PixelFlux Chameleon Software (GmbH, Münster Germany) bilgisayar programında açılarak üzerinde endometriyum sınırları çizilerek region of interest (ROI) belirlendi. Program otomatik olarak görüntülediği analiz formu RI ve PI için üç parametre hız (velocity, V), yoğunluk (intensity, I) ve alan (area, A)'ın red, blue ve her ikisinin ortalaması olan mix'in rakamsal değerlerini ve grafiklerini içermektedir. Bu parametrelerden Vmix için RI ve PI ile Vmix, Amix ve Imix average değerleri kaydedildi. Transfer sonrası 14. gün β -hCG değeri 50 mIU/ml \leq saptanan olgular TVUSG'de fetal kalp atımı görüldükten sonra klinik gebe olarak kabul edildi.

BULGULAR: Klinik olarak gebelik elde edilen ve edilemeyen hasta gruplarında Vmix için RI ve PI ile Vmix, Amix ve Imix average değerleri istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Her iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

SONUÇ: IVF tedavisinde implantasyon başarısını belirlemede uterin reseptivite ve endometriyal perfüzyonun önemi yadsınamaz. İmplantasyon ile perfüzyon arasındaki ilişkinin ortaya konabilmesi için daha geniş serilerde çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

ANAHTAR KELİMELER: Endometriyal dinamik doku perfüzyon ölçümü, IVF'te implantasyon başarısı, PixelFlux Chameleon Software

TABLO-ŞEKİL DİZİNİ

TABLolar

Tablo 1: Erkek infertilitesi nedenlerinin sınıflaması	5
Tablo 2: WHO semen analizi referans değerleri	5
Tablo 3: WHO ovulatuvar disfonksiyon sınıflaması	7
Tablo 4: Açıklanamayan infertilitede tedavi seçeneklerinin ortalama siklus fekundabilitesi	10
Tablo 5: Endometriyal morfoloji sınıflaması	23
Tablo 6: Çalışma kriterleri	27
Tablo 7: Çalışmaya alınan olguların demografik verileri	32
Tablo 8: Olguların ovulasyon indüksiyonu sonuçları	34
Tablo 9: Grup 1 ve 2 için demografik özelliklerin ve bazal hormon profilinin karşılaştırılması	35
Tablo 10: Grupların ovulasyon indüksiyon sonuçlarının karşılaştırılması	35
Tablo 11: TRI, TPI ile V mix, A mix ve I mix average değerlerinin analizi	37

ŞEKİLLER

Şekil 1: İlişki süresine göre gebelik yüzdeleri	2
Şekil 2: Üreme penceresi döneminde gebelik olasılığı	4
Şekil 3: CC tedavisinde FSH, LH ve progesteron düzeyleri	12
Şekil 4: GnRH agonistleri ile uzun baskılama protokolü	15
Şekil 5: GnRH agonistleri ile kısa/flare protokol	15
Şekil 6: GnRH antagonistleri ile over stimülasyonu protokolleri	16
Şekil 7: Oosit matürasyonu	18
Şekil 8: ICSI uygulama basamakları	19
Şekil 9: Embriyonun transfer kateterine yüklenmesi	20
Şekil 10: USG’de endometriyal morfoloji sınıflaması	23
Şekil 11: PixelFlux Chameleon Software’de USG görüntüsünün açılması	28
Şekil 12: ROI sınırlarının belirlenmesi	29
Şekil 13: Kardiyak ritimde kan akım hızları	29
Şekil 14: PixelFlux Chameleon Software analiz formu	31
Şekil 15: Primer/sekonder infertilite ve IVF-ET uygulama sayısı oranları	33
Şekil 16: Çalışmaya alınan olguların infertilite etiyojileri	33
Şekil 17: Grup 1 ve 2’nin infertilite etiyojileri	35
Şekil 18: Grupların ET günü ultrasonografik endometriyum paternleri	36
Şekil 19: Gruplar arasında doppler parametrelerinin karşılaştırılması	38

KISALTMALAR

A	Alan, area
ART	Asisted reproductive technology, yardımcı üreme teknikleri
AMH	Anti-müllerian hormon
BMI	Vücut kitle indeksi
CC	Klomifen sitrat
E ₂	Östradiol
ET	Embriyo transferi
FI	Flow indeks
FSH	Folikül stimulan hormon
GIFT	Gamet intrafallopian transfer
GnRH	Gonadotropin releasing hormon
hCG	Human koryonik gonadotropin
hMG	Human menapozal gonadotropinleri
HSG	Histerosalpingografi
I	Yoğunluk, intensity
ICSI	İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu
IU	Uluslararası ünite
IUI	İntrauterin inseminasyon
IVF	In-vitro fertilizasyon
MESA	Mikro epididimal sperm aspirasyonu
mmHg	Milimetre civa
LH	Luteinizan hormon
OPU	Oocyte pick-up, oosit toplanması
OHSS	Ovarian hiperstimülasyon sendromu
PCOS	Polikistik over sendromu

PGD	Preimplantasyon genetik tanı
PI	Pulsatilite indeksi
PID	Pelvik inflamatuvar hastalık
PRL	Prolaktin
PZD	Parsiyel zona diseksiyonu
RI	Direnç indeksi
RIA	Rahim içi araç
ROI	Region of interest, ilgi alanı
STIC	Spatio-temporal image correlation
SUZI	Subzonal sperm injeksiyonu
TESE	Testiküler sperm ekstraksiyonu
TET	Tubal embriyo transferi
TPI	Tissue pulsatility index
TRI	Tissue resistance index
TSH	Tiroid stimulan hormon
TVUSG	Transvajinal ultrasonografi
V	Hız, velocity
VFI	Vaskularite flow indeks
VI	Vaskularite indeksi
VOCAL	Virtual Organ Computer-Aided Analysis
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
ZIFT	İntrafallopian zigot transferi
2D	İki boyutlu
3D	Üç boyutlu

1. GENEL BİLGİLER

1.1. TARİHSEL BAKIŞ

Üreme hakkında bildiklerimizin kökeni jinekolojiyle ilgili konuların ilk yazarlarından olan Hippocrates'e atfedilmiş olsa da Aristo "Hayvanların Kökenleri" adlı tezinde üremeye ilgili birçok konuyu ele almıştır. Bundan sonraki dönemlerde kadın genital sistem anatomisi detaylı olarak tanımlanmıştır. 1672'de De Graff folikülü tanımlarken, Leuwenhoek ise spermatozoaları tanımlamıştır. Lazzaro Spallanzani hayvanlarda ilk başarılı artifisyonel inseminasyon (suni dölllenme) deneylerini uygulamıştır. Hunter ise insanda ilk artifisyonel inseminasyonu 1786'da uygulamıştır (1).

1950'lerde jinekologların infertiliteye olan ilgisi artmıştır. Klein ve Palmer 1961'de ilk kez laparoskopi sırasında oosit aspirasyonunu tarif etmişlerdir (2). 1962'de anovulasyona bağlı ovulatuvar disfonksiyon medikal tedavisinde klomifen sitrat (CC) kullanıma girmiştir. İnsanda in-vitro fertilizasyon (IVF) ve embriyo transferini (ET) gerçekleştirmeyi amaçlayan Robert G. Edwards, insan oositlerinin ovulasyondan sonra 35-40 saatte matürasyonlarını tamamladıklarını ve bu süreden sonra yapılacak inseminasyonun başarıya ulaşabileceğini öne sürmüştür. Daha sonra laparoskopi alanında tecrübeli Patrick C. Steptoe ile çalışmalarına devam etmiştir. Çalışmalarının sonucunda ilk IVF bebeği olan Louise Brown 25 Temmuz 1978'de dünyaya gelmiştir.

Sonraki 10 yıl yardımcı üreme teknikleri konusunda büyük ilerlemelerin olduğu yıllardır. Ultrason eşliğinde folikül aspirasyonunun yapılması, gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) agonistlerinin kullanıma girmesi, insan embriyosunun dondurulması, intrafallopian gamet transferi (GIFT) ve intrafallopian zigot transferi (ZIFT) ile ilk gebeliklerin elde edilmesi, preimplantasyon genetik tanı (PGD), GnRH antagonistlerinin klinik kullanımı ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) gibi gelişmeler yaşanmıştır.

Dünyada henüz birçok ülkede tüp bebek uygulanamaz iken Türkiye'nin ilk Tüp Bebek Merkezi Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Prof. Dr. Refik Çapanoğlu önderliğinde, Dr. Erol Tavmergen başta olmak üzere ekibinin özverisiyle 1988'de

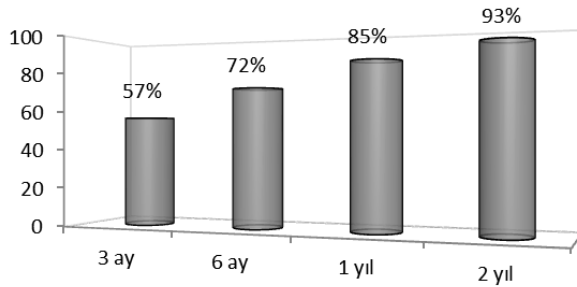
çalışmalarına başlamıştır. 18 Nisan 1989'da ise ülkemizin ilk tüp bebeği Ege Üniversitesi'nde dünyaya gelmiştir.

İlk başarılı sonuçlarının elde edilmesinden günümüze kadar geçen süreçte birçok gelişme kaydedilmiştir. Çoğul gebeliklerin engellenmesi, hiperstimülasyonun önlenmesi ve embriyoların kromozomal taraması gibi konular güncelliğini korusa da halen asıl amaç çocuk istemiyle başvuran tüm hastalarda canlı gebelik elde edilmesidir. Bu amaçla yardımcı üreme tekniklerinin (ART) başarısızlığının nedenleri ile ilgili çalışmalar hız kesmeden devam etmektedir.

1.2. İNFERTİLİTE

İnfertilite, 1 yıl süreyle uygun zamanlı korunmasız ilişkiye rağmen gebelik elde edilememesi olarak tanımlanır (3). Daha önce hiç gebeliği olmayanlar primer infertil, canlı doğum ile sonuçlanmamış olsa bile gebelik öyküsü olanlar ise sekonder infertil olarak sınıflandırılır.

Fekundabilite; bir menstrüel siklusta gebelik elde etme olasılığı olarak tanımlanmaktadır. Geniş popülasyon çalışmaları sonunda bu olasılığın %20-25 arasında olduğu ortaya konmuştur (4). Korunmasız cinsel birliktelik sonrası kadınların yaklaşık %57'si 3 ayda, %72'si 6 ayda ve %85'i 1 yılda gebe kalabilmektedir (Şekil 1) (4, 5, 6). Fekundite; bir siklusta canlı doğuma kadar gidebilecek gebelik oluşma olasılığıdır, bu nedenle fekundite oranları fekundabilite oranlarından daha düşüktür.



Şekil 1: Korunmasız ilişki süresi arttıkça gebelik oranları da giderek artmaktadır.

■ GEBELİK YÜZDESİ

İnfertilite, üreme çağındaki çiftlerin %10-15'ini etkileyen bir durumdur (5). İnfertilite prevalansının rölatif olarak sabit kaldığına inanılsa da son 40 yıl içerisinde infertilite için değerlendirme ve tedavi ihtiyacı artmıştır (7).

1.3. FERTİLİTEYİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Reprodüktif sistemi şüphesiz birçok faktör etkilemektedir. Bunlar arasında en önemli olanlar aşağıda ele alınmıştır.

Maternal Yaş: Yaş tek başına fertilitiyi etkileyen önemli bir faktördür. Kadın fertilitesi 24 yaşından sonra azalma eğiliminde olup 37 yaş sonrasında bu düşüş daha belirgin hale gelmektedir (8). Yaş ile birlikte oosit sayısındaki azalmaya ek olarak oosit kalitesinde de bir azalma söz konusudur (9). Oositlerin kromozomal hasarlanma riski yaşla birlikte artmaktadır. Bu kromozomal hasarlar fertilizasyonu etkileyebileceği gibi ilk trimester kayıplarına da neden olabilmektedir.

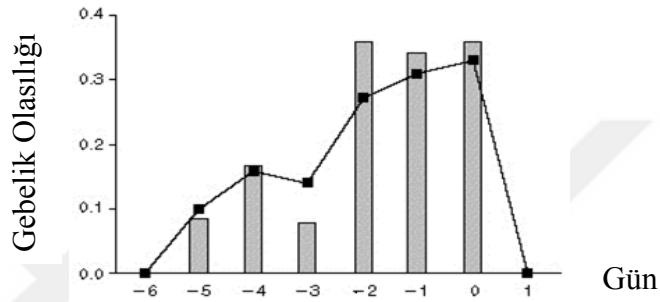
Paternal Yaş: Baba yaşının fertiliteye etkisi tartışmalıdır. Kadınlarda 40'lı yaşlarda fertilité ciddi anlamda düşerken erkeklerde bu daha azdır. Paternal yaşla birlikte semen analizi parametrelerinde (hacim, motilite ve morfoloji gibi) bozulma saptanır (10) ama aneuploidi oranının yaşla birlikte arttığını gösteren kanıt bulunamamıştır (11).

Diyet: Yetersiz beslenmeye bağlı aşırı zayıf kadınlarda ve vücut ağırlığı fazla olanlarda ovulatuvar disfonksiyon saptanmaktadır. Ayrıca vücut kitle indeksi (BMI) $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ olan kadınlarda IVF başarısının da daha düşük olduğu saptanmıştır (12).

Sigara, Alkol, Kafein: Sigaranın birçok sistem üzerinde olduğu gibi kadın üreme sistemi üzerinde de olumsuz etkileri vardır. Sigara içenlerde fertilitenin azaldığı ve içmeyenlere göre menapozun daha erken yaşlarda görüldüğüne dair kanıtlar mevcuttur. Alkol ise doz bağımlı olarak fekundabilitiyi azaltmaktadır. Kafein'in fertiliteye etkisi sigara ve alkol kadar net konulamamış olup fertilitiyi etkilemediğini öne süren yayınlar da mevcuttur (13).

Stres ve Anksiyete: İnfertil kadınların yaklaşık %40'ında anksiyete ve/veya depresyon vardır. Bu toplum geneline bakıldığında çok yüksek bir orandır (14). Stresin infertiliteye neden olduğunu kanıtlamak güç ancak ART tedavi başarısını azalttığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (15). Davranış terapileri ART başarısını arttırmada efektif bir yöntem olarak kullanılabilir.

Coitus Zamanlaması ve Sıklığı: Kadınlar menstrüel siklusun yalnızca üreme penceresi döneminde gebe kalabilirler. Ve bu dönemde gebelik elde etme şansı farklılık göstermektedir. Gebelik oranlarının ovulasyondan önceki 2. gündeki coitusta maksimuma ulaştığını ortaya konmuştur (Şekil 2). Aynı zamanda bu dönemde 2-3 coitusun gebelik şansını arttırdığı ancak bu sayı 4-6'ya yükseldiğinde gebelik oranının azaldığı saptanmıştır (16, 17).



Şekil 2: Üreme penceresi dönemine bakıldığında en yüksek gebelik oranları ovulasyondan önceki 2. günde coitus sonrası elde edilmektedir.

1.4.İNFERTİLİTE NEDENLERİ

İnfertilite temel olarak erkek infertilitesi, kadın infertilitesi ve açıklanamayan infertilite şeklinde kategorize edilebilir. İnfertilite nedenlerinin rölatif prevalansları popülasyona göre değişebilir (18).

İnfertilite Nedenleri Rölatif Prevalansları (18)

Erkek infertilitesi	%20-30
Kadın infertilitesi	%40-55
Kadın ve erkek infertilitesi	%10-40
Açıklanamayan infertilite	%10-20

1.4.1.ERKEK İNFERTİLİTESİ

İnfertil çiftlerin yaklaşık üçte birinde erkek kaynaklı infertilite söz konusu iken; erkeklerin %7'si infertilite ile karşı karşıyadır (19). Erkek infertilitesi nedenleri temel olarak 3 başlığa ayrılabilir: hormonal, testiküler ve post-testiküler (Tablo 1). Bu nedenlere bakıldığında %44 ile nedeni bilinmeyen spermatogenik bozukluklar ve %40 ile varikozel ciddi bir yüzdeyi oluşturmaktadır (20).

Tablo 1: Erkek infertilitesi nedenlerinin sınıflaması;

HORMONAL	Kallmann sendromu
	Hipofiz tümörleri
	Androjen reseptör mutasyonları
TESTİKÜLER	Varikozel
	Anorşi, torsiyon
	Orşit
	Klinefelter sendromu
	Y kromozom defektleri
	Testis tümörleri
	İlaçlar
	Metabolik hastalıklar
	İmmünolojik
	POST-TESTİKÜLER
Vazektomi	
Sperm anti body	
Eretil disfonksiyon	
Ejekulatuvar bozukluk	
Aksesuar bezlerin enfeksiyonu	

Ayrıntılı bir anamnez ve fizik muayeneyi takiben erkekte fertilité değerlendirilmesinde temel test semen analizidir ve yorumlamada Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) yayınladığı referans değerler kabul görmektedir (Tablo 2) (21).

Tablo 2: WHO semen analizi referans değerleri;

Semen volümü (ml)	1,5 (1,4-1,7)
Total sperm sayısı (10^6)	39 (33-46)
Sperm konsantrasyonu (10^6 /ml)	15 (12-16)
Progresif motilite (%)	32 (31-34)
Sperm morfolojisi (normal formlar, %)	4 (3,0-4,0)
Vitalite (%)	58 (55-63)
Immunobead testi (%)	<50
Lökosit (10^6 /ml)	<1

Semen analizi terminolojisi; (22)

- ❖ Normozoospermi: Referans değerlerle tanımlanan normal ejakülat
- ❖ Oligozoospermi: Konsantrasyon için referans değerden daha düşük değer
- ❖ Astenoospermi: Hareketlilik için referans değerden daha düşük değer
- ❖ Teratoospermi: Morfoloji için referans değerden daha düşük değer
- ❖ Oligoastenoteratoospermi: Her üç değişkende olan bozukluğa işaret eder
- ❖ Azoospermi: Ejakülatta hiç spermatozoa olmaması
- ❖ Aspermi: Hiç ejakülat elde edilememesi

Eğer semen analizi normal saptanmış ise ileri bir incelemeye gerek yoktur. Ancak anormal ise spermiyogram 2-4 hafta sonra tekrar yapılmalıdır. Ayrıca belirgin olarak bozulmuş spermatogenezi açıklayabilecek bir endokrinopatinin ekartasyonu için folikül stimulan hormon (FSH), luteinize edici hormon (LH), testosteron ve prolaktin düzeylerine de bakılmalıdır. Non-obstrüktif azospermisi olan hastaların %10-15'inde ve ciddi oligospermi saptanan hastaların %5'inde anormal karyotip saptanmaktadır (23). Genetik inceleme ciddi oligospermi saptanan hastalarda gereklidir.

1.4.2.KADIN İNFERTİLİTESİ

Kadın infertilitesi ovulatuvar disfonksiyon, tubal ve pelvik faktörler, uterin faktörler, servikal faktörler ve açıklanamayan infertilite olarak 5 ana başlık altında toplanabilir.

Ovulatuvar Disfonksiyon: Tüm kadın infertilitesi olgularının %30-40'ından ovulatuvar disfonksiyon sorumludur (18). Reprodüktif dönemde menstrüel siklusun 21 ile 35 gün (ortalama 27-29 gün) arasında olması normal kabul edilmektedir (24). Ovulatuvar disfonksiyon normal sınırlar dışında menstrüel siklusu olan kadınlarda görülmektedir. İlk değerlendirmede tiroid stimulan hormon (TSH), prolaktin, siklusun 3. günü FSH, LH ve östradiol (E₂) düzeylerine bakılmalıdır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ovulatuvar disfonksiyonları şu şekilde gruplandırmıştır (Tablo 3) (25).

Tablo 3: WHO ovulatuvar disfonksiyon sınıflaması;

GRUP 1: Hipogonadotropik hipogonadal anovulasyon (hipotalamik amenore)	Ovulatuvar disfonksiyonların %10'unu oluşturur. FSH, LH, E ₂ düzeyleri düşük; prolaktin düzeyleri normal tespit edilir. Bu grupta klasik olarak anoreksia nervosa, Kallman's sendromu, hipofizer adenom yer alır.
GRUP 2: Normogonadotropik normoöstrojenik anovulasyon	Ovulatuvar disfonksiyonların %85'ini oluşturur. Bu grupta en sık görülen polikistik over sendromudur (PCOS). Hiperprolaktinemi ve tiroid hastalıkları da bu grupta yer almaktadır.
GRUP 3: Hipergonadotropik hipoöstrojenik anovulasyon	Geriye kalan %5'lik kısmı oluşturur. Prematür ovaryan yetmezlik ve rezistan over sendromu bu grup içerisinde değerlendirilir.

Tubal ve Pelvik Faktörler: Fallop tüplerinin hasarlanma sonucu transport ya da fertilizasyon için uygun bir ortam sağlayamadığı durumlarda tubal infertiliteden bahsedilebilir. Tubal faktörler kadın infertilitesi etiyolojilerinin %25-35'ini oluşturmaktadır ve bunların yarısından fazlasına pelvik inflamatuvar hastalık (PID) neden olmaktadır (26). Diğer risk faktörleri ise endometriozis, geçirilmiş pelvik cerrahi ve geçirilmiş ektopik gebelik öyküsü olarak sıralanabilir (27).

Pelvik ağrı ya da dismenore gibi semptomlar, pelvik adezyon ya da tubal obstrüksiyon bulgusu olabilir. Ayrıca geçirilmiş PID öyküsü varlığı fallop tüpü hasarı ya da pelvik adezyonlar için kuşku uyandırmalıdır. Geçirilen her PID atağı tubal infertilite riskini arttırmaktadır. İlk atak sonrası %12, ikinci atak sonrası %23, üçüncü atak sonrası %54 oranında tubal infertilite görüldüğü bildirilmiştir (28). Ancak hastanın geçirilmiş PID öyküsünün olmaması tubal hasar olmayacağı anlamına gelmez. Tubal hasar saptanan hastaların yaklaşık yarısında PID öyküsü yoktur (29). En sık etkenler ise Chlamydia trachomatis ve Neisseria gonorrhoeae'dir. Ayrıca gelişmekte olan ülkelerde genital tüberküloz infertilitenin %3-5'lik kısmını oluşturmaktadır (30).

Endometriozis reproduktif dönemdeki kadınların %6-10'nu etkilemektedir ancak infertil kadınların %25-50'sinde görülmektedir. Uterin kavite dışında gelişen endometriyal doku ile karakterizedir özellikle peritoneum, overler ve rektovajinal

septumda izlenir (31). Endometriozisin, adezyonlardan kaynaklanan anatomik bozukluklar ve inflamatuvar mediatörler yoluyla infertiliteye neden olduğu düşünülmektedir (31, 32). Endometriozisli infertil hastaların klinik yaklaşımında kadının yaşı, infertilite süresi, eşlik eden erkek faktörünün varlığı, pelvik ağrı, endometriozisin derecesi gibi birçok faktör dikkate alınmalıdır (32).

Tubal faktörün değerlendirilmesinde histerosalpingografi (HSG) ilk tercih edilen tetkik olup, tubal geçirgenliğin değerlendirilmesinin yanı sıra uterin kavitenin durumu hakkında da bilgi sağlamaktadır.

Uterin Faktörler: Müllerian anomalilerin (uterin septum, bikornuat uterus, unikornuat uterus ve uterus didelfis) gebelik komplikasyonları ile ilişkisi daha belirgin olmakla birlikte infertilite ile ilişkileri tartışmalıdır.

Endometriyal polipler infertil kadınların %3-5'inde saptanmaktadır (33). Endometriyal polipler kitle etkisi ya da endometriyal çevreyi bozarak infertiliteye neden olabilmektedir. Literatürdeki tek randomize kontrollü çalışma 1 cm'den küçük bile olsa polip ekstripsiyonunun intrauterin inseminasyon (IUI) sonrası gebelik oranlarını arttırdığını göstermiştir (34). 2014 Cochrane derlemesinde subfertil kadınlarda endometriyal poliplerin çıkarılmasının etkinliğini ve güvenilirliğini saptamada uygun randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç olduğu ve minimal invaziv bir işlem olan histeroskopi ile polipektominin aynı zamanda histolojik tanı sağlayacağı da vurgulanmıştır (35).

Leiomyom saptanan kadınlarda implantasyon, gebelik ve canlı doğum sonuçları olmayanlara göre anlamlı olarak düşüktür (36). Bu etkileri submüköz myomlar daha fazla olmak üzere intramural myomlarda da gözlenmektedir. Ancak subseröz myom saptanan hastaların fertilitate sonuçlarında belirgin bir fark gözlenmediği bildirilmiştir (36, 37) Özellikle endometriyal kaviteyi etkileyen myomların mümkün olan en az invaziv metotla çıkarılması fertilitate oranlarını arttırmaktadır (37, 38).

Asherman sendromu; ince adezyonlar, yoğun bantlar veya kaviteyi oblitere eden skar dokusu oluşumu şeklinde tanımlanır. Abortus, enfekte rahim içi araç (RIA) varlığı, genital tüberküloz, dilatasyon küretaj ya da uterin cerrahi sonrası görülebilir

(39). Hastalarda oligomenore hatta amenore gelişebilir. HSG'de uterin kavite düzensizdir ve kıvrımlı dolun defektleri gözlemlenir. Gebelik üzerindeki etkisi, yüksek infertilite oranı, erken gebelik kayıpları, IVF sonrası kötü implantasyon ve anormal plasentasyondur (40, 41). Histeroskopik olarak adezyonların giderilmesi tedavi yöntemidir.

Luteal faz normalde korpus luteumdan progesteron salınımı ve endometriyumda implantasyona olanak veren endometriyal sekresyon transformasyonu ile karakterizedir (42, 43). Luteal faz defekti, implantasyon penceresi süresince sekretuar endometriyumun gelişmemesidir ve infertilitenin %4'ünü oluşturduğu düşünülmektedir (44). Mid-luteal fazda bakılan serum progesteron düzeylerinin 5-10 ng/ml'den az olması tanıda faydalıdır. Hastalara progesteron desteği sağlanmalıdır.

Servikal Faktörler: Servikal bezlerden salgılanan mukus siklus ortasında östrojen etkisiyle incelik ve daha esnek bir hal alır. Böylece spermin uterin kaviteye yönelmesine yardımcı olur ayrıca sperm için 24-72 saat boyunca rezervuar oluşturarak fertilizasyon için zamanı uzatır (45). Servikal kriyoterapi, konizasyon veya loop elektrocerrahi eksizyon prosedürü öyküsü olanlarda servikal mukus kalitesi bozulur. Servikal mukus değerlendirilmesinde postkoital test kullanılabilir ancak günümüzde rutin pratikte yeri yoktur (46).

1.4.3.AÇIKLANAMAYAN İNFERTİLİTE

Tanı; normal semen analizi, ovulasyonun objektif kanıtları, normal uterin kavite ve bilateral tubal açıklık olduğunda konulur. Açıklanamayan infertilite tanısı oldukça subjektiftir, yapılamayan testlere ya da yapılan testlerin kalitesine göre değişir (4). Açıklanamayan infertilitede olası etiyolojiler şunlardır (18):

- ❖ Luteinize unrüptüre folikül sendromu
- ❖ İmmunolojik faktörler
- ❖ Azalmış endometriyal perfüzyon
- ❖ Enfeksiyonlar
- ❖ Tanı konmamış pelvik patoloji (hafif-orta endometriozis gibi)
- ❖ Erken embriyonel implantasyonda defektif endometriyal reseptivite

Açıklanamayan infertilitede neden bilinmediği için tedavi yaklaşımı da ampiriktir ve amaç belirli zamanda karşılaşılan yumurta ve sperm sayısını arttırmaya yöneliktir. Over stimülasyonu, IUI ve ART önerilen tedavi yöntemleridir.

Nedeni açıklanamayan infertilitede tek başına IUI tedavisi veya tek başına klomifen ile over stimülasyonunun etkinliği, zamanlaması belirlenmiş (midsiklus LH artışından 40 saat sonra) cinsel ilişki ile karşılaştırıldığında fark bulunamamıştır (47, 48). Sadece ampirik ekzojen gonadotropin stimülasyonu ise siklus başına gebelik oranı %7,7'dir (Tablo 4) (48). Over stimülasyonu ve IUI kombine tedavi uygulanan hastaların gebelik oranları tek tedavi modalitesine göre daha yüksektir. Açıklanamayan infertilite grubunda çiftin yaşları da dikkate alınarak yeterli bir gözlem ve konvansiyonel infertilite tedavilerinin uygulanması sonrası gebelik elde edilemediğinde IVF bir seçenek olmaktadır.

Ortalama siklus fekundabilitesi	
Tedavi uygulanmamış	% 1,3-4,1
IUI	% 3,8
Klomifen	% 5,6
Gonadotropinler	% 7,7
Klomifen & IUI	% 8,3
Gonadotropinler & IUI	% 17,1
IVF	% 20,7

Tablo 4: Nedeni açıklanamayan infertilitesi olanlarda tedavi edilmeyenler ile çeşitli tedavi protokolü uygulanan hastalarda ortalama siklus fekundabilitesi (18)

1.5.YARDIMCI ÜREME TEKNİKLERİ (ART)

Yardımcı üreme teknikleri; laboratuvar şartlarında gametlerden embriyo eldesine dayanan prosedürlerdir. Bunlar;

- ❖ *Gamet intrafallopian transfer (GIFT):* Elde edilen oosit ve spermilerin laparoskopik yolla tubaya transfer edilmesidir.
- ❖ *Zigot intrafallopian transfer (ZIFT):* Alınan oositlerin laboratuvar ortamında fertilize edilmesi sonrasında oluşan zigotun laparoskopik yolla tubaya transfer edilmesidir.

- ❖ *Tubal embriyo transferi (TET)*: Oositlerin laboratuvar ortamında fertilizasyonundan sonra gelişen embriyonun laparoskopik yolla tubaya transfer edilmesidir.
- ❖ *İn Vitro Fertilizasyon (IVF)*: Oositlerin laboratuvar ortamında spermlemlerle inkübasyonu sonrası gelişen embriyonun transservikal yolla uterusu transfer edilmesidir. ART’de ilk ve en yaygın kullanılan yöntemdir.
- ❖ *İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI)*: Özellikle şiddetli erkek faktörü olan çiftler için geliştirilen bu yöntemde laboratuvar ortamında her bir oosit hücresinin sitoplazmasına mikromanüplatör yardımıyla tek bir sperm hücresi enjekte edilmektedir. Fertilizasyon sonrası gelişen embriyo transservikal yolla uterusu transfer edilir.

ART için sperm temininde kullanılan yöntemler;

- ✓ Ejakülat
- ✓ Mikro epididimal sperm aspirasyonu (MESA)
- ✓ Testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE)
- ✓ Testiküler sperm aspirasyonu (TESA)

1.6.İN VİTRO FERTİLİZASYON (IVF)

IVF, üreme tıbbındaki en büyük gelişmelerden birisidir. Başlangıçtaki hedef grubu ciddi tubal hastalığı olan kadınlar olsa da günümüzde konservatif tedavilere dirençli diğer infertilite nedenleri için de bir tedavi seçeneği haline gelmiştir. Birden çok infertilite faktörü olan çiftlerde ve açıklanamayan infertilite durumunda mantıklı bir tedavi seçeneğidir. 1978’de tubal faktör nedeniyle IVF uygulaması sonrası doğan ilk tüp bebeğin ardından günümüze dek IVF uygulamalarının endikasyonları geniş bir yelpazeye yayılmış ve infertil çiftlerin son basamak tedavisi olarak yerinin almıştır.

IVF uygulamasında tedavi basamakları; over stimülasyonu, oosit toplama, laboratuvaru fertilizasyon ve embriyonun uterusu transservikal transferini içerir.

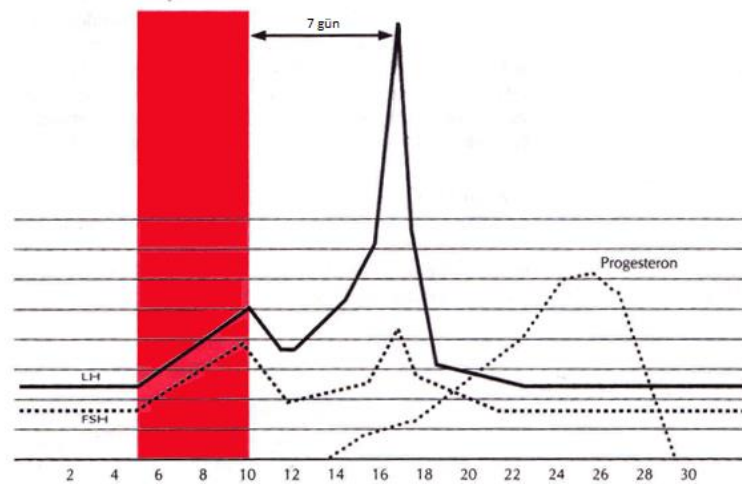
1.6.1.OVER STİMÜLASYONU

IVF’te over stimülasyonunda amaç; mümkün olduğunca sağlıklı oosit eldesidir. Doğal sikluslarda tek bir folikül gelişirken, kontrollü over stimülasyon sikluslarında ekzojen FSH stimülasyonu birden fazla folikülün kohorta katılarak büyümesi sağlanır.

İlk IVF gebeliğinde oosit doğal siklustan elde edilmiş olsa da siklus başarısı ve toplam başarısı düşüktür. Ancak medikal sebeplerden over stimülasyonunun sakıncalı olduğu hasta grubunda halen yeri olabilir.

KLOMİFEN SİTRAT (CC):

1967’de klinik kullanımı onaylanmış olan nonsteroidal trifetiletelen yapıda bir preparattır. Östrojene yapısal benzerliği nedeniyle östrojen reseptörlerine bağlanır ve uzun süre bağlı kalır (49). Ortamdaki reseptör sayısının azalması östrojen düzeylerinin daha az algılanmasına neden olur negatif feed-back ile GnRH salgılanma paterni değişir hipofizer gonadotropin salınımı artar ve sonuç olarak overde folikül gelişimi indüklenir (Şekil 3). Standart ovulasyon indüksiyonu için menstrüasyon sonrası 3 ile 5. gün arasında genellikle 50 mg oral olarak başlanır ve 5 gün boyunca verilir eğer ovulasyon sağlanamaz ise sonraki siklusta 100 mg’a yükseltilebilir.



Şekil 3: Kломifen sitrat ile over stimülasyonunda FSH, LH ve progesteron düzeylerindeki değişim gösterilmiştir.

CC, uygun seçilmiş olan kadınların %80'inde ovulasyonu sağlayabilir (50) ancak CC dirençli hastalarda alternatif ya da kombine tedaviler gerekebilir. IVF sikluslarında ise klomifen sitrat minimal stimülasyon protokollerinde yalnız veya gonadotropinlerle kombine edilerek kullanılabilir.

GONADOTROPİNLER:

Over stimülasyonunda kullanılan hipofiz gonadotropinleri FSH ve LH iken ovulasyon için kullanılan hCG ise plasental kaynaklı gonadotropindir. Ovulasyon indüksiyonunda ilk kullanılan gonadotropinler genel olarak insan menopozal gonadotropinleri (hMG) ya da menotropinler olarak adlandırılan preparatlardır. İntramusküler uygulanan hMG preparatları postmenapozdaki kadınların idrarından elde edilmekte; eşit oranda FSH ve LH, az miktarda hCG ve üriner proteinler içermektedir. Aşırı LH aktivitesinin follikülogenez üzerindeki olumsuz etkisini ortadan kaldırmak ve antijenik üriner proteinlerin kontaminasyonu engellemek için %95'ten fazla saf FSH preparatları (u-FSH) geliştirilmiştir. Daha sonra rekombinant deoksiribo nükleik asit (DNA) teknolojisi ile rekombinant FSH (r-FSH) ve rekombinant LH (r-LH) preparatları da geliştirilmiştir. Ek olarak yüksek pürifiye üriner hMG preparatlarının geliştirilmesi ile bu preparatlarında subkutan uygulanabilmesini sağlamıştır. Son yıllarda uzun etkili rekombinant FSH preparatlarının geliştirilmesi ile tek bir enjeksiyonla 7 günlük ekzojen FSH uyarımı sağlayabilmemizi ve uygun hastalar için yeni bir seçenek olmuştur.

Hipogonadotropik hipogonadizm (WHO Grup I) saptanan hastalarda hipotalamus-hipofiz-over aksı düzgün çalışmadığından klomifen etkisizdir. Bu nedenle bu olgulara over stimülasyonu için uygun tercih gonadotropinlerdir. Bu hasta grubunda FSH ve LH düzeyleri düşüktür. Oosit matürasyonu FSH ile sağlansa da endojen LH seviyeleri steroidogenez, luteinizasyon ve ovulasyon için yetersiz kalır (51). Bu nedenle ekzojen gonadotropin seçimi FSH ve LH etkinliği olan hMG' den yana olabilir alternatif olarak r-FSH ve r-LH kombinasyonu da kullanılabilir.

PCOS'lu hastalarda serum gonadotropin düzeyleri normaldir ve birçoğunda LH düzeyleri yüksek saptanmaktadır. Bu hasta grubunun tedavisinde FSH preparatları ile hMG preparatları karşılaştırıldığında tedavi etkinliği açısından fark bulunamamıştır (52).

Gonadotropinler ile over stimülasyonu, serum östradiol düzeyleri ve TVUSG ile endometriyal kalınlık, folikül sayısı ve çapının ölçülmesiyle takip edilir. En iyi sonuçlar E₂ düzeyi 500-1500 pg/ml arasında elde edilirken, 200'ün altında genellikle gebelik eldesi nadirdir (53, 54). Östradiol seviyeleri ile orantılı endometriyal kalınlık arttıkça siklus fekunditesi artmaktadır (55). hCG günündeki endometriyal kalınlık 7 mm'den az olanlarda nadiren gebelik elde edilmektedir (54, 55, 56).

EKSOJEN hCG:

Ekzojen hCG genel olarak LH artışını taklit etmek ve indüklenmiş sikluslarda ovulasyonu sağlamak için kullanılır. Olgunluğa ulaştığında bir folikül yaklaşık olarak günde 2 mm büyür, uyarılmış sikluslarda hCG enjeksiyonu için en iyi zaman folikül çapının 18-22 mm arasında olduğu zamandır (57). Ovulasyonun hCG enjeksiyonundan 34-36 saat sonra gerçekleşmesi nedeni ile oosit toplanması bu zaman aralığında yapılır.

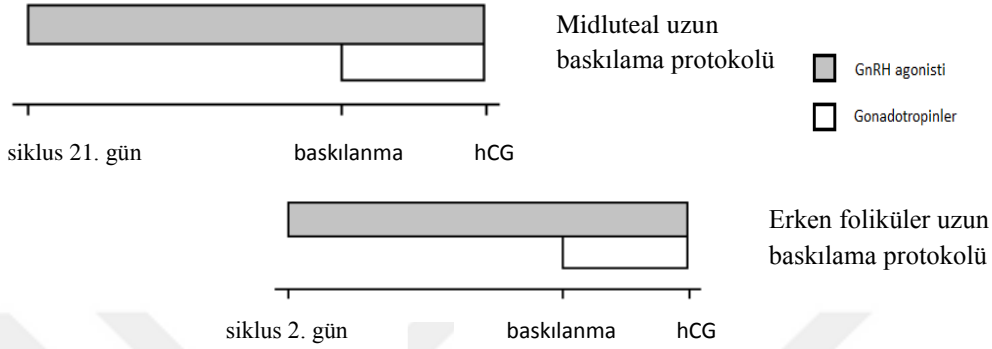
GnRH ANALOGLARI:

GnRH yarı ömrünü ve reseptör afinitesini etkileyen 2 aminoasit bölgesinin değiştirildiği sentetik dekapeptidlerdir. GnRH reseptörlerine bağlanarak hipofizer gonadotropinlerin (FSH ve LH) düzeylerini değiştirmektedirler.

GnRH Agonistleri: Gonadotropinler ile indüklenmiş olan siklusların yaklaşık %20'sinde erken LH piki ve buna bağlı erken spontan ovulasyon IVF sikluslarının iptaline neden olmaktadır. Erken LH pikini önlemek amacıyla GnRH agonistleri piyasaya sürülmüştür ve IVF tedavisinde siklus iptalini %2'lere kadar azaltmış ve klinik gebelik oranlarını arttırmıştır (58, 59, 60). GnRH agonistlerinin kullanıldığı çeşitli protokoller geliştirilmiştir.

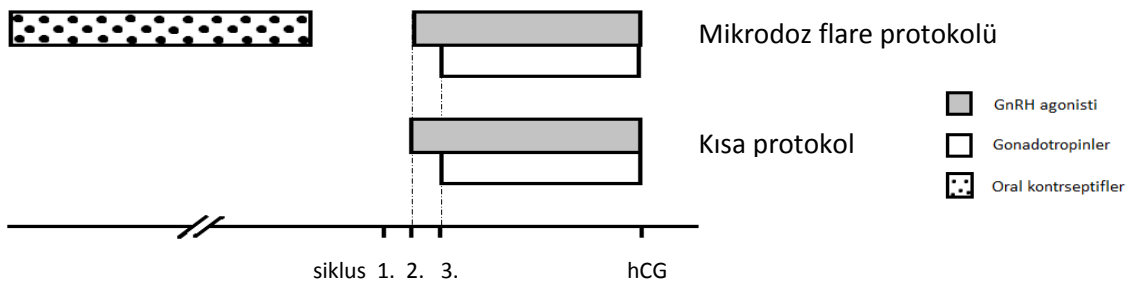
Uzun Baskılama Protokolü: Uzun etkili GnRH agonisti bir önceki siklusun midluteal döneminde (21. gün) başlanabileceği gibi aynı siklusun erken foliküler döneminde (siklusun 2. günü) de başlanabilir. Ancak midluteal fazda başlanan tedavi protokolünde erken luteal fazda başlanana göre daha fazla oosit eldesi, daha az over kisti oluşumu ve daha yüksek canlı doğum oranları bildirilmiştir (60, 61). Agonistlerin ortalama 2 hafta kullanımını takiben hipofiz-over baskılanması (E₂<80

pg/ml) elde edildikten sonra FSH enjeksiyonuna başlanır. Over yanıtı endokrinolojik ve ultrasonografik olarak takip edilir. 18-22 mm boyutlu en az 2 folikül elde edildiğinde hCG enjeksiyonu uygulanır. hCG ile tetiklemeden 34-36 saat sonrasında oosit toplanması gerçekleştirilir (Şekil 4).



Şekil 4: GnRH agonistlerinin başlandığı siklus evresine göre midluteal ve erken foliküler olarak uzun baskılanma protokolleri kullanılmaktadır. Gonadotropinler ise hipofiz-over baskılanması elde edildikten sonra başlanmaktadır.

Kısa / Flare Protokol: GnRH agonistlerinin başlangıçtaki flare up etkisinden ve uzun dönemde gonadotropin baskılayıcı etkisinden yararlanan bir rejimdir (62). Daha sıklıkla zayıf cevap beklenen hastalar için uygulanan bir protokoldür. GnRH agonistine siklusun 2. günü, gonadotropinlere ise 3. günü başlanır. Gonadotropin dozunda ayarlamalar ve hCG enjeksiyon günü diğer protokollerde olduğu gibidir. Bir önceki siklus oral kontraseptif ile over baskılanması sonrası siklusun 2. günü mikro doz GnRH, 3. günü gonadotropinlerin verildiği mikro doz GnRH flare protokolü kısa protokolün bir versiyonudur (Şekil 5). Kısa protokole göre serum progesteron ve androjen düzeylerinde bariz bir artışa neden olmaz (63, 64).



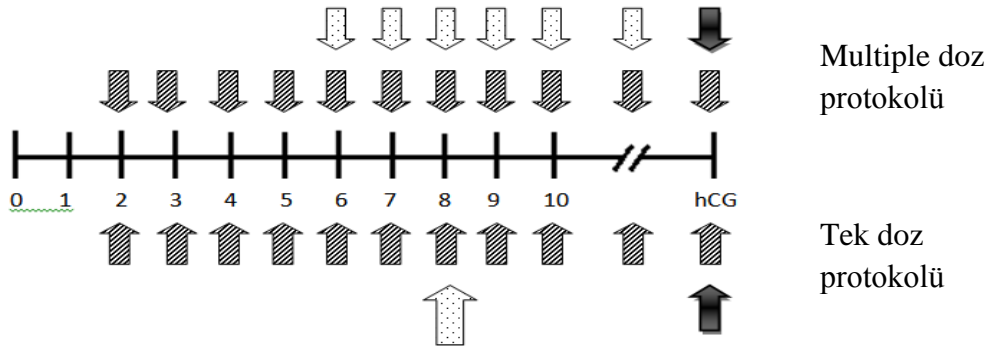
Şekil 5: GnRH agonistleri ile kısa protokolde siklusun 2. günü GnRH agonistleri ve 3. günü gonadotropinler başlanmaktadır. Kısa protokolün varyantı olan flare protolde stimülasyondan önceki siklusta hastaya oral kontraseptif verilmektedir ve kullanılan agonistin dozu titre edilerek minimize edilmiştir.

GnRH Antagonistleri: Önce uyaran sonra inhibe eden uzun etkili agonistlerin tersine GnRH antagonistleri doz bağımlı şekilde GnRH reseptörlerini kompetitif bloke eder ve kısa sürede (yaklaşık 8 saat) gonadotropin salınımını inhibe ederler (65). Antagonistlerin agonistlere göre avantajları; tedavi süresinin daha kısa olması, indüksiyon için gereken dozun daha düşük olması ve ovarian hiperstimülasyon sendromu (OHSS) riskinin daha az olmasıdır (66, 67, 68).

Klinik pratikte iki farklı GnRH antagonisti kullanılmaktadır; Cetorelix ve Ganirelix. Kontrollü over stimülasyonunda 2 farklı uygulama protokolü bildirilmiştir.

Tek Doz Protokolü: Siklusun 2. günü gonadotropin tedavisine başlandıktan sonra tedavinin 7. günü tek doz 3 mg Cetorelix uygulamasıdır (Fransız protokolü) (69). Tek doz ile 4 gün LH piki önlenir (Şekil 6). hCG enjeksiyon günü diğer protokollerde olduğu gibi belirlenir. Kullanımı kolay, iyi tolere edilebilir olduğundan hasta uyumunu sağlar.

Multiple Doz Protokolü: Siklusun 2. günü gonadotropin tedavisine başlanır ve sabit protokolde tedavinin 5. günü 0,25 mg Cetorelix ya da Ganirelix eklenir ve hCG gününe kadar devam edilir. Esnek protokolde ise folikül çapı ≥ 14 mm saptandığında GnRH antagonisti başlanır (Ludwing protokolü) (70). hCG enjeksiyon günü diğer protokollerde olduğu gibi belirlenir. LH dalgalanması az olan hastalarda daha az ilaç kullanımına ihtiyaç duyulduğundan esnek protokol daha avantajlıdır (70).



Şekil 6: GnRH antagonistleri ile tedavide siklusun 2. günü gonadotropin başlanır multiple doz sabit protokolde siklusun 6. günü esnek protolde ise 14 mm ve daha büyük bir folikül elde edildiğinde 0,25 mg GnRH antagonisti başlanır. Tek doz protokolünde ise siklusun 8. günü 3 mg Cetorelix uygulanır.

↑ GnRH antagonisti ▨ Gonadotropin ↑ hCG

1.6.2.OOSİT TOPLANMASI

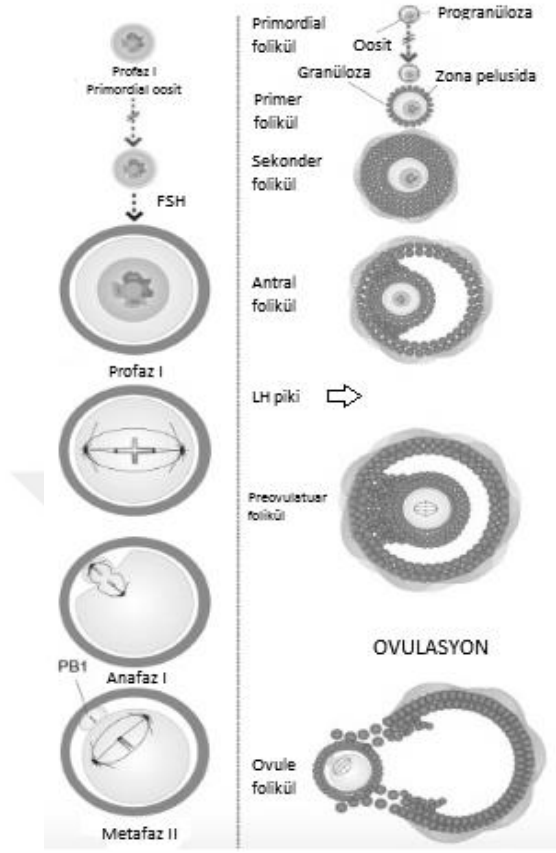
IVF uygulamalarına başlarken oositler laparotomi ile elde edilirken (71) sonraki yıllarda laparoskopik cerrahinin gelişimi ile oositlerin laparoskopik yolla toplanması mümkün olmuştur (72). Kısa zaman içerisinde transvajinal ultrasonografinin kullanıma girmesi ile oosit toplanmasında (oocyte pick-up, OPU) transvajinal yol tercih edilmeye başlandı (73). Günümüzde transvajinal ultrason eşliğinde oosit toplaması ART’de altın standart yöntemdir.

OPU genellikle hCG enjeksiyonunda 34-36 saat sonra yapılır. Bu işlem için birçok iğne geliştirilmiştir. En önemli faktör ise iğnenin keskinliğidir. Ayrıca iğne ucunun ultrasonda hiperekojenik görünecek şekilde olması da önem kazanmaktadır. Günümüzde tek ve çift lümenli iğneler mevcut olup iğnenin iç çapının çok küçük olması oosit kümülüs kompleksine zarar verebilmektedir (74).

Aspirasyon için gerekli negatif basınç matür oositler için 90-120 mmHg iken, immatür oositler aspire edilirken komplekse zarar verebildiğinden 40-60 mmHg gibi daha düşük basınç kullanılmalıdır.

OPU sırasında en sık karşılaşılan komplikasyonlar kanama, pelvik organ hasarı ve pelvik enfeksiyondur (75). Kanama genellikle vajen tepesinden olur kompresyon uygulanabileceği gibi çoğu işlem sonrası müdahalesiz durur. Ancak özellikle peritonit geçirmiş, ileri evre endometriozisi olan veya birçok kez batın operasyonu geçirmiş olanlarda damar ve organ yaralanmaları açısından dikkatli olunmalıdır. Enfeksiyonu önlemede vajen temizliği için kullanılan antiseptikler oositlere toksik olduğundan sonrasında vajen steril salin ile temizlenmelidir. Profilaktik antibiyotik kullanımının rolü net olmasa da risk faktörü olanlarda kullanılabilir (76).

1.6.3.İN-VİTRO MATÜRASYON VE FERTİLİZASYON



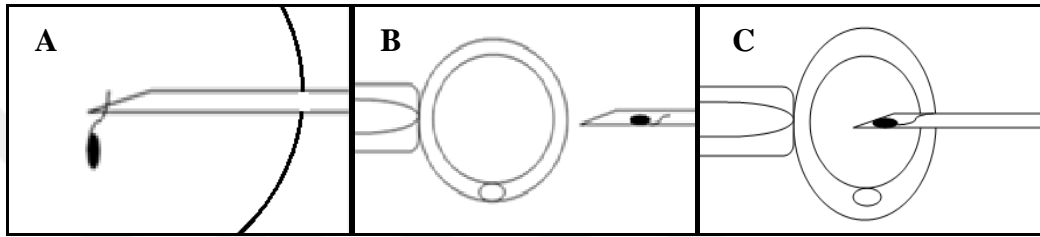
Oosit aspirasyonu sırasında tüm oositler matür olmayabilir, oosit matürasyonu fertilizasyon zamanının planlanması açısından önemlidir. Oosit matürasyonu, morfolojik olarak germinal vezikül evresinden metafaz II evresine geçişle sonlanan birinci mayoz bölünmenin tekrar başlaması ve oosit fertilizasyonu ile erken embriyolojik gelişim için gerekli sitoplazmik matürasyonu tamamlanmasıdır (Şekil 7).

Şekil 7: Oosit matürasyonu

OPU öncesi verilen hCG oosit matürasyonunu arttırmaktadır (77). İmmatür oositler matürasyon besiyerinde inkübe edilirler. Genelde immatür oositler birkaç saat içerisinde matür hale gelirler.

Standart inseminasyonda her matür oosit hazırlanan 50-100 bin motil sperm ile beraber 37°C, %5'lik CO₂ ve %98 nemli ortamda inkübe edilir. Spermin penetrasyonu ve fertilizasyon beklenir. Ancak erkek faktörü olan çiftlerde yöntemin başarısız olması mikromanüplasyon yöntemlerinin geliştirilmesine neden olmuştur. Başlangıçta parsiyel zona diseksiyonu (PZD) sperm penetrasyonunu kolaylaştırmak için kullanılmış olup sonrasında motil sperm hücrelerinin oosit perivitellin aralığına enjeksiyon pipeti yardımıyla bırakıldığı subzonal inseminasyon (SUZI) geliştirilmiştir. Ardından sadece zona pellusida ya da perivitellin aralığın değil aynı zamanda oolemma'da geçilmesiyle intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) yöntemi ortaya çıkmıştır (78).

ICSI prosedüründe etrafındaki kümülüs ve korona hücrelerinde ayrıştırılmış olan oositler medyum içine yerleştirilir. Seçilen sperm hücresinin hareketini engellemek için pipet ile kuyruk üzerine basılır. İmmobilizasyondan sonra kuyruk kısmından pipet içerisine alınır. Oosit tutucu pipet yardımıyla tutulur ve mayotik iplikçiye zarar vermemek için polar cisimcik saat 6 ya da 12 pozisyonunda sabitlenir. Sperm içeren enjeksiyon pipeti ile saat 3 pozisyonundan zona geçilir ve oolemma delinir (79). Oolemma rüptüründen emin olunduktan sonra sperm hücresi minimal medyumla birlikte oosit içerisinde verilir ve pipet dikkatlice dışarı çekilir (Şekil 8).



Şekil 8: A-Pipet yardımıyla sperm kuyruğuna basılarak sperm hareketi engellenir. B-Sperm pipet içerisine alınır; oosit polar cismi saat 6 ya da 12 hizasına sabitlenir. C-Saat 3 pozisyonundan oolemma delinerek sperm oosit içerisine verilir.

Enjeksiyon sonrası oositler besiyeri ile yıkanır ve kültüre edilir. Embriyoların kültüründe kullanılan medyumlar genel olarak 4 çeşittir: enerji substratları eklenmiş basit tuz solüsyonları, karmaşık yapıdaki doku kültür medyumları, basitleştirilmiş optimize medyumlar ve ardışık medyumlar (1). Fertilizasyonu işlemi sonrası, 16-18 saat sonra oositler kontrol edilir. İkinci polar cisimciğin ve 2 pronukleusun görülmesi ile oosit fertilize olmuş kabul edilir (80). Mikroenjeksiyon sonrası normal gelişen embriyolar 2. gün 4 hücreli, 3. günün sabahı ise 8 hücreli duruma gelmelidir. Embriyo transferi OPU'dan sonra 3. veya 5. gün aralığında gerçekleştirilebilir (81). Embriyoların implantasyonlarını kolaylaştırmak için zona pellucidaya inceltme uygulanabilmektedir.

1.6.4.EMBRIYO TRANSFERİ

Embriyo transfer tekniği; transservikal yolun kullanıldığı bir tekniktir. Tüm uygulamanın başarısızlığıyla sonuçlanabilecek birçok potansiyel faktörden olumsuz etkilenebilir.

Uterus kasılmalarının başlaması embriyoların hemen ya da bir süre sonra uterustan dışarı atılmasına neden olabilir. Transfer edilen embriyoların yaklaşık %45-58'inin kavitede kaldığını gösteren çalışmalar mevcuttur (82, 83, 84). Uterin kontraksiyonlar serviksin tenekulum ile tutulması ya da kateterin fundusa değmesi ile tetiklenebilir. Embriyoların fundusa temas etmeden uterus orta kısmına bırakılması daha yüksek implantasyon oranları ile ilişkilendirilmiştir (85, 86).

Embriyo transfer kateterleri endoserviks ve endometriyumda travmaya neden olmayacak kadar yumuşak olmalıdır. Ancak yumuşak kateterler servikal kanalda farkında olmadan kıvrılabilir ve servikal anatominin bozulmuş olduğu durumlar (geçirilmiş cerrahi, konjenital anomali, myom gibi) kateter uygulamasında zorluğa neden olabilir. Yine de yumuşak ve sert kateterlerin karşılaştırıldığı çalışmaların meta analizleri yumuşak kateter kullanıldığında gebelik oranlarının daha yüksek olduğunu göstermektedir (87). Bu nedenle transferlerin ultrasonografi eşliğinde yapılması ayrı bir önem kazanmaktadır.

Servikal kanaldan geçerken servikal mukus kateter ucunu tıkayabilir, kateter ile birlikte kaviteye girip embriyolarda hasara neden olabilir ya da kateter etrafındaki mukus kateter geri çekilirken beraberinde retansiyon oluşturarak embriyoyu dışarı sürükleyebilir (88, 89, 90). Servikal mukusun temizlenmesine yönelik birkaç yöntem tanımlansa da çok merkezli bir çalışmada gebelik oranlarında anlamlı bir fark gösterilememiştir (91).

ET kateteri yüklenirken 10-15 mikro litre medyum çekilir ardından embriyolar 10 mikro litre medyum içinde çekilir ve embriyoların kateter ucunda kalmasını engellemek için 10 mikro litre daha medyum çekilir. Bu devamlı sıvı kolonu dışında embriyoları içeren medyumun hava yüklenerek ayrılmasının embriyo pozisyonunu işaretlediği, kaybolmaktan ve mukusa karışmaktan koruduğu da ileri sürülmektedir (Şekil 9) (92, 93).



Şekil 9: A-Transfer kateterine devamlı sıvı kolonu ile embriyo yüklenmesi
B-Transfer kateterine hava kolonları arasında embriyo yüklenmesi

1.6.5. İMPLANTASYON

İmplantasyon, embriyo ile endometriyal tabakanın eş zamanlı olarak gelişmesi ve bu iki ayrı dokunun kaynaşması sonucu gebeliğin olduğu karmaşık bir süreçtir. İmplantasyonda tanımlanan temel üç evre vardır. Appozisyon blastosistin uterus duvarına ilk olarak tutunduğu, iki doku arasındaki parakrin etkileşim ile düzenlenen evredir. Adezyon evresinde blastosist ile uterus epiteli arasında fiziki temas artar, bu evrede adezyon molekülleri ve integrinler rol alır. İnvazyonda ise sinsitiyotrofoblast ve sitotrofoblastların endometriyuma penetrasyonu gerçekleşir.

IVF başarısı için güncel olarak iki faktör ön plana çıkmaktadır: oosit/embriyo kalitesi ve endometriyal reseptivite. Endometriyumun blastosist implantasyonuna açık olduğu döneme 'implantasyon penceresi' denilmektedir. Endometriyumda, implantasyon penceresinde gerçekleşen immünolojik, moleküler, hücresel, yapısal ve vasküler değişiklikler söz konusudur. Amaç bu değişiklikler üzerinden implantasyon olasılığını tahmin etmek ve implantasyon başarısını arttırmaktır. Endometriyal örneklemeyi içeren histopatolojik ve morfometrik çalışmaların yanı sıra ultrasonografi tekniklerinin ve çeşitli parametrelerinin karşılaştırıldığı çalışmalar bu amaç üzerine yoğunlaşmıştır (94, 95, 96).

Endometriyal reseptiviteyi değerlendirmek için yapılan ilk çalışmalar endometriyal histolojik değişimlere dayanmaktaydı. Noyes ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada belirlenen histolojik kriterler endometriyumun hormonal çevreye verdiği yanıtı değerlendirmede uzun yıllar kullanılmıştır (97). Endometriyal reseptiviteyi etkileyebilen ancak histolojik ya da morfolojik değişikliğe neden olmayan potansiyel faktörlerin varlığını değerlendirmek amacıyla çeşitli biyomarkerler üzerine çalışmalar yürütülmüştür.

Tanımlanan biyomarkerler implantasyon penceresi döneminde değişken bir ekspresyon göstermektedir. Kalsitonin'in endometriyumdan kaynaklanan parakrin bir faktör olarak işlev gördüğü ve doğrudan blastosist hücrelerine etki ettiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (98, 99). İmplantasyon penceresi döneminde birlikte eksprese edilen üç epitelyal integrin ($\alpha\beta3$ - $\alpha1\beta1$ - $\alpha4\beta1$) bildirilmiştir ve bu integrinler trofoblast tutunması ve büyümesi ile ilişkilendirilmiştir (100, 101). Endometriyal bez epiteli tarafından salgılanan bir glikoprotein olan osteopontin'in, endometriyum ve

embriyo yüzey reseptörlerini bağlayan ligand görevi gördüğü bildirilmiştir (102). Ayrıca homeobox 10 ve 11 genlerinin implantasyon için önemli etkenleri kontrol ettiği düşünülmektedir (103). İmplantasyon ve endometriyal reseptivite ile ilgili bildiklerimiz yapılan çalışmalarla birlikte giderek artsa da henüz tam anlaşılamamıştır.

1.7.IVF'TE ULTRASONOGRAFİNİN YERİ

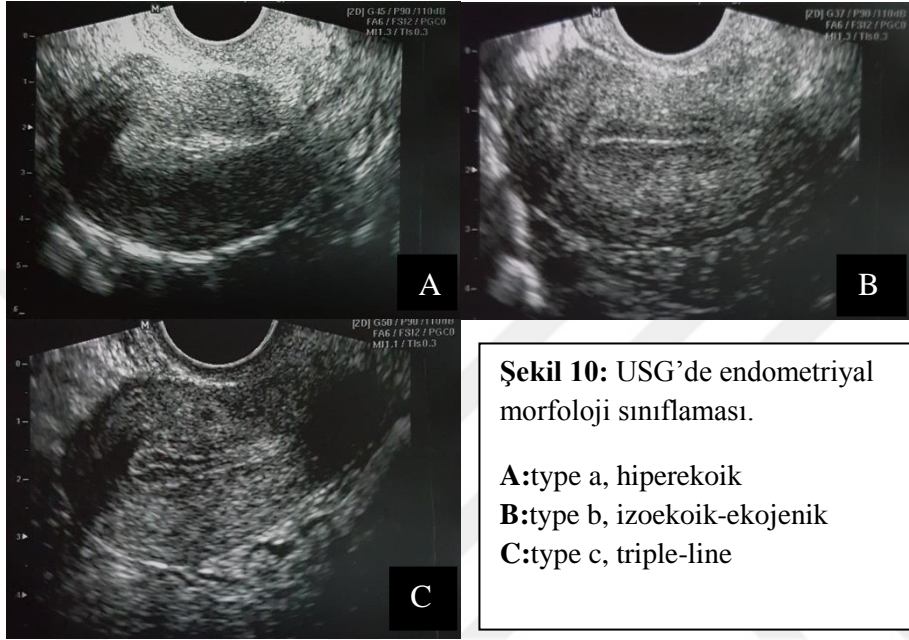
Ultrasonografi, IVF başarı oranlarındaki artışta çok önemli bir yere sahiptir. IVF'in hemen her basamağında ultrasonografi kullanılmaktadır. İndüksiyon öncesi antral folikül sayımı ve over hacminin ölçülmesi, ovulasyon indüksiyonunda folikül sayısı ve çapının ölçülmesi ile stimülasyon dozunun belirlenmesi, endometriyal kalınlığın ve morfolojisinin belirlenmesi, hCG enjeksiyon gününe karar verilmesi, OPU ve ET'de işlemlerin monitorizasyonunda ultrasonografi vazgeçilmez bir görüntüleme yöntemidir. Güncel soru ise "ultrasonografi ile IVF başarısı ön görülebilir mi?" dir.

Endometriyal kalınlık: Oosit toplanması sırasında, hCG uygulama gününde yada embriyo transferinden önce endometriyal kalınlığın ölçülmesiyle gebelik elde edilenler ile edilemeyenler arasında anlamlı fark olup olmadığını değerlendiren çalışmaların sonucu basit ölçümler kullanılarak ultrasonografinin endometriyal reseptivite ve implantasyon olasılığını tahmin etmede henüz hassas olmadığı şeklinde yorumlanabilir. Ancak bu çalışmaların ortak görüşü endometriyal kalınlık 6 mm'den kalın olduğu sürece implantasyon oluşabileceği ve endometriyal sıvı koleksiyonu tespit edilen hastalarda gebelik oranlarının daha düşük olduğu şeklindedir (104, 105, 106, 107, 108).

Endometriyal morfoloji: 1984'te ilk olarak endometriyumun ultrasonografik ekojenite paternine göre 4 tip tanımlanmıştır (109). Daha sonra farklı sınıflamalar önerilmiştir (Tablo 5, Şekil 10) (110, 111). Yapılan çalışmalar sonucunda hCG günü trilaminer endometriyum saptanan hastaların gebelik oranlarının daha fazla olduğu saptanmıştır, ayrıca hiperekoik patern izlenen hastaların gebelik oranları daha düşük bulunmuştur (112, 113, 114).

Tablo 5: Endometriyal morfoloji sınıflaması;

	Smith ; 1984	Gonen&Casper ; 1990	Sher ; 1991
Hiperekoik	Grade A	Type a	Non-multilayered
İzoekoik	Grade B	Type b	
Ekojenik	Grade D	Type c	Multilayered
Triple-line	Grade C		



Endometriyal volüm: Üç boyutlu (3D) ultrasonografi ve otomatik hacim hesaplama modları ile doğru endometriyal hacim ölçümü mümkün olmuştur. Ancak endometriyal reseptivitenin değerlendirilmesine endometriyal kalınlığın ölçülmesinden farklı bir katkı sağlayamamıştır. Endometriyal volüm 1 ml'nin altında ise hiç gebelik elde edilemez iken 2ml altındaki volümlerde gebelik oranları önemli ölçüde düşük bulunmuştur (115, 116, 117).

Myometriyal kontraksiyon: İlk kontraksiyon çalışmaları, intrauterin basınç ölçümleri ile yapılmıştır ancak işlemin kendisi kontraksiyonları uyarmaktadır. Transvajinal ultrasonografi ile uterin kontraksiyon frekansı incelendiğinde geç foliküler dönemde kontraksiyonların dakikada 4-5 ile pik yaptığı saptanmıştır (118, 119). Embriyo transfer gününde dakikada 5 ya da daha fazla uterin kontraksiyon saptanması düşük gebelik oranlarıyla ilişkili bulunmuştur (120).

Endometriyal perfüzyon: Doppler ultrasonografi, uterin arter ve dallarının kan akımını implantasyon ile ilişkilendirmek amacıyla kullanılmıştır (121, 122, 123, 124). Erken ve orta luteal evrede uterin arterin diyastolik akımı üreme başarısı ile ilişkili bulunmuştur (125, 126). Uterin arter akımlarının pulsatilite indeksi (PI) 3.3'ten büyük olduğunda ya da direnç indeksi (RI) OPU zamanında 0.95'den büyük olduğunda gebelik oranlarının daha düşük bulunduğu bildirilmiştir (124). Daha önceleri uterin kanlanma endometriyumun kanlanmasına eş tutulsa da 2 boyutlu (2D) ya da 3D renkli ve power doppler ultrasonografi ile direkt endometriyal kanlanmanın objektif şekilde gösterilmesi mümkün hale gelmiştir.

Endometriyal kan akımı, endometriyumun bazal kısmını besleyen bazal arterleri oluşturmak için myometriyal-endometriyal bağlantı noktasından geçtikten sonra bölünen radial arterden ve endometriyuma doğru devam eden spiral arterlerden gelir. Siklus içerisinde endometriyal anjiogenez ve perfüzyon, endometriyumun gelişmesinde ve implantasyonda önemli rol oynamaktadır (120).

Ultrasonografide perfüzyon, belirli bir zaman diliminde tanımlanmış bir ilgi alanı (ROI) üzerinden geçen belli miktarda kan dolaşımı olarak algılanır. Doku perfüzyonunun değerlendirilebileceği ultrasonografi modları ve bilgisayar programları geliştirilmiştir. Araştırmalarda güncelliğini koruyan yöntem ise endometriyal renkli doppler dinamik (kardiyak siklus süresince) doku perfüzyon ölçümüdür.

2. GİRİŞ

İnfertilite, 1 yıl süreyle uygun zamanlı korunmasız ilişkiye rağmen gebelik elde edilememesi olarak tanımlanır (M2). İnfertilite temel olarak erkek infertilitesi, kadın infertilitesi ve açıklanamayan infertilite şeklinde kategorize edilebilir. İnfertilite nedeniyle başvuran bir çiftten öncelikli olarak geniş kapsamlı bir anamnez alınmalı, fizik muayene ardından ilk basamak laboratuvar testleri ve görüntüleme yapılmalıdır.

Çiftlerin infertilite nedenlerinin ortaya konulması ve tedavisi için çeşitli algoritmalar geliştirilmiştir. Bu algoritmaların son basamağında yardımcı üreme teknikleri bulunmaktadır. ART prosedürleri arasında en sık kullanılan prosedür ise in-vitro fertilizasyon'dur.

IVF; kontrollü ovulasyon indüksiyonunu takiben oositlerin cerrahi olarak elde edilmesi, fertilizasyonun laboratuvar ortamında gerçekleştirilmesi ve embriyoların transservikal yoldan uterusu transferini kapsayan bir prosedürdür. IVF tedavi basamakları;

1-Ovulasyon indüksiyonu: Doğal siklus ile elde edilen oosit sayısı az olduğundan IVF başarı oranlarını önemli ölçüde arttıran ilk modifikasyon folikül gelişimini uyaran gonadotropinlerin kullanılması olmuştur. Gonadotropinlerin yanı sıra gonadotropin relasing hormon (GnRH) agonist ve antagonistleri de kullanılmaktadır. Ovarian stimülasyon sırasında hasta yanıtı serum östradiol (E2) seviyeleri ve vajinal ultrasonografiyle antral folikül ölçümleriyle değerlendirilir. 17 mm ve üzerinde 2-3 matür folikül tespit edildiğinde ovulasyonu uyaran ve oositlerin olgunlaşmasını sağlayan human chorionic gonadotropin (hCG) enjeksiyonu tek doz uygulanır.

2-Oosit toplanması: hCG enjeksiyonundan 34-36 saat sonrasına planlanır. Rutin olarak transvajinal ultrasonografi eşliğinde iğne posterior vajinal forniksten ilerletilir ve foliküle yönlendirilir. Folikül içerisindeki sıvı aspire edilir ve oosit saptanabilmesi için embriyolog tarafından incelenir. Her iki overdeki tüm foliküller aspire edilir. Daha sonra elde edilen oositler inkübatörlere yerleştirilir. İşlem sonrası hastalara endometriyumu implantasyona hazırlayan progesteron desteği verilir.

3-İn-vitro fertilizasyon: Standart inseminasyonda hazırlanmış olan 50.000 motil sperm, oositlerle birlikte kültür tüpüne koyularak inkübatöre yerleştirilir. Ancak

erkek faktörü olan çiftlerde yöntemin başarısız olması mikromanüplasyon yöntemlerinin geliştirilmesine neden olmuştur. ICSI uygulamasında, etrafındaki kümülüs ve korona hücrelerinde ayrıştırılmış olan oositler medyum içine yerleştirilir, sperm içeren enjeksiyon pipeti ile zona pellusida geçilir sperm hücresi minimal medyumla birlikte oosit içerisinde verilir ve pipet dikkatlice dışarı çekilir

4-Embriyo transferi: Embriyo transferi OPU'dan sonra 2-5 gün aralığında gerçekleştirilebilir. Abdominal ultrasonografi eşliğinde uterin kaviteye embriyo transfer edilir.

IVF başarısını etkileyen over rezervi, yaş, infertilite nedeni, transfer edilen embriyo sayısı ve kalitesi gibi birçok faktör bulunmaktadır. Bu faktörler içerisinde tam olarak aydınlatılamamış olan endometriyal reseptivite tartışmaya açık bir konudur.

IVF sikluslarında implantasyon olasılığını tahmin etmek için birçok çalışma yapılmıştır. İmplantasyon başarısında endometriyal faktörün yeri tartışmasız olmakla birlikte ilişkili patofizyolojik mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır. Endometriyum kalınlığı, morfolojisi, endometriyal volüm ve myometriyal kontraksiyon bu amaçla kullanılan parametrelerdir. Günümüzde endometriyal reseptivite ölçümleri endometriyal biyopsi materyallerinde de araştırılmaktadır. Doppler ultrasonografinin yaygınlaşması ile birlikte uterin arter kan akımı da değerlendirilmiş ve yüksek pulsatilite indeksi (PI) saptananlarda gebelik oranlarının daha az olduğu gözlenmiştir. Araştırmalarda güncelliğini koruyan yöntem ise endometriyal kan akımının dinamik olarak (kardiyak siklus boyunca) ölçülmesidir.

Çalışmamızda daha önceden insanda endometriyal doku dinamik perfüzyonu incelemesinde kullanılmamış olan bir yazılım kullanılmıştır. İki boyutlu standart doppler ultrasonografi ile elde edilen uterusun tamamının kadrajda izlendiği midsagittal pozisyonda 15 saniyelik bir görüntü Chameleon PixelFlux Software ile işlenmiştir. Tissue resistance index (TRI), tissue pulsatility index (TPI) ile velocity (V), area (A) ve intensity (I)'nin mix değerleri kullanılmıştır. Farklı alanlarda başarıyla kullanılmış olan bu yöntemle endometriyal doku perfüzyonunun daha hassas hesaplanabileceği ve IVF tedavisinde implantasyon başarısı ile olan ilişkinin ortaya konulabileceği düşünülmektedir.

3. ARAÇ-YÖNTEM

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar ve Etik Kurulu onayı alındıktan sonra çalışmamıza başlanılmıştır (Etik Kurul Karar No:17-6/17). Çalışmamız prospektif kohort tipinde analitik bir araştırmadır.

Ege Üniversitesi Rektörlüğü Aile Planlaması ve Kısırlık Araştırma Uygulama Merkezi'ne Temmuz 2017-Ekim 2017 tarihleri arasında başvuran IVF/ICSI-ET tedavisine ve GnRH antagonist protokolü ile over stimülasyonuna karar verilen hastalardan diğer çalışma kriterlerini (Tablo 6) de karşılayan 30 gönüllü dahil edildi. Katılımcıların tamamından bilgilendirilmiş gönüllü onam formu alındı.

Tablo 6: Çalışma Kriterleri

- 1-İlk veya ikinci IVF/ICSI denemesi olan olgular
- 2- GnRH antagonist protokolü ile over stimülasyonu yapılan olgular
- 3->20 yaş, <40 yaş olan olgular
- 4- İnfertilite süresi 1 yıl ya da daha fazla olan olgular
- 5- Taze embriyo transferi yapılan olgular
- 6-İnfertilite nedeninin ağır androlojik faktör olmadığı olgular (TESE uygulanmayan olgular)
- 7-İnfertiliteye neden olabilecek anatomik ya da mekanik patolojinin olmaması (müllerian anomali, endometriozis, myomatö uterus, endometriyal polip, hidrosalpinks, adenomyoz)
- 8- Mikrovasküler dolaşım bozukluğuna neden olabilecek ek hastalıkların (diyabet, otoimmün hastalıklar, trombofili) olmaması
- 9-Ek hastalıklar nedeniyle anti-koagülan ya da anti-agregan kullanımının olmaması
- 10-Geçirilmiş uterin cerrahi öyküsünün olmaması

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaşı, boy ve kilo ölçümü, hesaplanan vücut kitle indeksi olgu formuna kaydedildi. Hastaların özgeçmişleri sorgulandı infertilite süresi, ek hastalık ve ilaç kullanımı kayıt altına alındı. Ailede infertilite

öyküsü sorgulandı. Son altı ay içerisinde menstrüasyonun 3. gününde bakılmış olan FSH, LH, E₂, prolaktin (PRL), TSH'tan oluşan bazal hormon profili ve anti-müllerian hormon (AMH) değerleri olgu formuna kayıt edildi.

GnRH antagonistleri ile over stimülasyonu yapılan hastalar TVUSG ve E₂ değerleri ile takip edildi. hCG enjeksiyon günü folikül çapı (18-22 mm) ve serum E₂, LH düzeylerine göre belirlendi. hCG günü yapılan TVUSG'de ölçülen endometriyum kalınlığı (mm) ve endometriyum morfolojisi (hiperekoik, izoekoik, triple line) kaydedildi. hCG enjeksiyonundan 34-36 saat sonrasında oosit toplanması işlemi uygulandı. Olguların tamamında intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu uygulandı. Embriyo transferi 3 gün sonrasına planlandı.

Transfer günü, transfer öncesi hastalardan öncelikli olarak mesanelerini boşaltmaları istendi ardından hastalar dorsolitotomi pozisyonuna alındı. Siemens Acuson Antares (Siemens Medical Solution, USA, Inc) 2D ultrasonografinin 6-10 MHz vajinal probu ile endometriyal kalınlık ölçüldü ve endometriyal morfoloji (hiperekoik, izoekoik, triple line) belirlenerek kaydedildi. Uterusun tamamı ekrana girecek şekilde midsagittal kesitte belirlenmiş olan ön ayarda (-3/0 dB, flow low, VEL 5.0 MHz, PRF 305 Hz) renkli doppler özelliği kullanılarak 15 saniyelik görüntü kaydedildi. Elde edilen görüntüler taşınabilir harici belleğe aktarıldı. Hastalar TVUSG sonrasında embriyo transferine alındı. Transfer edilen embriyo sayısı kaydedildi.

PixelFlux Chameleon Software (GmbH, Münster Germany) bilgisayar programında kaydedilen görüntü açıldı (Şekil 11). Ardından görüntü üzerinde endometriyum sınırları çizilerek region of interest (ROI) belirlendi (Şekil 12).



Şekil 11: PixelFlux Chameleon Software (GmbH, Münster Germany) programında kaydedilen renkli doppler USG görüntüsünün açılması.



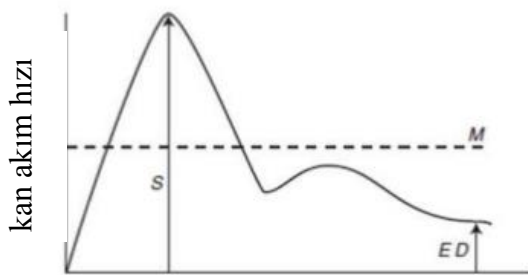
Şekil 12: ROI (region of interest) sınırları belirlendikten sonra program otomatik olarak 15 saniyelik görüntüdeki yaklaşık 300 kareyi analiz etmektedir.

Renkli Doppler sonografi, dokularda kan akışını görselleştirmek için evrensel olarak kullanılmakta olan bir yöntemdir. Eritrositlerin hareketi akım hızı ve yönüne göre kırmızı -mavi renk spektrumu iken; kan akımının olmadığı alanlar renksiz piksel olarak tasvir edilir. Çoğu ultrasonografi proba yaklaşan akımları kırmızının tonları olarak dönüştürürken, ters akımları ise mavinin tonları olarak dönüştürür. Renk skalasında ise daha açık tonlar daha hızlı akımları ifade eder.

Doppler incelemelerinde yaygın olarak kullanılan direnç (resistance) index (RI) ve pulsatility index (PI) kardiyak ritimde kan akım hızına (Şekil 13) göre şu denklemler ile hesaplanmaktadır:

Direnç indeksi (RI) = (pik sistolik hız – end diyastolik hız) / pik sistolik hız

Pulsatilité indeksi (PI) = (pik sistolik hız – end diyastolik hız) / ortalama hız



Şekil 13: Kardiyak ritimde (sistol-diyastol) kan akım hızları
S: pik sistolik hız
ED: end-diyastolik hız
M: ortalama hız

Ultrasonografi pulse wave (PW) imgesi belirlenen bir damar üzerine getirildiğinde (örn: uterin arter, umbilikal arter gibi) kan akım hızı grafiğini göstermekte ve bu damar için RI ve PI değerlerini hesaplayabilmektedir. Ancak kaotik kılcal damarlanması olan bir alan için yani end-organ perfüzyonu için yetersiz kalmaktadır.

Renkli Doppler sonografide perfüzyon, belirli bir zaman diliminde tanımlanmış bir ilgi alanı (ROI) üzerinden geçen kan miktarı olarak algılanır. Perfüzyonun hesaplanabilmesi için 2 parametrenin bilinmesi gereklidir: ROI içindeki tüm damarlardaki akım hızı ve ROI'daki tüm damarların trans kesitlerinin alanı. Bu iki parametrede kardiyak döngü içerisinde değişmektedir. Bir dinamik doku perfüzyonu ölçümü yazılımı olan PixelFlux Chameleon Software (GmbH, Münster Germany), renk skalasını kullanarak ROI içindeki tüm renkli piksellerin alanını (A) ve hızını (V) hesaplar. Yoğunluk (I) ise aşağıdaki denkleme göre hesaplanır.

$$I \text{ (cm/sn)} = V \text{ (cm/sn)} * A \text{ (cm}^2\text{)} / A_{ROI} \text{ (cm}^2\text{)}$$

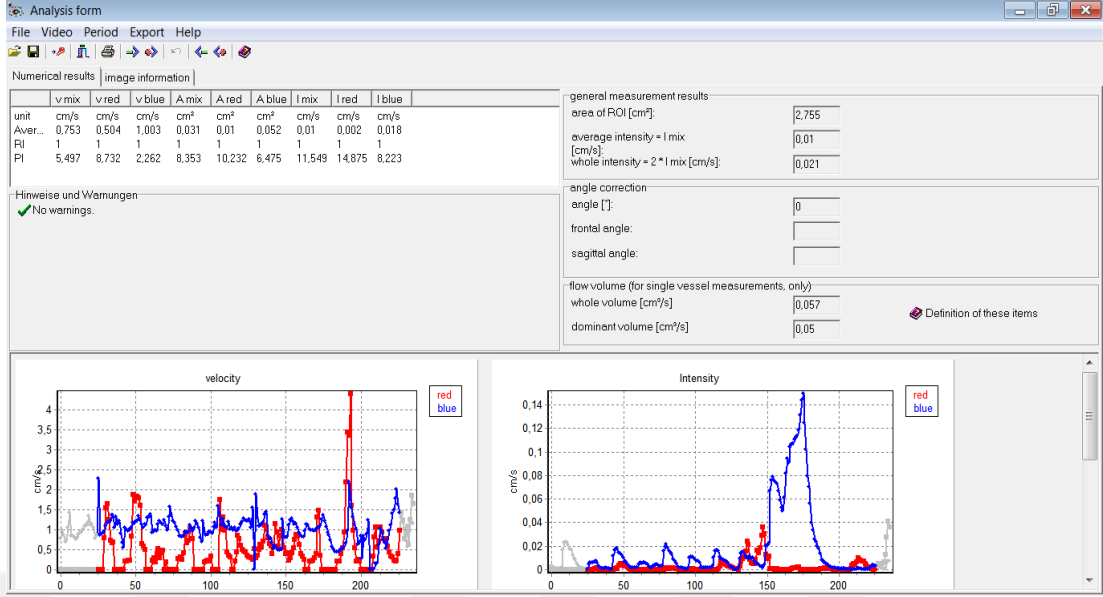
Alan belirlendikten sonra program otomatik olarak 15 saniyelik kayıttaki yaklaşık 300 görüntüyü analiz etmekte ve analiz formunu görüntülemektedir (Şekil 14). Analiz formu üç parametrenin yani hız (velocity, V), yoğunluk (intensity, I) ve alan (area, A)'ın red (kırmızı, proba yaklaşan), blue (mavi, probdan uzaklaşan) ve her ikisinin ortalaması olan mix'in average değerlerini ve grafiklerini içermektedir. Ayrıca program RI ve PI değerlerini aşağıdaki formüller ile yukarıda bahsedilen her bir parametre için hesaplamaktadır;

$$RI = (X_{max} - X_{min}) / X_{max}$$

$$PI = (X_{max} - X_{min}) / X_{average}$$

Kan akım hızını ifade eden velocity için red ve blue değerlerinin tamamını kapsayan V_{mix} için hesaplanmış olan RI ve PI değerleri tissue resistance index (TRI) ve tissue pulsatility index (TPI) olarak tanımlandı. TRI, TPI ile V_{mix}, A_{mix} ve I_{mix} için average değerleri olgu formuna kaydedildi.

Hastalar transfer sonrası 14. gün β -hCG kontrolüne çağırıldı. Kontrol günü kanda bakılan β -hCG değeri kaydedildi. β -hCG değeri biyokimyasal 50 mIU/ml üzerinde saptanan hastalar gebe olarak kabul edildi. Bir hafta sonra TVUSG'de gestasyonel kese varlığı değerlendirildi. Transferden 4 hafta sonra TVUSG'de fetal kalp atımı gözlenenler klinik gebe olarak kabul edildi.



Şekil 14: Analiz formu. Velocity, area ve intensity için red, blue ve mix için average sayısal değerlerini; bu parametreler için hesaplanan RI ve PI sayısal değerlerini ve grafiksel verilerini içermektedir.

4. BULGULAR

Ege Üniversitesi Rektörlüğü Aile Planlaması ve Kısırlık Araştırma Uygulama Merkezi'ne Temmuz 2017-Ekim 2017 tarihleri arasında başvuran IVF/ICSI-ET tedavisine ve GnRH antagonist protokolü ile over stimülasyonuna karar verilen hastalardan diğer çalışma kriterlerini de karşılayan 30 gönüllü dahil edildi.

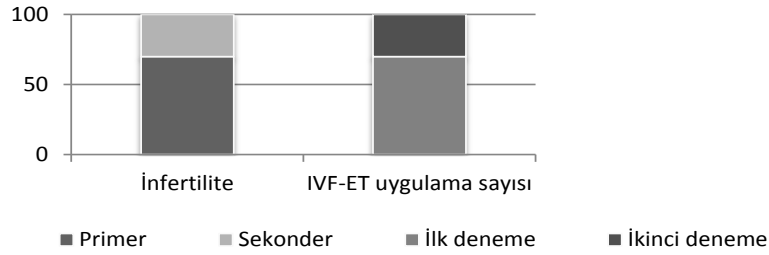
Otuz olgunun demografik özellikleri incelendiğinde; yaş ortalamaları $32\pm 3,9(24-39)$ olup, vücut kitle indeksi ortalamaları $25,1\pm 3,6 \text{ kg/m}^2$ ($19,6-33,3$) olarak hesaplandı. Hastaların infertilite süreleri ise ortalama $4,0\pm 2,3$ yıl ($1,5-11$) olarak belirlendi. Son 6 ay içerisinde menstrüasyonun 3. günü bakılan bazal hormon profili değerleri; folikül stimulan hormon $7,4\pm 2,2$ mIU/ml ($4,3-14,1$), luteinizan hormon $6,4\pm 3,6$ mIU/ml ($2,7-19,3$), östradiol $34,6\pm 13,9$ pg/ml ($6,0-59,0$), tiroid stimulan hormon $1,8\pm 0,7$ μ IU/ml ($0,1-3,5$), anti-müllerian hormon $3,2\pm 2,8$ ng/ml ($0,2-11,1$) olarak bulunmuştur. Olguların demografik özellikleri ve bazal hormon profili değerleri Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 7: Çalışmaya alınan olguların demografik verileri;

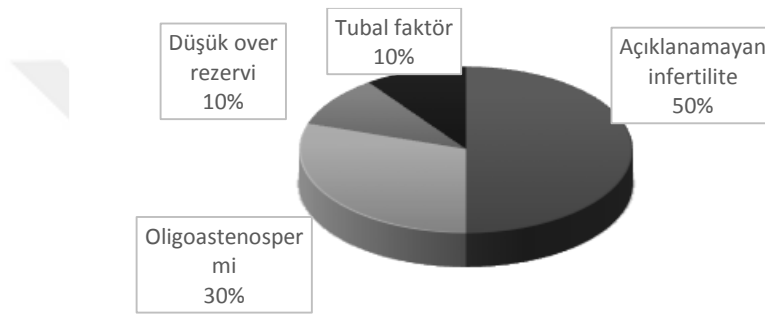
	<i>Ortalama \pm Std sapma</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>
Yaş (yıl)	32,0 \pm 3,9	24	39
BMI (kg/m ²)	25,1 \pm 3,6	19,6	33,3
İnfertilite Süresi (yıl)	4,0 \pm 2,3	1,5	11
FSH (mIU/ml)	7,4 \pm 2,2	4,3	14,1
LH (mIU/ml)	6,4 \pm 3,6	2,7	19,3
E ₂ (pg/ml)	34,6 \pm 13,9	6,0	59,0
TSH (μ IU/ml)	1,8 \pm 0,7	0,1	3,5
AMH (ng/ml)	3,2 \pm 2,8	0,15	11,1

Olguların %70'i (n=21) primer infertil iken %30'u (n=9) sekonder infertildir. Çalışmamıza dahil edilmiş olan olgulardan %70'inin (n=21) ilk IVF-ET tedavisi iken %30'unun (n=9) ikinci IVF-ET uygulamasıdır (Şekil 15). İnfertilite etiolojileri incelendiğinde %30 (n=9) erkek faktörü, %10 (n=3) düşük over rezervi, %10 (n=3) tubal faktör saptanırken, hastaların %50'si (n=15) açıklanamayan infertilite nedeniyle tedaviye alınmıştır (Şekil 16).

Şekil 15: Olguların primer/sekonder infertilite ve IVF-ET uygulama sayısı oranları



Şekil 16: Çalışmaya alınan olguların infertilite etiyolojileri



Olgular ek hastalıkları açısından incelendiğinde olgulardan ikisinde (%6,7) Hashimoto tiroiditi, birinde (%3,3) ise insülin direnci mevcut idi ve bu nedenlerle ilaç kullanmakta idiler. Diğer 27 (%90) olgunun ise ek hastalığı ve ilaç kullanımı yoktur.

Olguların tümü GnRH antagonist protokolü uygulanan hastalardı. Olgulara, ortalama $7,2 \pm 1,1$ gün (6-10) ve ortalama $1583,3 \pm 725,7$ IU (600-4500) FSH dozu ile stimülasyon uygulanmıştır. hCG uygulama gününde ölçülen serum E₂ değerleri (pik E₂) ortalama $1105,1 \pm 444,4$ pg/ml (409-2555) iken transvajinal ultrasonografi ile endometriyal kalınlıkları ortalama $10,7 \pm 1,8$ mm (7,1-14,5) olarak ölçülmüştür. Oosit pick-up ile olgulardan ortalama $8,9 \pm 4,9$ (1-20) toplam oosit elde edilirken bunların ortalama $7,1 \pm 4$ 'ü (1-15) matür oosit olarak saptanmıştır. Olguların %80'sine (n=24) 3. gün embriyo transferi yapılırken %20'sine (n=6) 2. gün embriyo transferi yapılmıştır. Embriyo transfer günü transfer öncesi yapılan transvajinal ultrasonografide endometriyum kalınlıkları ortalama $10,9 \pm 1,8$ mm (7,8-15,6) olarak ölçülmüştür (Tablo 8). Embriyo transferi olguların ortalama $14,5 \pm 1,2$ 'nci (13-17) siklus gününde uygulanmıştır (Tablo 8). Olguların %76,7'sine (n=23) tek embriyo

transfer edilirken, olguların %23,3'üne (n=7) iki embriyo transfer edilmiştir. Transfer edilen embriyoların %66,7'si (n=20) grade 1, %33,3'ü (n=10) grade 2 embriyo idi.

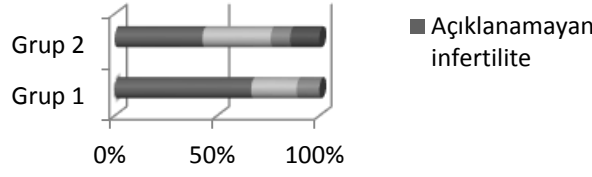
Olguların %36,7'sinde (n=11) embriyo transferinden 12-14 gün sonra serum β -hCG düzeyi 50 mIU/ml üzerinde tespit edilmiştir. Olguların %30'unda (n=9) ultrasonografik olarak intrauterin gestasyonel sac ve fetal kalp atımı gözlenmiştir. Fetal kalp atımı izlenen olgular klinik olarak gebe kabul edilmiştir. Serum β -hCG değeri 50 mIU/ml üzerinde tespit edilen ancak ultrasonografi kontrolünde gestasyonel sac saptanamayan iki olgu kimyasal gebelik olarak değerlendirilmiştir. Çalışmaya alınan olgu grubunda blighted ovum ya da ektopik gebelik oluşmamıştır. Klinik gebe olan olgular Grup 1, klinik gebelik elde edilemeyen olgular ise Grup 2 olarak tanımlanmıştır. Bu iki grup arasındaki değişkenlerin istatistiksel karşılaştırması için Mann-Whitney U ve ki kare testleri kullanılmıştır.

Tablo 8: Olguların ovulasyon indüksiyonu sonuçları

	<i>Ortalama \pm Std sapma</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>
İndüksiyon süresi (gün)	7,2 \pm 1,1	6	10
Toplam FSH dozu (IU)	1583,3 \pm 725,7	600	4500
Pik E ₂ (pg/ml)	1105,1 \pm 444,4	409	2555
hCG günü EM kalınlık (mm)	10,7 \pm 1,8	7,1	14,5
Toplam oosit sayısı (adet)	8,9 \pm 4,9	1	20
Matür oosit sayısı (adet)	7,1 \pm 4	1	15
Siklus günü	14,5 \pm 1,2	13	17
ET günü EM kalınlık (mm)	10,9 \pm 1,8	7,8	15,6

Klinik gebelik elde edilen Grup 1 ve klinik gebelik elde edilemeyen Grup 2 olguları demografik açıdan karşılaştırıldığında yaş, BMI ve infertilite süresi açısından bir farklılık izlenmemiştir. Olguların son 6 ay içerisinde menstrüasyonun 3. günü bakılmış olan bazal hormon profilleri (FSH, LH, E2, TSH, prolaktin, AMH) iki grup karşılaştırıldığında anlamlı bir fark izlenmemiştir (Tablo 9). Her iki grupta primer ve sekonder infertilite oranları benzerdi (p=0,794). Grup 1'in %66,7'si (n=6) primer, %33,3'ü (n=3) sekonder; Grup 2'nin %71,4'ü (n=15) primer, %28,6'sı (n=6) sekonder infertildi. Ek olarak grupların infertilite etiyojisi dağılımları da benzer olarak bulunmuştur (p=0,517). Grup 1'de infertilite etiyojileri sırasıyla %66,7 idiopatik, %22,2 male, %11,1 düşük over rezervi iken grup 2' de oranlar sırasıyla %42,9 idiopatik, %33,3 male, %14,3 tubal faktör ve %9,5 düşük over rezervi idi. (Şekil 17).

Şekil 17: Grup 1 ve 2'nin infertilite etiyojileri



Tablo 9: Grup 1 ve 2 için demografik özelliklerin ve bazal hormon profilinin karşılaştırılması

	Grup 1 Ortalama±SD	Grup 2 Ortalama±SD	<i>p</i>
Yaş (yıl)	33,1±4,0	31,6±4,0	,398
BMI (kg/m ²)	24,7±2,7	25,2±3,9	,734
İnfertilite süresi (yıl)	4,0±1,8	4,0±2,6	,665
FSH (mIU/ml)	8,1±2,4	7,1±2,2	,205
LH (mIU/ml)	7,6±3,7	5,9±3,5	,174
E ₂ (pg/ml)	35,8±11,5	34,0±15,0	,651
TSH (µIU/ml)	2,0±0,9	1,8±0,7	,619
PRL (ng/ml)	17,7±13,6	20,9±11,2	,267
AMH (ng/ml)	3,5±3,3	3,0±2,6	,928

*Mann-Whitney U testi

Grupların IVF siklus sayısı açısından karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir ($p=0,258$). Grup 1'in %55,6'sının ($n=5$) ve Grup 2'nin %76,2'sinin ($n=16$) ilk IVF uygulaması idi. Gruplar ART için uygulanan ovulasyon indüksiyonu ve sonuçları açısından karşılaştırıldığında benzer bulundu (Tablo 10).

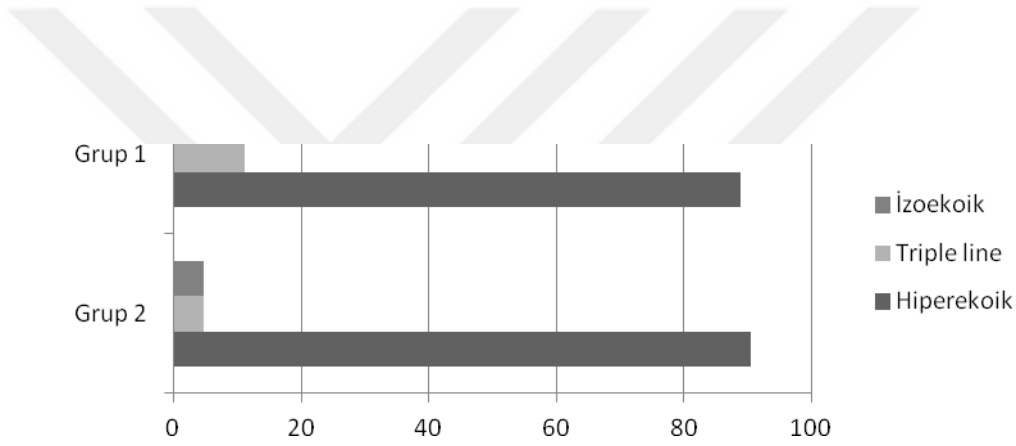
Tablo 10: Grupların ovulasyon indüksiyon sonuçlarının karşılaştırılması

	Grup 1 Ortalama±SD	Grup 2 Ortalama±SD	<i>p</i>
İndüksiyon süresi (gün)	7,7±1,3	6,9±0,9	,150
Toplam FSH dozu (IU)	1652±1124	1553±504	,539
Pik E ₂ (pg/ml)	1227±605	1052±360	,428
hCG günü EM kalınlık (mm)	10,8±1,9	10,6±1,8	,982
Matür oosit sayısı	6,2±4,6	7,5±3,7	,246
Siklus günü	15,1±1,3	14,2±1,0	,053
ET günü EM kalınlık (mm)	11,4±1,9	10,6±1,8	,297

*Mann-Whitney U testi

Olguların hCG enjeksiyon günü ve embriyo transfer günü transvajinal ultrasonografi ile bakılan endometriyal kalınlık ölçümleri gruplar arasında karşılaştırıldığında fark bulunmamıştır. Olguların tamamının hCG enjeksiyon günü endometriyum morfolojileri triple line olarak izlenmiştir. Embriyo transfer günü endometriyum morfolojileri ise Grup 1'in %88,9'unda (n=8) ve Grup 2'nin %90,5'inde (n=19) hiperekojenik olarak izlenmiştir. Grup 1 içinde geriye kalan %11,1 olguda trilaminer patern izlenirken, Grup 2'de %4,8 trilaminer ve %4,8 izoekoik görünüm izlenmiştir. Transfer günü gruplar ultrasonografik endometriyal görünüm açısından istatistiksel olarak benzer bulundu ($p=0,667$) (Şekil 18).

Şekil 18: Grupların embriyo transfer günü ultrasonografik endometriyum paternleri



Klinik gebelik elde edilen grup ile elde edilemeyen grup arasında embriyo transfer günü ($p=0,842$) ve embriyo grade'i ($p=0,398$) açısından bir farklılık gözlenmedi. Grup 1'in %77,8'ine (n=7) ve Grup 2'nin %81'ine (n=17) 3. gün embriyo transferi uygulanmıştır. Transfer edilen embriyolar ise Grup 1'in %55,6'sında (n=5) ve Grup 2'nin %71,4'ünde (n=15) grade 1 embriyo idi. Transfer edilen embriyo sayısı açısından da gruplar benzer idi ($p=0,926$). Grup 1'de %77,8 (n=7/9) olguya, Grup 2'de %76,2 (n=16/21) olguya tek embriyo transferi yapılmış idi.

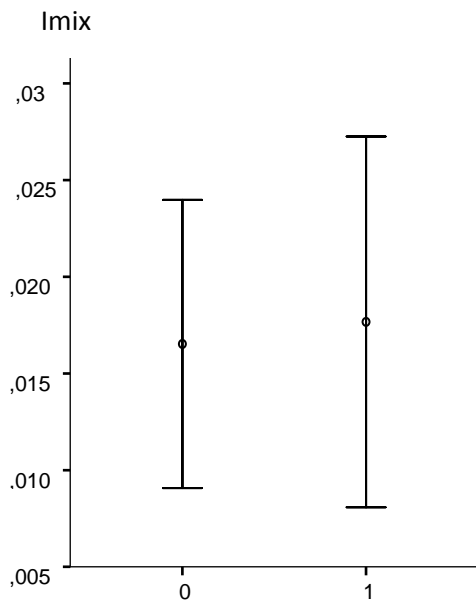
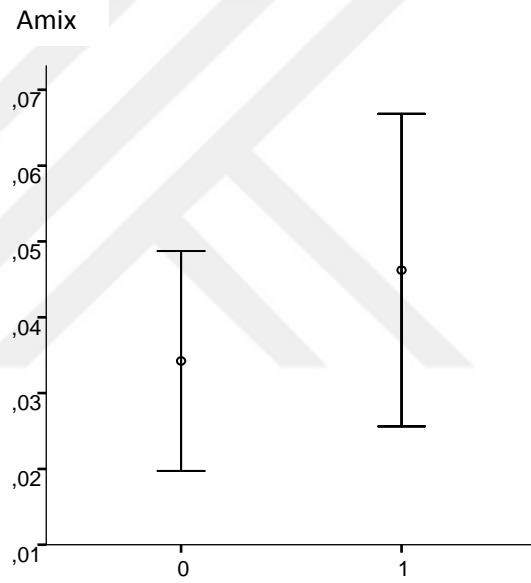
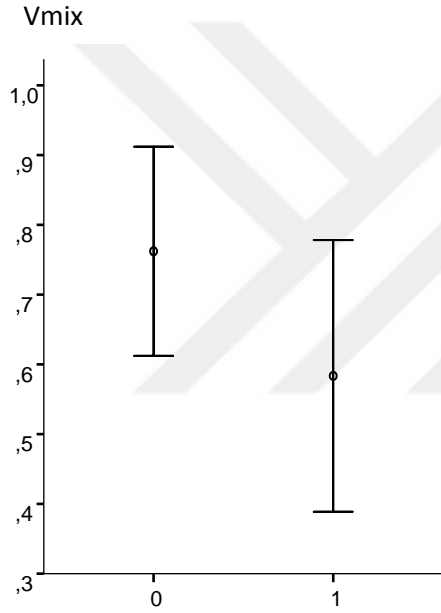
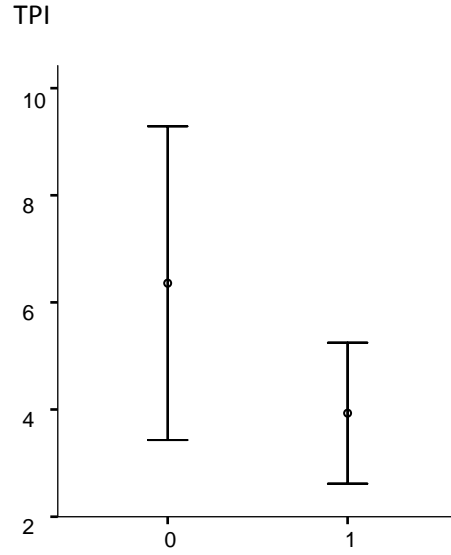
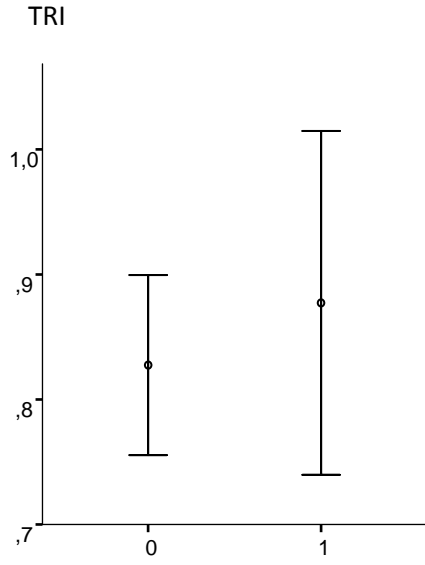
Çalışmamızda klinik gebelik elde edilen ve edilemeyen iki grup arasında demografik veriler ve gebelik sonucunu etkileyebilecek ART tedavi sürecine ilişkin tüm değişkenler benzer bulunmuştur.

Embriyo transfer günü olguların tamamına transfer öncesi TVUSG uygulanmış olup renkli doppler ile midsagittal planda endometriyumun tamamını içerecek şekilde 15 saniyelik görüntü kaydı yapılmıştır. Transfer günü elde edilen ultrasonografi görüntüleri PixelFlux Chameleon Software (GmbH, Münster Germany) ile işlendi ve direnç indeksi (RI) ve pulsatilite indeksi (PI) için; hız (velocity, V), yoğunluk (intensity, I) ve alan (area, A)'ın red (kırmızı, proba yaklaşan), blue (mavi, probdan uzaklaşan) ve her ikisinin ortalaması olan mix'in rakamsal değerleri program tarafından hesapladı. Bu parametrelerden Vmix ile hesaplanmış olan TRI ve TPI değerleri ile Vmix, Amix ve Imix için average değerleri Grup 1 ve 2 için analiz edildi. Klinik gebelik elde edilen ve edilemeyen iki grup arasında yapılan PixelFlux verilerinin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 11).

Tablo 11: TRI, TPI ile V mix, A mix ve I mix average değerlerinin analizi;

	Grup 1 (Mean ± Std sapma)	Grup 2 (Mean ± Std sapma)	P
TRI	0,88±0,25	0,82±0,20	,128
TPI	3,93±2,40	6,36±8,16	,982
Vmix	0,58±0,35	0,76±0,41	,213
Amix	0,05±0,04	0,03±0,04	,205
Imix	0,02±0,02	0,02±0,02	,365

*Mann-Whitney U testi



Şekil 19: Gruplar arasında TRI, TPI, Vmix, Amix ve Imix değerlerinin dağılımları verilmiştir. Grafiklerde X ekseninde klinik gebelik elde edilemeyenler 0, klinik gebelik elde edilenler 1 ile ifade edilmiştir.

5. TARTIŞMA

Son 50 yıl boyunca üreme tıbbı alanında ciddi gelişmeler yaşanmıştır. Edinilen bilgiler infertilitenin daha iyi anlaşılmasını sağlamış ve infertil çiftlerin büyük oranda yararlandığı reproduktif teknolojilerdeki gelişmelere neden olmuştur. Özellikle IVF/ICSI üreme tıbbındaki en önemli ilerlemelerdendir.

IVF başlangıçta tubal hastalığı bulunan kadınlar için geliştirilmiş olsa da günümüzde infertilite tedavisinde yadsınamaz genişlikte kullanım alanı bulmuştur. IVF tedavisinin tüm aşamalarında ilerleme kaydedilmiş ve bu da tedavi başarısına yansımıştır. 1980'lerde %10 olan IVF başarısı 2000'lerde %30'lara yükselmiştir (127). Bu oranlar %14,4-31,8 (128) olan fekundabilite oranlarını yakalamış olsa da doğal sıkluslarda başarı şansını etkileyen anovulasyon, yanlış zamanda ilişki, semen kalitesinde düşüklük gibi birçok faktör vardır. Ayrıca IVF tedavisinin maliyeti, prosedürün invaziv işlemleri içermesi, hasta beklentisi ve olası komplikasyonlar göz önüne alındığında tedavi başarısızlığı azaltılmak istenmektedir.

IVF/ICSI-ET tedavi başarısını arttırmaya yönelik özellikle implantasyon ve uterus reseptivitesi ile ilgili çalışmalar ön plandadır. İmplantasyonun temel mekanizmalarının anlaşılması amacıyla yapılan hayvan deneylerinden sonra hormonal olarak hazırlanmış endometriyumun implantasyonda esas rol oynadığı kabul edilmektedir (129).

IVF'ten elde edilen bilgilerin implantasyon için istatistiksel olarak değerlendirilmesi gerektiğini ilk defa Speirs ve arkadaşları öne sürmüşlerdir (130). Bu modele göre her embriyo olası bir sağ kalım şansına sahiptir (E) ve her hasta için de bir uterus reseptivitesi olasılığı (U) vardır. Dolayısıyla her bir embriyo transfer edildiğinde gebelik olasılığı ExU şeklinde hesaplanır. Bunu dışında E ve U'nun tahmini olarak hesaplanmasında daha karmaşık istatistiksel yöntemlerde kullanılmıştır (131, 132). Uterus reseptivitesi implantasyon başarısızlığında temel bir rol oynamaktadır ve kullanılan over stimülasyon protokolleri uterus reseptivitesini değişik şekillerde etkilemektedirler.

Uterus reseptivitesinin tayini için bir belirteç bulabilmek adına çok sayıda araştırma yapılmıştır. Endometriyumun dinamik bir doku olması ve implantasyonun aktif bir süreç olması nedeniyle; implantasyon zamanında saptanan belirgin değişiklikler olmasına rağmen kesin bir belirteç bulunamamıştır. Uterus reseptivitesinin değerlendirilmesinde; endometriyal morfoloji, histoloji ve gen ekspresyonu gibi değişiklikleri değerlendirmek için siklusun uygun zamanında endometriyal biyopsi yapılması gerekmektedir. Ancak biyopsi aktüel IVF siklusunda endometriyal hasara neden olacağından girişimsel olmayan yöntemlerle reseptivite değerlendirilmesi çalışmaları gündeme gelmiştir. Ultrasonografi ile endometriyal kalınlık ölçümü, endometriyal patern, 3D ile volüm ölçümü, doppler incelemeler ile endometriyal, subendometriyal, uterin arterlerin değerlendirilmesi gibi çeşitli parametrelerin IVF başarısını öngörmeye yerleri araştırılmıştır (133). Endometriyal kalınlık ve patern endometriyal reseptivite için öne sürülen belirteçler olmakla birlikte IVF sonucunu öngörmeye spesifiteleri ve pozitif prediktif değerleri düşüktür (134).

Friedler ve arkadaşlarının 1996'da yayınladığı bir derlemede vasküler perfüzyon ölçümlerinin gebeliği predikte etmek açısından prognostik değerinin gözlemlenmediği bildirilmiştir (135). hCG uygulama gününde endometriyal perfüzyonu değerlendiren çalışmalarda, konsepsiyon oluşup oluşmamasından bağımsız olarak PI ve Vmax değerlerinin farklı olmadığını bildirmiştir (135, 136, 137, 138). Fakat sadece renkli akım verileri incelendiğinde, kötü vasküler penetrasyon gösteren, ölçülebilir subendometriyal vasküler akım yokluğunun implantasyon başarısızlığı ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (139). Bu çalışmaları takiben 3D power flow doppler ultrasonografi çalışmaları gelmiştir.

Literatürde 3D ultrasonografi ile endometriyum ya da subendometriyumun değerlendirilmesinde en sık kullanılan program VOCAL (Virtual Organ Computer-Aided Analysis)'dir. Bu program ile 3D görüntüde seçilen bölgenin hacmi mililitre olarak hesaplanabilmektedir. Histerektomi öncesinde VOCAL'le ölçülen uterus hacimleri ile operasyon sonrası piyeslerin hacimlerini karşılaştıran çalışmada uterus hacmi 220 ml'yi geçtiğinde programın yetersiz kaldığını ortaya konmuştur benzer sonuç diğer çalışmalarla desteklenmiştir (140, 141, 142). Programı endometriyal hacim ile IVF başarısı arasındaki ilişkinin tanımlanması amacıyla kullanan

çalışmalar mevcuttur. Ancak endometriyal reseptivitenin değerlendirilmesine endometriyal kalınlığın ölçülmesinden farklı bir katkı sağlayamamıştır. Endometriyal volüm 1 ml'nin altında ise hiç gebelik elde edilemez iken 2 ml altındaki volümlerde gebelik oranları önemli ölçüde düşük bulunmuştur (115, 116, 117).

3D power doppler çalışmalarında kullanılan, ultrasonografi tarafından otomatik olarak hesaplanabilen parametreler; vaskülarizasyon indeksi (VI), flow indeks (FI) ve vaskülarizasyon flow indeks (VFI)'dir. Bu indekslerin hesaplanmasında voksel sayısı kullanılmaktadır. Bizim çalışmamızda da kullanılan piksel; dijital göstergelerde görüntünün elde edilmesini sağlayan ve kontrol edilebilen en küçük birimdir. Voksel ise piksel değerini oluşturan hacimdir. Yani piksel 2 boyutu ifade ederken voksel 3 boyutu ifade eder. VI, renkli voksel sayısının toplam voksel sayısına oranıdır ve damar yoğunluğunu ifade eder. FI, renk yoğunluğunun toplamının renkli voksel sayısına oranıdır ve kan akımının yoğunluğunu tanımlar. VFI ise renk yoğunluğunun toplamının toplam voksel sayısına oranıdır, damarlanma ve perfüzyonu değerlendirir.

Endometriyal 3D power doppler akım parametrelerinin IVF başarısını değerlendirmek amacıyla kullanıldığı birçok çalışma mevcuttur ancak sonuçlar oldukça tartışmalıdır. Literatürde IVF sonrası klinik gebelik elde edilenler ile edilemeyenler arasında endometriyal volüm, FI, VI ve VFI değerleri arasında anlamlı fark bulunamayanlar çalışmaları olduğu gibi (133, 143, 144, 145) farklı parametreleri anlamlı bulan çalışmalar da vardır. Merce ve ark yaptığı farklı etiyojileri nedeniyle IVF uygulanan infertil hasta grubunda hCG enjeksiyon günü yapılan 3D power doppler USG'de endometriyal kanlanma ve volüm değerlendirilmiştir. Gebelik elde edilen grupta endometrial volüm, VI, FI ve VFI değerleri elde edilemeyenlere göre anlamlı yüksek bulunmuştur (146). Ng ve ark.'nın yaptığı çalışmada ultrasonografi OPU günü uygulanmış olup gebelik elde edilen grupta uterin arter RI, endometriyal VI ve VFI anlamlı daha düşük bulunurken FI değerleri benzer bulunmuştur (147). Bunun aksine endometriyal VFI, VI ve FI değerlerini gebelik elde edilenlerde anlamlı daha yüksek saptayan çalışmalar da mevcuttur (148, 149). Ng ve ark.'nın 2009 yılında yayınlanan çalışmalarında iyi prognozlu hastalarda hGC uygulama günü ile embriyo transfer gününde 3D power doppler ile endometrial/subendometrial VI, FI ve VFI değerlendirilmiştir. Gebe kalan ve kalmayan olgularda fark bulunmadığı,

ek olarak çoğu hastada embriyo transfer gününde hCG günü yapılan analizlere oranla VI ve VFI de belirgin azalma gözleendiği vurgulanmıştır (133). Benzer şekilde akım değişim oranlarının da IVF sonucun öngörmeye bir rolünün gözlenemediği belirtilmiştir (133). Bu kadar farklı sonuçların elde edilmesinde endometriyal perfüzyon ilişkili ölçümlerin değerlendirme zamanı (hCG uygulama günü, oosit toplama günü veya transfer günü) için bir konsensüs bulunmaması (133), taze veya dondurulmuş embriyo transferinin yapılmış olması ya da over stimülasyon protokollerinin farklı olması neden olabilir.

Menstrüel siklus boyunca uterin kan akımının periyodik olarak değiştiiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (150, 151). Spontan siklularda endometriyal-subendometriyal kan akışının ovulasyondan önceki 3. günde pik yaptığı ve ovulasyondan sonra 5. günde minimuma indiği gözlenmiştir (150). Orta-geç foliküler faz, erken luteal faz ve implantasyon döneminde 2D-3D power doppler USG ile endometriyal ve subendometriyal kan akımı parametrelerini değerlendiren çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda açıklanamayan infertiliteye sahip kadınlar ile sağlıklı kontrol grubunun değerleri karşılaştırılmıştır (152, 153, 154). İmplantasyon döneminde bakılan kan akımı parametrelerinde anlamlı bir fark saptanamaz iken; orta-geç foliküler faz fazda açıklanamayan infertiliteye sahip kadınlarda vasküler indekslerin daha düşük bulunduğu rapor edilmiştir (152, 153, 154).

Subendometriyal kan akımını değerlendiren çalışmalarda endometriyum-myometriyum sınırı belirlendikten sonra Shell imaging yardımıyla sınıra istenilen uzaklıkta paralel bir sınır belirlenmesi mümkündür. Bu şekilde subendometriyal alan belirlenebilmektedir. Ancak subendometriyumun tespitinde derinlik için bir cut-off değeri olmadığından bu uzaklığı 2 mm, 5 mm, 9 mm gibi çok farklı mesafeler ile yapılan çalışmalar mevcuttur (149, 155, 156). IVF tedavisi ile gebelik elde edilen ve edilemeyen hastaların subendometriyal VI, FI ve VFI değerlerinin benzer bulunduğu (145, 147) çalışmaların yanı sıra subendometriyal VI ve VFI değerlerini gebelik elde edilenlerde anlamlı olarak yüksek saptayan çalışmalar da mevcuttur (149, 156).

Wang ve ark, embriyo transferinde endometriyal ve subendometriyal vaskülaritenin gebelik başarısına etkisinin 3D power doppler ultrasonografi ile değerlendirildiği çalışmaların meta analizini yayınlamışlardır (157). Meta analize toplamda 895 gebelik elde edilen, 882 gebelik elde edilemeyen olgunun

değerlendirildiği 10 çalışma dahil edilmiştir. Embriyo transfer gününde endometriyal VI, FI ve VFI değerlerinin gebelik elde edilenlerde anlamlı olarak daha yüksek olduğu ancak bu ilişkinin hCG enjeksiyon günü bakılan değerlerde izlenmediği belirtilmiştir. Ayrıca subendometriyal FI değerlerinin hem hCG enjeksiyon günü hem de transfer günü gebelik elde edilen grupta anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur.

Prospektif kohort olarak planlanan çalışmamızda 2D renkli doppler ultrasonografiyle dinamik doku perfüzyon ölçümü yapılarak IVF tedavisinde implantasyon başarısı değerlendirilmiştir. Endometriyal kan akımını etkileyebilecek faktörler dışlanarak çalışmaya 30 gönüllü dahil edilmiştir. Olguların tamamına GnRH antagonist protokolüyle over stimülasyonu uygulanmış olup buna bağlı gelişebilecek uterin reseptivite farklılığı önlenmiştir. Ayrıca hCG uygulama günü kriterleri, ET planlaması standardize edilmiş olup hastaların tamamında taze embriyo transferi uygulanmıştır. Çalışmamızda gebe kalan ve kalmayan olgular, demografik veriler açısından karşılaştırıldığında fark bulunmadığı saptanmıştır.

Analiz edilen tüm olgularda hCG günü trilaminer patern gözlemlendi, ET gününde ise %90 olguda hiperekoik, %6,7 triple line ve %3,3 olguda izoekoik patern izlendi. Gruplar arasında hCG günü ve embriyo transfer günü endometriyal kalınlık ve endometriyal patern açısından bir farklılık gözlenmemiştir. Gruplar arasında yardımcı üreme tedavisi için yapılan ovulasyon indüksiyonu sonuçlarına bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir. Gebelik elde edilemeyen grupta (%71,4) Grade 1 embriyo transferi yapılan olguların oranı gebelik elde edilen gruba (%55,6) göre daha fazla saptanmıştır. Morfolojik olarak kaliteli embriyo transferi yapılmasına karşın gebelik elde edilememesi implantasyonda yalnızca embriyo kalitesinin değil endometriyal reseptivitenin de önemli bir rolü olduğunu göstermektedir. Bir başka bakış açısıyla embriyo kalitesinin belirlenmesinde morfolojik değerlendirme yetersiz olabilir bu nedenle PGD yapılarak genetik olarak normal olduğu belirlenen embriyoların transfer edildiği olgularda endometriyal reseptivite çalışmalarının yapılması önemli katkılar sağlayabilir. Aynı zamanda embriyo kalitesini belirlemek açısından morfoloji dışında da belirteçlerin gerekliliği konusunun önemi de tekrar görülmektedir.

Çalışmamızda daha önce renal doku perfüzyonu, memeli hayvanlarda endometriyal perfüzyon gibi farklı alanlarda başarıyla uygulanmış olan PixelFlux Chameleon Software (GmbH, Münster Germany) bilgisayar programı ilk kez insan endometriyumunun dinamik doku perfüzyonunun değerlendirilmesi amacıyla kullanılmıştır. Endometriyal doku perfüzyonunun değerlendirilmesi amacıyla TRI, TPI, Vmix, Amix ve Imix parametreleri gebelik elde edilen grup ile elde edilemeyen grup arasında karşılaştırılmıştır. Bu parametreler için iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir. Olgu sayımızın sınırlı oluşu çalışmamızla ilgili limitasyon nedenidir. Ancak gebelik elde edilemeyen grupta velocity ve tissue pulsatility index değerleri daha yüksek bulunurken tissue resistance index değeri daha düşük bulunmuştur. İmplantasyon başarısı için direncin daha az akımın daha fazla olması akla yatkın gelmekte ancak direncin artarak kan akımını yavaşlatmasının implantasyonu kolaylaştıran bir faktör olabileceği düşünülmektedir. Bir siklus boyunca yapılacak olan endometriyal perfüzyon ölçümleri ile implantasyon penceresi döneminde kan akımı değişikliklerinin ortaya konması bu bağlamda önemli bilgiler sağlayabilir. Aynı zamanda implantasyon ile ilgili sadece doppler parametrelerinin değil, HOX genleri, interlökinler gibi diğer mediatörlerin de etkili olabileceği düşünülmektedir.

Ultrasonografiyle dinamik doku perfüzyonu değerlendirilmesi diğer akım çalışmalarına göre yeni bir alan olup bu konuyla ilgili farklı tekniklerin, bilgisayar programlarının ve ultrasonografi modlarının geliştirilmesine açıktır. Ayrıca bu alanda standardizasyon sağlanması yalnızca endometriyum değil diğer doku perfüzyon değerlendirmelerinde de kontrast madde kullanımını azaltabileceği kanaatindeyiz.

Maliyet ve erişim kolaylığı nedeniyle çalışmamızda 2D ultrasonografi kullanıldı. Üç boyutlu bir alanın içerisinde iki boyutlu bir kesit alınarak değerlendirme yapılması geneli yansıtmayabilir ayrıca kavite içerisinde yer kaplayan oluşum olan olgular için değerlendirmede hatalara neden olabilir. Bu nedenle 3D ultrasonografi ile elde edilecek görüntülerin kullanılması ile ek veriler sağlanabilir. Kullanmış olduğumuz program her iki formattaki (2D ve 3D) görüntüyü de analiz edebilmektedir. Yalnızca 3D değerlendirme için programın görüntü alınan ultrasonografiye göre kalibre edilmesi gerekmektedir.

6. SONUÇ

Çalışmamız insanda implantasyon zamanı endometriyal doku dinamik perfüzyon ölçümünün PixelFlux bilgisayar programı kullanılarak yapılabilirliğini gösteren pilot bir çalışmadır. Biz çalışmamızın sonucunda gebelik elde edilenler ile gebelik elde edilemeyen olgularda endometriyal perfüzyon açısından anlamlı bir fark bulunmadığını gözlemledik. Ancak olgu sayımızın sınırlı oluşu çalışmamızla ilgili limitasyon nedenidir. Perfüzyon ölçümü sonuçlarının IVF tedavi sonuçları ile olası ilişkisinin gösterilebilmesi için geniş hasta serilerinde daha ileri değerlendirmelerin yapılması uygun olacaktır. Farklı hastalarda uygulanan bu analizler için doppler ayarlarının sabit tutulması (color gain, signal power ve pulse repetitive frequency) önemlidir. Sabit ayarlarda farklı hastalarda artefaktların varlığı doppler çalışmalarında sonuçlar açısından limitasyon yaratabilir. Ayrıca konuyla ilgili önceki çoğu çalışmada IVF tedavisinin tek bir basamağında (indüksiyon öncesi, hCG uygulama günü ya da ET günü) endometriyal akım değerlendirmesi yapılmıştır. Aynı hasta grubunda tüm bu basamaklarda perfüzyon değerlendirmesinin yapılması literatüre katkı sağlayacağı gibi perfüzyon çalışmasının zamanlaması açısından da gelecek çalışmalar için bir standardizasyon oluşturabilir.

IVF sikluslarında endometriyal reseptivitenin ultrasonografik olarak non-invaziv şekilde değerlendirilmesi ile ilgili çalışmalar teknolojik gelişmelere paralel olarak devam edecek görünmektedir. Eldeki veriler implantasyon öngörüsünde endometriyal perfüzyon değerlendirilmesinin sınırlı etkinlikte olduğu yönünde olmakla birlikte daha geniş hasta serileri ve ultrasonografik değerlendirmede teknik yöntemlerin standardize edilmesiyle ileride daha prediktif rolü olabileceği düşünülebilir. Yeni gelişmelerle non-invaziv olarak endometriyumun implantasyon potansiyelinin değerlendirilebilmesi IVF tedavilerinde başarı şansını artırmada oldukça önemli olacaktır.

6. KAYNAKLAR

1. In-Vitro Fertilization. Edited by David K. Gardner. 2007, Informa Healthcare USA, Inc.
2. Klein R, Palmer R. Technique of sampling human ovum by follicular puncture under celioscopy. *CR Seances Soc Biol Fil.* 1961; 155:1919.
3. World Health Organization. Manual for the standardised investigation and diagnosis of infertile couple. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2000.
4. Gnath C, Godehardt E, Frank-Herrmann P, et al. Definition and prevalence of subfertility and infertility. *Hum Reprod*,2005; 20: 1144–1147.
5. Mosher WD, Pratt WF. Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends, *Fertil Steril* 56: 192, 1991.
6. Guttmacher AF. Factors affecting normal expectancy of conception, *JAMA* 161:855, 1956.
7. Chandra A, Stephen EH. Infertility service use among U.S. women:1995 and 2002. *Fertil Steril* 93(3):725, 2010.
8. Coale AJ, Trussell TJ. Model Fertility Schedules: Variations in The Age Structure of Childbearing in Human Populations. *Population Index*, 1974; 40: 185-258.
9. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Aging and infertility in women. *Fertil Steril* 2006;86:S248–S252.
10. Kühnert B, Nieschlag E. Reproductive functions of the ageing male. *Human reproductive update*, 2004; 10(4):327-339.
11. Donate A, Estop AM, Giraldo J, Templado C. Paternal age and numerical chromosome abnormalities in human spermatozoa. *Cytogenetic and Genome Research*, 2016;148:241-248.
12. Rittenberg V, Seshadri S, Sunkara SK et al. Effect of body mass index on IVF treatment outcome: an updated systematic review and meta-analysis. *Reproductive BioMedicine Online*, 2011; 23 (4): 421-439.
13. Taylor KC, Small CM, Dominguez CE et al. Alcohol, smoking and caffeine in relation to fecundability, with effect modification by NAT2. *Annals of epidemiology*, 2011;21(11):864-872.
14. Chen TH, Chang SP, Tsai CF, Juang KD. Prevalence of depressive and anxiety disorder in an assisted reproductive technique clinic. *Human reproduction*, 2004; 19(10):2313-2318.

15. Domar AD. Infertility and the mind/body connection. *The Female Patient*, 2005; 30: 24-28.
16. Wilcox AJ, Weinberg CR, Baird DD. Timing of sexual intercourse in relation to ovulation. Effects on the probability of conception, survival of the pregnancy, and sex of the baby. *The New England Journal of Medicine*, 1995; 333: 1517-1521.
17. Joseph B, Stanford David B, Dunson. Effects of Sexual Intercourse Patterns in Time to Pregnancy Studies, *American Journal of Epidemiology*, 2007; 165(9): 1088–1095.
18. Berek's and Novak's Gynecology 15th edition, 2012: 32; 1970.
19. Nieschlag E, Behre HM, Nieschlag S. *Andrology Male reproductive health and dysfunction* 3rd edition, 2010: 6-7.
20. Kretser DM, O'Bryan MK, Lynch M, Reilly A, Kennedy C, Cram D, McLachlan RI. The genetics of male infertility, 2006; 16: 251-252.
21. World Health Organization. *WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen*, in 5th edn. 2010.
22. Işık AZ, Vicdan K. In Vitro Fertilizasyon ve Mikromanüplasyon Uygulamalarında Laboratuvar. 1999; 79: 129-151.
23. DeBraekeleer M, Dao TN. Cytogenetic studies in male infertility: a review. *Human reproduction*, 199; 6: 245-250.
24. Cole LA, Ladner DG, Byrn FW. The normal variabilities of the menstrual cycle. *Fertil Steril* 2009; 91: 522–527.
25. Rowe PJ, Comhaire FH, Hargreave TB, Mellows HJ. *WHO Manual for the Standardized Investigation and Diagnosis of the Infertile Couple*. Cambridge: Cambridge University Press; 1997.
26. Honore GM, Holden AE, Schenken RS. Pathophysiology and management of proximal tubal blockage. *Fertil Steril*. 1999; 71(5): 785–95.
27. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Committee opinion: role of tubal surgery in the era of assisted reproductive technology. *Fertil Steril*. 2012; 97(3): 539-45.
28. Lalos O. Risk factors for tubal infertility among infertile and fertile women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 1988: 29; 129.
29. Rosenfeld DL, Scholl G, Bronson R, et al. Unsuspected chronic pelvic inflammatory disease in the infertile female. *Fertil Steril*. 1970; 21: 390.

30. Nezar M, Goda H, El-Negery M, et al. Genital tract tuberculosis among fertile women: an old problem revisited. *Arch Gynecol Obstet*, 2009; 280(5):787.
31. Giudice LC. Clinical practice. Endometriosis. *N Engl J Med* 2010;362:2389–2398.
32. Bulletti C, Coccia ME, Battistoni S, et al. Endometriosis and infertility. *J Assist Reprod Genet* 2010; 27: 441–447.
33. Soares S, Barbosa dos Reis M, Camargos A. Diagnostic accuracy of sonohysterography, transvaginal sonography and hysterosalpingography in patients with uterine cavity diseases. *Fertil Steril*, 2000; 73: 406.
34. Pérez-Medina T, Bajo-Arenas J, Salazar F, et al. Endometrial polyps and their implication in the pregnancy rates of patients undergoing intrauterine insemination: a prospective, randomized study. *Hum Reprod*. 2005;20(6):1632-1635.
35. Jayaprakasan K, Polanski L, Sahu B, et al. Surgical intervention versus expectant management for endometrial polyps in subfertile women. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014;30(8):CD009592.
36. Elizabeth A. Pritts, M.D., William H, et al. Fibroids and infertility: an updated systematic review of the evidence. *Fertility and sterility*, 2009;91(4):1215-1223.
37. Kroon B, Johnson N, Chapman M, et al. Fibroids in infertility – consensus statement from ACCEPT (Australasian CREI Consensus Expert Panel on Trial evidence). *ANZJOG*, 2011;51: 289-295.
38. Purohit P, Vigneswaran K. Fibroids and Infertility. *Curr Obstet Gynecol Rep*, 2016; 5: 81–88.
39. Schenker J. Etiology of and therapeutic approach to synechia uteri. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 1996; 65: 109.
40. Deans R, Abbott J. Review of intrauterine adhesions. *J Minim Invasive Gynecol*, 2010; 17: 555–569.
41. Yu D, Wong YM, Cheong Y, et al. Asherman syndrome-one century later. *Fertil Steril*, 2008; 89: 759–779.
42. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine in collaboration with Society for Reproductive Endo-crinology and Infertility. Progesterone supplementation during the luteal phase and in early pregnancy in the treatment of infertility: an educational bulletin. *Fertil Steril* 2008;90:S150–S153.

43. Erdem A, Erdem M, Atmaca S, et al. Impact of luteal phase support on pregnancy rates in intrauterine insemination cycles: a prospective randomized study. *Fertil Steril* 2009; 91: 2508–2513.
44. Jones HW Jr. Luteal-phase defect: the role of Georgeanna Seegar Jones. *Fertil Steril* 2008;90:e5–e7.
45. Katz D, Slade D, Nakajima S. Analysis of pre-ovulatory changes in cervical mucus hydration and sperm penetrability. *Adv Contracept*, 1997; 13: 143.
46. Oei SG, Helmerhorst FM, Bloemenkamp KW. Effectiveness of the postcoital test: randomised controlled trial. *BMJ*, 1998; 317(7157):502.
47. Kirby CA, Flaherty SP, Godfrey BM, et al. A prospective trial of intrauterine insemination of motile spermatozoa versus timed intercourse. *Fertil Steril*, 1991; 56: 102.
48. Fisch P, Casper RF, Brown SE, et al. Unexplained infertility: evaluation of treatment with clomiphene citrate and human chorionic gonadotropin. *Fertil Steril*, 1989; 51: 828.
49. Clark JH, Markaverich BM. The agonistic-antagonistic properties of clomiphene: a review. *Pharmacol Ther*, 1982; 15: 467.
50. Imani B, Eijkemans MJC, te Velde ER, et al. Predictors of patients remaining anovulatory during clomiphene citrate induction of ovulation in normogonadotropic oligoamenorrhic infertility. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998; 83: 2361.
51. Danforth DR. Endocrine and paracrine control of oocyte development. *Am J Obstet Gynecol*, 1995;172:747.
52. Nugent D, Vandekereckhove P, Hughes E, et al. Gonadotrophin therapy for ovulation induction in subfertility associated with polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database syst Rev*, 2000;CD000410.
53. Muechler EK, Kohler D, Huang KE. Monitoring of ovulation induction with hMG-hCG therapy by plasma estrogen and progesterone. *Int J Fertil*, 1981; 26: 273.
54. Reuter KL, Cohen S, Furey L, et al. Sonographic appearance of the endometrium and ovaries during cycles stimulated with human menopausal gonadotropin. *J Reprod Med*, 1996; 41: 509.

55. Shoham Z, Di Carlo C, Patel A, et al. Is it possible to run a successful ovulation induction program based solely on ultrasound monitoring? The importance of endometrial measurements. *Fertil Steril*, 1991; 56: 836.
56. Isaacs JD, Wells CS, Williams DB, et al. Endometrial thickness is a valid monitoring parameter in cycles of ovulation induction with menotropins alone. *Fertil Steril*, 1996; 65: 262.
57. Opsahl MS, Robins ED, O'Connor DM, et al. Characteristics of gonadotropin response, follicular development and endometrial growth and maturation across consecutive cycles of clomiphene citrate treatment. *Fertil Steril*, 1996; 66: 533.
58. Janssens RM, Lambalk CB, Vermeiden JP, et al. Dose-finding study of triptorelin acetate for prevention of premature LH surge in IVF: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Hum Reprod*, 2000; 15: 2333.
59. Edwards RG, Lobo R, Bouchard p. Time to revolutionize ovarian stimulation. *Hum Reprod*, 1996; 44: 314.
60. Meldrum D. GnRH agonists as adjuncts for in vitro fertilization. *Obstet Gynecol*, 1989; 44: 314.
61. Pellicer A, Simon C, Miro F, et al. Ovarian response and outcome of in-vitro fertilization in patients treated with gonadotrophin-releasing hormone analogues in different phases of the menstrual cycle. *Hum Reprod*, 1989; 4: 285–289.
62. Padilla SL, Dugan K, Maruschak V, et al. Use of the flare-up protocol with high dose human follicle stimulating hormone and human menopausal gonadotropins for in vitro fertilization in poor responders. *Fertil Steril*, 1996; 65: 796.
63. Gonen Y, Jacobson W, Casper RF. Gonadotropin suppression with oral contraceptives before in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 1990; 53: 282.
64. Cedrin-Durnerin I, Bulwa S, Herve F, et al. The hormonal flare-up following gonadotropin-releasing hormone agonist administration is influenced by a progestogen pretreatment. *Hum Reprod*, 1996; 11: 1859.
65. Matikainen T, Ding YQ, Vergara M, et al. Differing responses of plasma bioactive and immunoreactive follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone to gonadotropin-releasing hormone antagonist and agonist treatments in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 1992; 75: 820.
66. Olivennes F, Cunha-Filho JS, Fanchin R, et al. The use of GnRH antagonists in ovarian stimulation. *Hum Reprod Update*, 2002; 8: 279.

67. Albano C, Felberbaum RE, Smits J, et al. Ovarian stimulation with hMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)- antagonist cetrorelix and the LHRH-agonist buserelin. European Cetrorelix Study Group, Hum Reprod, 2000; 15: 526.
68. 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.
69. Olivennes F, Fanchin R, Bouchard P, et al. Scheduled administration of a gonadotrophin-releasing hormone antagonist (Cetrorelix) on day 8 of in-vitro fertilization cycles: A pilot study. Hum Reprod, 1995; 10: 1382–1386.
70. Ludwig M, Katalinic A, Banz C, et al. Tailoring the GnRH antagonist cetrorelix acetate to individual patients' needs in ovarian stimulation for IVF: Results of a prospective, randomized study. Hum Reprod, 2002; 17: 2842–2845.
71. Edwards RG. Maturation in vitro of human ovarian oocytes. Lancet, 1965; 2: 926.
72. Lopata A, Johnston IW, Leeton JF, et al. Collection of human oocytes at laparoscopy and laparotomy. Fertil Steril, 1974; 25: 1030.
73. Lenz S, Lauritsen JG, Kjellow M. Collection of human oocytes for in vitro fertilization by ultrasonically guided puncture. Lancet. 1981; 1: 1163.
74. Awonuga A, Waterstone J, Ovensanya O, et al. A prospective randomized study comparing needles of different diameters for transvaginal ultrasound-directed follicle aspiration. Fertil Steril, 1996; 65: 109.
75. El-Shawarby S, Margara R, Trew G. A review of complications for following transvaginal oocyte retrieval for in vitro fertilization. Hum Fertil (Camb), 2004; 7: 127.
76. Van Os HC, Roozenburg BJ, Janssen-Caspers HA, et al. Vaginal disinfection with povidon iodine and the outcome of in-vitro fertilization. Hum Reprod, 1992; 7: 349.
77. Chian RC, Buckett WM, Tulandi T et al. Prospective randomized study of human chorionic gonadotropin priming before immature oocyte retrieval from unstimulate human with polycystic ovarian syndrome. Hum Reprod, 2000; 15:165-170.
78. Iritani A. Micromanipulation of gametes for in vitro assisted fertilization. Mol Reprod Dev. 1991; 28(2):199-207.

79. Nagy ZP, Liu J, Joris H, et al. The influence of the site of sperm deposition and mode of oolemma breakage at intracytoplasmic sperm injection on fertilization and embryo development rates. *Hum Reprod.* 1995; 10(12):3171-3177.
80. Nagy ZP, Liu J, Joris H, et al. Time-course of oocyte activation, pronucleus formation and cleavage in human oocytes fertilized by intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1994; 9(9): 1743-1748.
81. Braude P, Bolton V, Moore S. Human gene expression first occurs between the four- and eight-cell stages of preimplantation development. *Nature.* 1988; 332(6163): 459-461.
82. Menezo L, Anker D, Salat-Baroux J, et al. Conception and realization of artificial dried embryo for training in IVF. *Acta Eur Fertil*, 1985;16:1.
83. Menezo L, Anker D, Salat-Baroux J, et al. Conception and realization of artificial dried embryo for training in IVF. *Acta Eur Fertil*, 1985;16:1.
84. Mansour RT, Aboulghar MA, Serour GI, et al. Dummy embryo transfer using methylene blue dye. *Hum Reprod*, 1994;9:1257.
85. Waterstone J, Curson R, Parsono J. Embryo transfer to low uterine cavity. *Lancet*, 1991; 337:1413.
86. Frankfurter D, Trimarchi JB, Silva CP, et al. Middle to lower uterine segment embryo transfer improves implantation and pregnancy rates compared with fundal embryo transfer. *Fertil Steril*, 2004; 5:1273.
87. Abou-Setta AM, Al-Inany HG, Mansour RT, et al. Soft vs firm embryo transfer catheters for assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*, 2005; 11:3114.
88. Schoolcraft WB, Surrey Es, Gardner Dk, et al. Embryo transfer: techniques and variables affecting success. *Fertil Steril*, 2001; 5 : 863.
89. Garcia J. Conceptus transfer. In: Jones G, Hodgen G, Rosen-Waks Z eds. *In Vitro Fertilization*. Norfolk, Baltimore: Williams and Wilkins, 1986:215.
90. Egbase PE, Al-Sharhan M, Al-Othman S, et al. Incidence of microbial growth from the tip of the embryo transfer catheter after embryo transfer in relation to clinical pregnancy rate following in-vitro fertilization and embryo transfer. *Hum Reprod*, 1996; 11:1687.
91. Glass KB, Green CA, Fluker MR, et al. Multicenter randomized trial of cervical irrigation at the time of embryo transfer. *Fertil Steril*, 2000; 74:31.

92. Krempfle E, Zegermacher G, Eichler C, et al. Air in the uterine cavity after embryo transfer. *Fertil Steril*, 1995; 2:366.
93. Ebner T, Yaman C, Moser M, et al. The ineffective loading process of the embryo transfer catheter alters implantation and pregnancy rates. *Fertil Steril*, 2001; 3:630.
94. Abate V, De Corato R, Cali A, et al. Endometrial biopsy at the time of embryo transfer: correlation of histological diagnosis with therapy and pregnancy rate. *J In Vitro Fert Trans*, 1987;4:173-176.
95. Bonhoff A, Naether O, Johannisson E, et al. Morphometric characteristics of endometrial biopsies after different types of ovarian stimulation for infertility treatment. *Fertil Steril*, 1993;59: 560-566.
96. Macrow PJ, Li TC, Seif MW, et al. Endometrial structure after superovulation: a prospective controlled study. *Fertil Steril*, 1994;61:696-699.
97. Noyes RW, Herting AI, Rock J. Dating the endometrial biopsy. *Fertil Steril*. 1950; 1: 3-25.
98. Zhu Lj, Cullinan-Bove K, Polihronis M, et al. Calcitonin is a progesterone-regulated marker that forecasts the receptive state of endometrium during implantation. *Endocrinology*. 1998; 139: 3923-3924.
99. Wang J, Rout UK, Bagchi IC, et al. Expression of calcitonin receptors in Mouse preimplantation embryos and their function in the regulation of blastocyst differentiation by calcitonin. *Development*. 1998; 125: 4293-4302.
100. Lessey BA, Ilesanmi AO, Sun J, et al. Luminal and glandular endometrial epithelium express integrins differentially throughout the menstrual cycle: implications for implantation, contraception and infertility. *Am J Reprod Immunol*. 1996; 35: 195-204.
101. Illera MJ, Cullian E, Gui Y, et al. Blockade of the avb3 integrin adversely affects implantation in the Mouse. *Biol Reprod*. 2000; 62:1285-1290.
102. Apparao KBC, Murray MJ, Fritz MA, et al. Osteopontin and its receptor avb3 integrin are coexpressed in the human endometrium during the menstrual cycle but regulated differentially. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86: 4991-5000.
103. Taylor HS, Igarashi P, Olive DL, et al. Sex steroids mediate HOXA11 expression in the human peri-implantation endometrium. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999; 84: 1129-1135.

104. Dickey RP, Olar TT, Curole DN. Endometrial pattern and thickness associated with pregnancy outcome after assisted reproduction Technologies. *Hum Reprod*, 1992;7:418-421.
105. Abdalla HI, Brooks AA, Johnson MR. Endometrial thickness: a predictor of implantation in ovum recipients? *Hum Reprod*, 1992;7:677-680.
106. Noyes N, Iiu HC, Sultan K. Endometrial thickness appears to be a significant factor in embryo implantation in in vitro fertilization. *Hum Reprod*, 1995;10:919-922.
107. Graf MJ, Reyniak JV, Battle-Mutter P. Histologic evaluation of the luteal phase in women following follicle aspiration for oocyte retrieval. *Fertil Steril*, 1988;49:616-619.
108. Chien LW, Au HK, Xiao J. Fluid accumulation within the uterine cavity reduces pregnancy rates in women undergoing IVF. *Hum Reprod*, 2002;17:351-356.
109. Smith B, Porter R, Ahuja K, et al. Ultrasonic assessment of endometrial changes in stimulated cycles in an in vitro fertilization and embryo transfer program. *J In Vitro Fert Embryo Transf*, 1984;1(4):233-288.
110. Gonen Y, Casper RF. Prediction of implantation by the sonographic appearance of the endometrium during controlled ovarian stimulation for in vitro fertilization (IVF). *J In Vitro Fert Embryo Transf*, 1990;7(3):146-152.
111. Sher G, Herbert C, Maassarani G, et al. Assessment of the late proliferative phase endometrium by ultrasonography in patients undergoing in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET). *Hum Reprod*, 1991;6(2):232-237.
112. Killick SR. Ultrasound and the receptivity of the endometrium. *Reprod Biomed Online*, 2007 ;15:63-67.
113. Cohen BM, Berry L, Roethemeyer V, et al. Sonographic assessment of late proliferative phase endometrium during ovulation induction. *J Reprod Med*, 1992;37:685-690.
114. Fanchin R, Righini E, Ayoubi JM, et al. New look at endometrial echogenicity: objective computer-assisted measurements predict endometrial receptivity in in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril*, 2000;74:274-281.

115. Raga F, Bonilla-Musoles F, Casan EM, et al. Assessment of endometrial volume by three-dimensional ultrasound prior to embryo transfer: clues to endometrial receptivity. *Hum Reprod*, 1999;14:2851-2854.
116. Alcazar JL. Three-dimensional ultrasound assessment of endometrial receptivity: a review. *Reprod Biol Endocrinol*, 2006;4:56.
117. Merce' LT, Barco MJ, Bau S, et al. Are endometrial parameters by three-dimensional ultrasound and power Doppler angiography related to in vitro fertilization/embryo transfer outcome? *Fertil Steril*, 2008;89:111-117.
118. Lesny P, Killick SR, Tetlow RL, et al. Uterine junctional zone contractions during assisted reproduction cycles. *Hum Reprod Update*, 1998;4:440-445.
119. Abramowicz JS, Archer DF. Uterine endometrial peristalsis: a transvaginal ultrasound study. *Fertil Steril*, 1990;54:451-454.
120. Lesny P, Killick SR. The junctional zone of the uterus and its contractions. *Br J Obstet Gynaecol*, 2004;111:1182-1189.
121. Goswamy RK, Williams G, Steptoe PE. Decreased uterine perfusion: a cause of infertility. *Hum Reprod*. 1988;3:955-959.
122. Zaidi J, Pittrof R, Shaker A, et al. Assessment of uterine artery blood flow on the day of human chorionic gonadotropin administration by transvaginal Doppler ultrasound in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril*. 1996;65:377-381.
123. Coulam CB, Bustillo M, Soenksen DM, et al. Ultrasonographic predictors of implantation after assisted reproduction. *Fertil Steril*. 1994;62:1004-1010.
124. Chien LW, Au HK, Chen PL, et al. Assessment of uterine receptivity by endometrial-subendometrial blood flow distribution pattern in women undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril*. 2002;78:245-251.
125. Serafini P, Batzofin J, Nelson J, et al. Sonographic uterine predictors of pregnancy in women undergoing ovulation induction for assisted reproductive treatments. *Fertil Steril*. 1994;62:815-822.
126. Dickey RP. Doppler ultrasound investigation of uterine and ovarian blood flow in infertility and early pregnancy. *Hum Reprod Update*. 1997;3:467-503.
127. Centers for disease control and prevention, ART success rates database.
128. Leridon H. *Human Fertility*. Chicago: University of Chicago Press, 1977.

129. Sherman MI, Wudl LR. The implanting Mouse blastocyst. *Cell Surf Rev.*1976; 1:81-125.
130. Speirs AL, Lopata A, Gronow MJ, et al. Analysis of the benefits and risks of multiple embryo transfer. *Fertil Steril.* 1983; 39:468-471.
131. Wilcox AJ, Baird DD, Weinberg CR. Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy. *NEJM.* 1999; 340: 1796-1799.
132. Dukic V, Hogan JW. A hierarchical Bayesian approach to modeling embryo implantation following in vitro fertilization. *Biostatistics.* 2002;3:361-377.
133. Ng EH, Chan CC, Tang OS, et al. Changes in endometrial and subendometrial blood flow in IVF. *Reprod Biomed Online.* 2009; 18(2):269-275.
134. Ng EH, Chan CC, Tang OS, et al. The role of endometrial and subendometrial blood flow measured by three-dimensional power Doppler ultrasound in the prediction of pregnancy during IVF treatment. *Human Reprod.* 2006; 21 (1): 164-170.
135. Friedler S, Schenker JG, Herman A. The role of ultrasonography in the evaluation of endometrial receptivity following assisted reproductive treatments: a critical review. *Hum Reprod Update.* 1996; 68: 935-937.
136. Cacciatore B, Simbetg N, Fusaro P. Transvaginal Doppler study of uterine artery blood flow in in vitro fertilization-embryo transfer cycles. *Fertil Steril.* 1996; 66:130-134.
137. Ynag JH, Wu MY, Chen CD. Association of endometrial blood flow as determined by a modified colour Doppler technique with subsequent outcome of in vitro fertilization. *Hum Reprod.* 1999; 14:1606-1610.
138. Schild RL, Knobloch C, Dorn C. Endometrial receptivity in an in vitro fertilization program as assessed by spiral artery blood flow, endometrial thickness, endometrial volume and uterine artery blood flow. *Fertil Steril.* 2001;75:361-366.
139. Zaidi J, Campbell S, Pittrof R. Endometrial thickness, morphology, vascular penetration and velocimetry in predicting implantation in an in vitro fertilization program. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1995;6: 191-198.
140. Yaman C, Jesacher K, Pölz W. Accuracy of three-dimensional transvaginal ultra-sound in uterus volume measurements; comparison with two-dimensional ultra-sound. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29: 1681-4.

141. Berg S, Torp H, Blaas HG. Accuracy of in-vitro volume estimation of small structures using three-dimensional ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 2000; 3: 425-432.
142. Farrell T, Leslie JR, Chien PF, Agustsson P. The reliability and validity of three dimensional ultrasound volumetric measurements using an in vitro balloon and in vivo uterine model. *BJOG* 2001; 108: 573-582.
143. Polanski LT, Baumgarten MN, Brosens J. Endometrial spatio-temporal image correlation (STIC) and prediction of outcome following assisted reproductive treatment. *Eur Jour Obstet Gynecol Reprod Biology*. 2016; 203:320–325.
144. Tianjie Zhang, Yaqiong He, Yuan Wang. The role of three-dimensional power Doppler ultrasound parameters measured on hCG day in the prediction of pregnancy during in vitro fertilization treatment. *Eur Jour Obstet Gynecol Reprod Biology*. 2016; 203: 66-71.
145. Jung Bin Son, Ju Eun Jeong, Jong Kil Joo, et al. Measurement of endometrial and uterine vascularity by transvaginal ultrasonography in predicting pregnancy outcome during frozen–thawed embryo transfer cycles. *J. Obstet. Gynaecol*. 2014; 40 (6): 1661–1667.
146. Merce LT, Barco MJ, Bau S, et al. Are endometrial parameters by three-dimensional ultrasound and power Doppler angiography related to in vitro fertilization/embryo transfer outcome?. *Fertil Steril* 2008; 89: 111–117.
147. Ng EH, Chan CC, Tang OS, et al. The role of endometrial blood flow measured by three-dimensional power Doppler ultrasound in the prediction of pregnancy during in vitro fertilization treatment. *Eur Jour Obstet Gynecol Reprod Biology*. 2007; 135:8-16.
148. Kim A, Jung H, Choi WJ. Detection of endometrial and subendometrial vasculature on the day of embryo transfer and prediction of pregnancy during fresh in vitro fertilization cycles. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2014;53(3):360-365.
149. Mishra VV, Agarwal R, Sharma U, et al. Endometrial and Subendometrial Vascularity by Three-Dimensional (3D) Power Doppler and Its Correlation with Pregnancy Outcome in Frozen Embryo Transfer (FET) Cycles. *The Jour of Obstet and Gynecol of India*. 2016; 66(1):521–527.

150. Raine-Fenning NJ, Campbell BK, Kendall NR, Clewes JS and Johnson IR. Quantifying the changes in endometrial vascularity throughout the normal menstrual cycle with three-dimensional power Doppler angiography. *Hum Reprod* 2004; 19: 330–338.
151. Zaidi J. Blood flow changes in the ovarian and uterine arteries in women with normal and polycystic ovaries. *Hum Fertil*. 2000; 3: 194-198.
152. El-Mazny A, Abou-Salem N, ElShenoufy H. Doppler study of uterine hemodynamics in women with unexplained infertility. *Europ J Obs Gynecol Reprod Biol*. 2013; 171: 84-87.
153. Chen M, He y, Zhang P. Comparison of Uterine Receptivity between Fertile and Unexplained Infertile Women by Assessment of Endometrial and Subendometrial Perfusion Using Contrast-Enhanced Ultrasound: Which Index is Better—Peak Intensity or Area under the Curve? *Ultras Med Biol*. 2016; 42(3): 654-663.
154. Raine-Fenning NJ, Campbell BK, Kendall NR, Clewes JS and Johnson IR. Endometrial and subendometrial perfusion are impaired in women with unexplained subfertility. *Hum Reprod* 2004; 19: 2605–2614.
155. Wu HM, Chiang CH, Huang HY, et al. Detection of the subendometrial vascularization flow index by three-dimensional ultrasound may be useful for predicting the pregnancy rate for patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *FertilSteril*. 2003; 79: 507–11.
156. Schild RL, Knoblock C, Dorn C, Fimmers R, et al. Endometrial receptivity in an in vitro fertilization program as assessed by spiral artery blood flow, endometrial thickness, endometrial volume, and uterine artery blood flow. *Fertil Steril*. 2001; 75 :361–366.
157. Wang J, Xia F, Zhou Y, et al. Association Between Endometrial/Subendometrial Vasculature and Embryo Transfer Outcome: A Meta-analysis and Subgroup Analysis. *J Ultrasound Med.*: 2017 Jul 17. doi: 10.1002/jum.14319.