



**T.C.  
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

**FOLİKÜL STİMÜLE EDİCİ HORMON RESEPTÖRÜ  
(FSHR) GENİNDEKİ POLİMORFİZMLER İLE  
KONTROLLÜ OVARYEN HİPERSTİMÜLASYONU  
CEVABI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI**

**AŞİNA BAYRAM**

**DANIŞMAN  
DOÇ.DR.RUKSET ATTAR**

**MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI  
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI**

**İSTANBUL-2015**

### TEZ ONAYI FORMU

**Kurum** : Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
**Program** : Moleküler Tıp Yüksek Lisans Programı  
**Tez Başlığı** :Folikül Stimüle Edici Hormon Reseptörü (FSHR) Genindeki Polimorfizmler ile Kontrollü Ovaryen Hiperstimülasyonu Cevabı Arasındaki İlişkinin Araştırılması  
**Tez Sahibi** : Aşina Bayram  
**Sınav Tarihi** : 28.5.2015

Bu çalışma jürimiz tarafından kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı:** Prof. Dr. Turgay İsbir  
 Yeditepe Üniversitesi



**Tez danışmanı:** Doç. Dr. Rukset Attar  
 Yeditepe Üniversitesi



**Üye:** Prof.Dr. Bedia Çakmakoglu  
 İstanbul Üniversitesi

### ONAY

Bu tez Yeditepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun 01/06/2015 tarih ve 15/1 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Bayram YILMAZ  
 Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

AŞİNA BAYRAM



## İTHAF

**Değerli Eşim Abdullah Bayram'a,  
Kıymetli Aile Fertlerim Hanife, Özden Çalışkan'a  
ve Mücella, Hüseyin Bayram'a, Pek Saygıdeğer Büyüğüm  
Prof.Dr. Turgay İsbir'e ve değerli tez danışmanım Doç.Dr.Rukset Attar'a  
ithaf ediyorum.**

## TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi ve Yeditepe Üniversitesi Moleküler Tıp Anabilim Dalı kurucusu, yüksek lisans eğitimim süresince yardım ve desteklerini esirgemeyen, saygıdeğer büyüğüm ve hocam Prof.Dr.Turgay İSBİR'e,

Tezime ilgili araştırma ve yazım sürecinde benden desteğini esirgemeyen Yeditepe Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr. Rukset Attar'a,

Tez çalışmamın gerçekleşmesi için gerekli hasta grubunun oluşturulmasında büyük yardımları dokunan Fulya Bahçeci Tüp Bebek Merkezinden Prof.Dr.Mustafa Bahçeci ve iş hayatımda bana sonsuz yardımcı dokunan değerli meslektaşım Oya Şahin'e,

Tez çalışmam boyunca desteklerini ve deneyimlerini esirgemeyen sevgili çalışma arkadaşlarıma,

Ayrıca bu çalışmaya katılmayı kabul etmiş olan tüm Tüp Bebek hastalarına ve ailelerine,

Son olarak da tüm hayatım boyunca beni hep destekleyen biricik eşime ve kıymetli aileme, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER .....	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....	X
ÖZET .....	Xİ
ABSTRACT.....	Xİİ
ZUSAMMENFASSUNG / RESUME.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. İnfertil çiftin değerlendirilmesi: .....	2
2.2. Over rezervinin değerlendirilmesi: .....	7
2.3. Kadın üreme endokrinolojisi: .....	9
2.4. Kontrollü Ovaryen Hiperstimülasyonu (KOH) .....	15
2.4.1. GnRH agonistleri: .....	16
2.4.2. GnRH antagonistleri: .....	18
2.5. Folikül Stimüle edici hormon FSH ve reseptörü .....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. Seçilen Örneklerin Tanımı: .....	27
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler: .....	27
3.3. Kullanılan Gereçler: .....	27
3.4. Yöntemler .....	28
3.4.1. Kandan Genomik DNA Elde edilme Protokolü.....	28
3.4.2. Elde edilen DNA'nın Konsantrasyon ve Kalitesinin Belirlenmesi.....	28
3.4.3. PZR Yöntemi ile Gen Bölgesinin Çoğaltılması ve RFLP Yöntemiyle polimorfizm Analizi:.....	29
3.4.4. FSH reseptör gen bölgesinin PZR Yöntemi ile Çoğaltılması: .....	29

4. BULGULAR.....	34
5. TARTIŞMA.....	38
KAYNAKLAR .....	48
FORMLAR .....	54
ETİK KURUL KARARI .....	56
PATENT HAKKI İZİNİ .....	58
TELİF HAKKI İZİNİ.....	59
ÖZGEÇMİŞ .....	60



**TABLULAR LİSTESİ**

Tablo 3.1 PZR şartları.....	23
Tablo 3.2 BseNI Enzimi için kesim protokolü.....	24
Tablo 4.1: Hastalara ait demografik ve klinik parametreler.....	26
Tablo 4.2: Genotip Dağılımları.....	27
Tablo 4.3: Genotip dağılımlarına göre FSH, Oosit ve Olgun oosit düzeyleri arasında ilişkinin gösterilmesi.....	27
Tablo 4.4: Allel dağılımlarına göre FSH, Oosit ve Olgun oosit düzeyleri arasında ilişkinin gösterilmesi.....	28
Tablo 4.5: Yaş grubuna göre FSH, Oosit ve Olgun oosit düzeyleri arasında ilişkinin gösterilmesi.....	28
Tablo 4.6: Genotip dağılımına bağlı tedaviye zayıf yanıt veren ve iyi yanıt veren hastaların karşılaştırılması.....	28



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1 Folikül Sayısının yaşla beraber azalması.....	2
Şekil 2.2 İnfertilite sebepleri.....	3
Şekil 2.3 Üremenin endokrinal kontrol şeması.....	9
Şekil 2.4 Menstrüel siklusta hormon değerlerinin grafiği.....	10
Şekil 2.5 İki Hücre- İki Gonadotropin teorisi.....	11
Şekil 2.6 Foliküler gelişim.....	12
Şekil 2.7 Gonadotropin ailesinin $\alpha$ ve $\beta$ subünitelerinin şematik prezentasyonu.....	16
Şekil 2.8 FSH reseptörü ve sinyal yolağı.....	17
Şekil 2.9 FSHR geninde aktive edici mutasyon örneği.....	18
Şekil 2.10 FSHR geninin şeması ve SNP'lerin gen üzerindeki dağılımı.....	19
Şekil 3.1 Enzim Kesimi.....	25

**SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ**

AMH; Anti Mullerian Hormon

E2; Estradiol

FSH; Folikül stimüle edici hormon

FSHR; Folikül stimüle edici hormon reseptörü

GnRH; Gonadotropin serbestleştirici hormon

HCG; Human chorionic gonadotropin

ICSI; Intrastoplazmik Sperm enjeksiyonu

hMG; Human menopozal gonadotropin

HSG; Histerosalpingografi

IVF; In vitro fertilizasyon

KOH; Kontrollü Ovaryen Hiperstimülasyonu

LH; Luteinize edici hormon

MII; Metafaz 2 evresinde bulunan oosit

PKOS; Polikistik over sendromu

RFLP; Restriction Fragment Length polymorphism

TVUSG; Transvajinal ultrasonografi

TMD; Transmembrane domain

USG; Ultrasonografi

WHO; Dünya Sağlık Örgütü

YÜT; Yardımla üreme teknikleri

## ÖZET

Bayram, A. (2015).Folikül stimüle edici hormon reseptörü (FSHR) genindeki polimorfizmler ile kontrollü ovaryen hiperstimülasyonu cevabı arasındaki ilişkinin belirlenmesi. Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Folikül Stimüle edici hormon reseptörü (FSHR) genindeki polimorfizmler ile Kontrollü Ovaryen Hiperstimülasyonu cevabı arasındaki ilişkinin belirlenmesi

Kısırlık tedavisi süresince ekzojen gonadotropinlerin kullanımıyla ovaryen stimülasyonu önemli bir basamaktır. FSH, insan üremesinde çok önemli rolü olan glikoprotein bir hormondur. Gonatların gelişiminde ve yumurtalıktaki foliküllerin olgunlaşmasında FSH reseptörüne bağlanarak görev yapar. FSH reseptörü granuloza hücreleri üzerinde olup adenilat siklas aktivasyonu ve intraselüler cAMP seviyesinin artırılmasıyla işlev gören G-coupled bir proteindir. Şimdiye kadar FSHR geninde bir çok alelik değişken tanımlanmıştır. Bu çalışmanın amacı, FSH reseptör genotipleriyle IVF tedavisi sonucu elde edilen metafaz-II yumurta sayısının arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır. Bu prospektif çalışmada Bahçeci Umut IVF merkezinde Mart 2013 – Mayıs 2013 tarihleri arasında IVF tedavisine başlayan 100 hasta dâhil edilmiştir. Hastaların yaş ortalaması 32,6' dır. Genomik DNA, iPrep DNA saflaştırma sistemiyle periferik kandan elde edilmiştir. Spesifik primerlerle yapılan polimeraz zincir reaksiyonundan sonra, pozisyon 680 (ekzon 10)' de bulunan Ser/Ser, Asn/Ser ve Asn/Asn genotip dağılımı RFLP ile analiz edilmiştir. Ovaryan stimülasyonunu takiben, hCG verilmesinden 36 saat sonra yumurta toplama işlemi yapılmıştır. Oosit toplanmasından 2 saat sonra, yumurtaların olgunluk durumu kontrol edilmiştir.FSH reseptöründeki p.Asn680Ser polimorfizmiyle IVF tedavisiyle elde edilen olgun oosit sayısı arasında Asn/Asn, Asn/Ser ve Ser/Ser genotiplerine sahip olgularda istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Anahtar Kelimeler : FSH reseptör geni, Polimorfizm, RFLP, KOH, Olgun Oosit sayısı

## ABSTRACT

Bayram, A. Determination of relationship between FSH receptor genotype and outcome of controlled ovarian stimulation. Yeditepe University Health Sciences Institute, Department of molecular Medicine. Master Thesis. İstanbul,2015.

Ovarian stimulation using exogenous gonadotrophins is an important step during fertility treatment. FSH is a glycoprotein hormone with a key role in human reproduction. It is essential for gonadal development and it stimulates follicular maturation in the ovaries by binding to FSH receptor (FSHR), a G-coupled protein in the granulosa cells, initiating a signal transduction involving adenylate cyclase activation and elevation of intracellular cAMP. The distribution of several allelic variants of the FSHR gene in specific populations has been described. The identification of these allelic variants has led to the investigation of their potential value as predictors of ovarian response to an exogenous stimulation IVF/ICSI protocol.

The aim of this study to investigate the association between FSH receptor genotype and the number of metaphase-II oocytes retrieved at ovum pickup during controlled ovarian stimulation for IVF/ICSI. This prospective observational study includes 100 patients undergoing stimulated IVF/ICSI cycles performed at Bahceci Umut IVF center between March 2013 and May 2013. Mean age of patient group is  $32,6 \pm$  years old. Genomic DNA was obtained from peripheral blood leukocytes utilizing iPrep DNA purification system. After polymerase chain reaction (PCR) with specific primers, restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis was carried out at position 680 (exon 10) to determine genotype distribution Ser/Ser, Asn/Ser and Asn/Asn. Following ovarian stimulation, oocyte retrieval was performed 36 hours after hCG administration. Two hours later, denudation of oocytes was performed and number of mature MII oocytes was noted. We did not find any association between FSHR receptor p.Asn680Ser polymorphism and the number of mature oocytes (MII) obtained in IVF/ICSI cycles. There is no evidence that the p.Asn680Ser FSHR genotype predicts oocyte maturity with this number of study group.

Key Words: FSHR gene, Polymorphism, RFLP, COH, Mature Oocyte

**ZUSAMMENFASSUNG / RESUME**

**Dikkat bu satırı ve aşağıdaki paragrafı daha sonra siliniz!**

Bu sayfayı koyarsanız "ÖZET" ve "ABSTRACT" sayfalarındaki ilkeler uygun olarak hazırlayın. Bu sayfayı koymazsanız başlığı tamamen bloklayarak siliniz.



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

IVF (In vitro fertilizasyon) tedavisinde uygulanan Kontrollü Ovaryen Hiperstimülasyonu (KOH) protokolleri, rahimi uyarmak için human menopozal gonadotropin (HMG), üriner yada rekombinant Folikül stimule edici hormon (FSH) gibi çeşitli gonodotropinlerin kullanılmasını esas alır (1). Gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH) agonist ve antagonistleri kullanılarak vaktinden önce ovülasyon ve lüteinizasyon olması önlenerek, yumurtalıkların daha iyi kontrol edilmesi amaçlanır.

KOH sonrası amaç olgun kalitede yeteri kadar yumurta elde edebilmektir. Yapılan çalışmalarda toplanan yumurta sayısının 8-10 arasında olması gebelik elde etme şansının arttırdığını göstermiştir (2).

Ancak KOH yapılan kadınlar arasında, klinik olarak farklı sonuçlar alındığı birçok çalışmada gösterilmiştir (3). Gonadotropinlere gösterilen bu cevaplardaki değişikliklerin tahmin edilemez oluşu, farmokogenetik çalışmaların yapılmasını tetiklemiştir (4). Uyarılmaya rahmin vereceği cevabı tahmin edebilmek ve anlamak IVF tedavisinin başarısı açısından büyük önem taşımaktadır. Yumurtalık rezervi ile ilgili bilgi elde edilebilmesi için, hastaların adetlerinin 2.veya 3. gününde estradiol (E2), Folikül stimule edici hormon (FSH) ve Anti Müllarian Hormon (AMH) değerleri kullanılmaktadır (5).

Genlerdeki polimorfizmin KOH sonucuna etkisi birçok çalışmaya konu olmakla beraber, en çok üzerinde durulan FSH hormon reseptörü olan FSH reseptör (FSHR) genindeki polimorfizmlerdir (6,7,8). Bazı FSHR genotipine sahip hastaların KOH için daha çok rekombinant FSH dozuna ihtiyaç duyduğu gösterilmiştir (9).

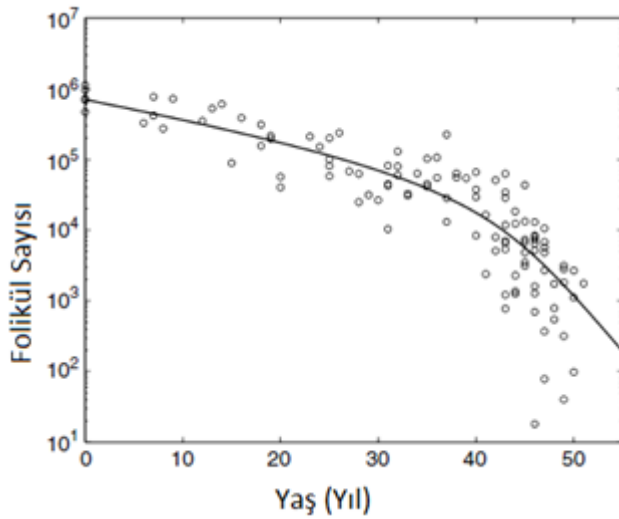
Bu çalışmamızın amacı, FSHR polimorfizminin KOH uygulanan overlerdeki cevabına etkisinin Türk popülasyonunda araştırılmasıdır. Böylece çocuk sahibi olmak için başvuran hastalara polimorfizm bakılarak şanslarına dair bilgi verebilmek , onları daha erken IVF tedavisine yönlendirmek mümkün olabilecektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İnfertilitenin Tanımı

İnfertilite, korunmasız cinsel ilişkiye rağmen bir yıl boyunca gebe kalınamaması olarak tanımlanmaktadır. Daha önce hiç gebelik oluşmamışsa, primer infertilite, canlı doğumla sonuçlansın yada sonuçlanmasın, en az bir gebelik oluşmuşsa, sekonder infertilite denir. Fekundabilite, tek menstrüel siklуста gebe kalabilme olasılığıdır. Fekundite ise tek menstrüel siklуста canlı doğum elde edebilme yeteneği olarak tanımlanmaktadır(10). Sağlıklı çiftlerde yapılan çalışmalarda ilk üç ay boyunca fekundabilite 0,25 iken, sonraki 9 ayda 0,11 olarak bulunmuştur (11). Birinci yılın sonunda sağlıklı çiftlerin %85-90 ının da gebelik gerçekleşir(12). Yani infertilite üreme yaş grubundaki çiftlerin %10-15inde görülür.

Yapılan popülasyon çalışmalarında fertilitenin yaşla beraber azaldığı gösterilmiştir (13,14).



**Şekil 2.1 Folikül Sayısının yaşla beraber azalması**

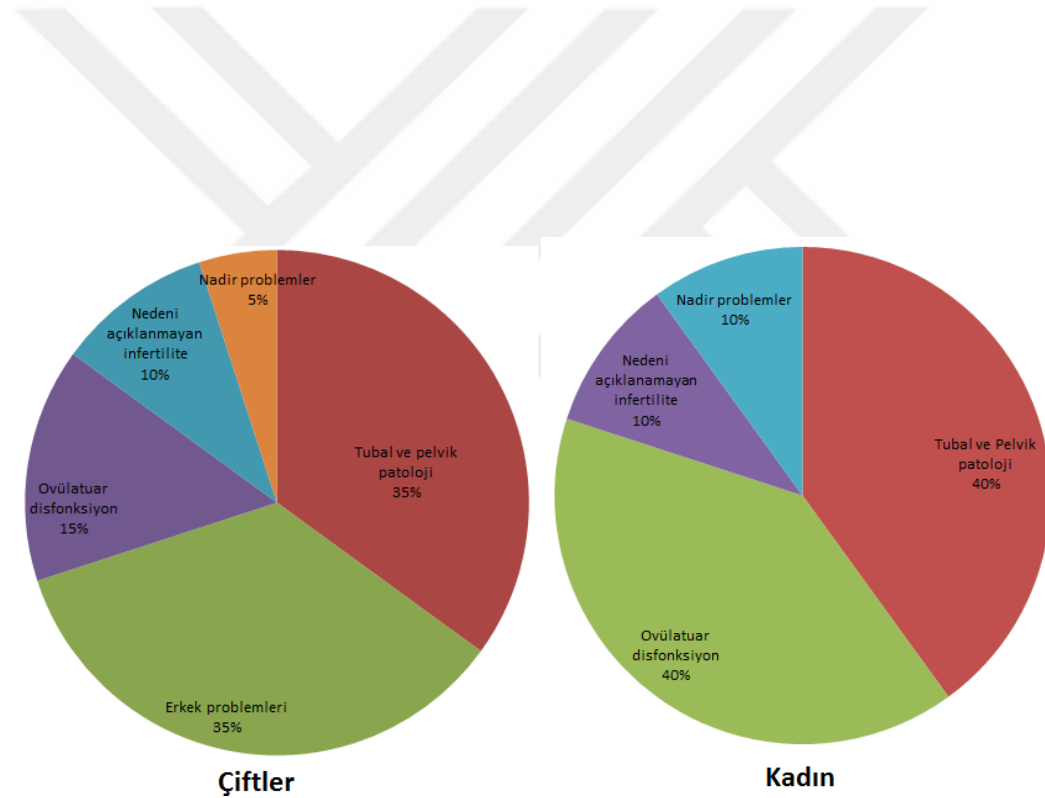
Faddy MJ , Gosden RG., A mathematical model for follicle dynamics in human ovaries . *Human Reproduction* 10 : 770 –775, 1995.

Yaş arttıkça özellikle 38 yaşından sonra, ovaryen folikül sayısında azalmayla birlikte foliküllerin gonadotropin stimülasyonuna da daha az duyarlı hale geldiği gösterilmiştir. Yaş arttıkça foliküler gelişim için gerekli total doz ve tedavi süresi artmaktadır(15,16).

IVF sikluslarında fertilize olmayan oositlerin sitogenetik analizlerinden elde edilen kanıtlar ile fertilize olmuş oositlerin preimplantasyon genetik tanı testlerinden elde edilen bulgular, artan yaşla birlikte oosit anöploid oranının da arttığını göstermektedir (17).

## 2.2. İnfertilitenin Nedenleri

İnfertilitenin en sık sebepleri arasında; ovulatuvar bozukluk (%15), tubal ve peritoneal patoloji (%30-40) ve erkek faktörleri (%30-40) bulunmakta, uterin patoloji genellikle seyrek görülmektedir. İnfertil çiftlerin %10'unda ise hiçbir neden bulunamamaktadır (Şekil 2.2). İnfertilite nedenlerinin oranları yaşla birlikte değişmektedir(18).



Şekil 2.2 İnfertilite nedenleri

## 2.3. İnfertil çiftin değerlendirilmesi



İnfertilitede araştırma dikkatli öykü alınması ve fizik muayene ile başlanmalıdır. Böylece özel bir nedeni gösterebilen semptom ve bulgular saptanmış olur ve değerlendirmede belirli bir yöne yoğunlaşılabilir(19,20).

### **2.3.1. Anamnez Alma (Hasta öyküsü)**

Anamnez alma infertil çiftlerin değerlendirilmesinde önemli bir basamaktır. Anamnez alınırken şu noktalara dikkat etmek gerekir;

#### **2.3.1.1. Yaş:**

Maternal yaş ile fertilitede azalma ve spontan abortus insidansında artma görülmektedir. KOH ile elde edilen başarı oranları, doğal fertilité oranları gibi, maternal yaş ilerledikçe azalmaktadır. Kadın yaşının her yıl artışı ile gebelik olasılığı %5 azalırken, infertilite süresinin her yılında %15-25 azalma olmaktadır (21). Erkek infertilitesinde ise 45-50 yaşından önce az yada ölçülemeyecek derecede azalma olsa dahi ,eldeki veriler yaşa bağlı fertilitedeki azalmaya, erkekle ilgili faktörlerin bir miktar etki ettiğini göstermektedir (22).

#### **2.3.1.2. İnfertilitenin süresi:**

Spontan gebeliklerin büyük bir bölümü 3 yıl içerisinde olmaktadır ve bu süreden sonra tedavisiz başarı için prognoz kötü olmaktadır (23). Bu hastalarda ureme sisteminde organik bir problem ya da germ hücrelerinde fonksiyonel bir sorun olabilir.

#### **2.3.1.3. Primer ya da sekonder olup olmadığı ve varsa önceki gebeliklere yönelik anamnez alınması:**

Daha önce ki termde gebeliği olanlarda genital organların intrauterin gelişim için yeterli olabileceğini gösterebilir. Düşük, postpartum ve postoperatif komplikasyonlar kadın fertilitésini engelleyebilir. Daha önce gebelik öyküsü olan kadınlardaki prognoz hiç gebe kalamayanlardan daha iyidir (24).

#### **2.3.1.4. Menstrasyon düzeni ve son adet tarihi:**

Hipotalamus, hipofiz, overler ve endometrium aksının düzeni hakkında bilgi verir. Normal ovülasyonu olan bayanlarda adetler genellikle düzenli, miktar ve süre

açısından sabit ve tipik olarak premenstrüel veya menstrüel semptomlarla beraberdir (25).

#### **2.3.1.5. Eşlik eden sistemik hastalıklar:**

Sistemik hastalık varlığının ve özellikle galaktore, hirsutizm gibi şikayetlerin sorgulanmasıdır. Galaktore rahatsızlığında beyindeki hipofiz bezinden süt salgılamasını uyaran "prolaktin hormonu" kontrolsüz olarak salgılanmaktadır. Galaktore olan hiperprolaktinematik kadınlarda kandaki estrojen seviyesi de düşmüştür. Bunun sonucunda hiperprolaktinemi; adet düzensizliği, adet gecikmeleri ve infertilite (kısırlık) gibi şikayetler de olabilir. Hirsutizm, androjene hassas bölgelerde kıllanma olmasıdır. Tüylenmenin en önemli nedeni kadınlarda kılların kandaki testosteron hormonuna karşı hassasiyetinin artmasından ileri gelir. Bu hormonlar, yani kılları artıran hormonlar, (testosteron) kadınlarda ya yumurtalıktan ya da böbreküstü bezinden gelir. (26,27)

#### **2.3.1.6. Sigara kullanımının sorgulanması:**

Sigara içen kadınlarda sigara içimi IVF öncesinde kesilmelidir; çünkü sigara içimi başarı şansını düşürmektedir (28).

#### **2.3.1.7. Gecirilmiş operasyon varlığı:**

Operasyon sonrası oluşabilecek adhezyonlardan enfeksiyonlara kadar geniş bir yelpaze oluşturan problemler tedavi ve sonuçlarını etkileyebilir.

#### **2.3.1.8. Daha Önceki tedavi protokollerinin sorgulanması:**

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

### **2.3.2. Fizik muayene**

#### **2.3.2.1. Sistemik muayene**

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

#### **2.3.2.2. Jinekolojik muayene**

Rutin jinekolojik muayene organik ve anatomik bazı bozuklukların saptanmasını sağlar. Servikal kateterizasyon yapılabilir. Bu muayene ile servikal osların açık olup olmadığı ve serviks-fundus mesafesi belirlenebilir. Rutin jinekolojik muayene sırasında Pap smear alınmadır. Akıntısı olan kadınlarda direkt yayma ve taze preparatlar, servikal kültür, mikoplazma kültürü, servikal klamidya antijeni bakılabilir.

Ultrasonografi ile uterus boyutu, kontur ve pozisyonu; myometrimun homojenitesi, myomatoz yapı varlığı ve bunların uterustaki yerleşimi; endometriumun kalınlığı, yapısı, siklus fazı ile uyumu, intrakaviter patoloji varlığı; overlerin ekojenitesi ve stromal yapısı, volumu, siklus donemine göre dominant folikül veya korpus luteum varlığı, over içi ya da paraoveryan solid-kistik kitle varlığı hakkında bilgi edinilir (24,29).

### **2.3.3. Laboratuvar incelemeleri**

#### **2.3.3.1. Hormonal testler:**

Folikül stimulan hormon (FSH), LH, estrodiol (E<sub>2</sub>), prolaktin, inhibin-B, serbest testosteron, 17-OH- progesteron, Dehidroepiandrosteron sülfat (DHEA-S), androstenedion

#### **2.3.3.2. Serolojik testler:**

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

#### **2.3.3.3. Hematolojik testler:**

Kan grubu ve tam kan sayımı

#### **2.3.3.4. Endometrial biyopsi:**

Luteal faz yetmezliđi dūřünölen olgularda kullanılır.

#### **2.3.3.5. Histerosalpingografi:**

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

#### **2.4. Over rezervinin değerlendirilmesi:**

Kadın infertilitesinin en sık nedeni oosit üretimindeki anomaliler olup (%27) oosit üretimi ile ilgili en sık rastlanılan durumlar anovulasyon, oligoovulasyon, over foliküllerinin yaşlanmasıdır. Over rezervi, yumurtalıklardaki primordial foliköl sayısı ve oosit kalitesi ile belirlenen üreme potansiyelini tanımlar. Over rezervinin doğumdan itibaren azaldığı ve belirli foliköl sayısına sahip kadınların, yıllar içerisinde yaşın ilerlemesiyle birlikte bu rezervi sürekli olarak yitirdiği bilinmektedir. Doğumda 1-2 milyon civarında olan primordial foliköl sayısı menarşta 250000 e dūřmekte, reproduktif yaşamın sonunda ise geride sadece birkaç yüz foliköl kalmaktadır.

Over rezervinin değerlendirilmesinde laboratuvar testleri, ultrasonografi veya Klomifen sitrat challenge testi kullanılır. Laboratuvar testleri adet kanamasının 2. ya da 3. gununde yapılır (30).

##### **2.4.1. Laboratuvar testleri**

-FSH: Yeterli olgunluğa erişmiş foliküller inhibin-B üretirler ve bu da hipofizdeki FSH salgısı için negatif geri beslemeye neden olur. Yaş ilerledikçe, azalan foliküler havuz daha az inhibin-B salgılar ve özellikle erken follüküler fazda FSH'nın kan düzeyi artar (31,32). FSH'nın 10'un üzerinde olduğu olgularda konvansiyonel ovulasyon induksiyonu ve YÜT uygulamalarında overin verdiği cevap azalmaktadır.

-E<sub>2</sub>: Erken follüküler seviyede bakılacak estradiol seviyesi yararlı bilgi sağlayabilir. 75-80pg/ml'nin üzerinde ki değerler azalmış over kapasiteli kadınlarda tipiktir. Tıpkı artmış FSH seviyesi gibi YÜT uygularında azalmış başarı oranını gösterir. Erken

dönemde artmış estrodiol seviyesi FSH'yı baskılayabileceğinden dolayı hem FSH hemde estrodiolün aynı anda bakılması daha bilgi vericidir.

-Progesteron: Bazı kliniklerde progesteron düzeyi, Klomifen sitrat challenge teste ilave edilerek 10.gün progesteron düzeyi 1.2 ng/ml ve üzerinde olan olgularda test sonucu anormal olarak değerlendirilmektedir.

-AMH: Anti-müllerian hormonunun temel görevi, erkek seksüel gelişiminde, müllerian kanllarının gerilemesini sağlamak ise de erken primordial foliküllerde granuloza hücrelerinde saptanmakta ve antral foliküllerde tepe noktaya ulaşmaktadırlar.Ayrıca AMH parakrin aktivitesi, FSH uyarımlı folikül büyümesini inhibe etmekte, dominant folikülün gelişimini sağlamaktadır.Bu aktivitelerden dolayı, AMH düzeyleri gelişen folikül sayısını göstermekte ve ovarian yaşlanma ve fertilité prognozunda ölçülebilmektedir (33).

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

#### **2.4.2. Klomifen sitrat challenge testi:**

Siklusun 5 -9. gunleri arasında 100 mg Klomifen sitrat verilir. Siklusun 3. ve 10. gunlerinde FSH ölçülür. Klomifen sitrat ile folikül gelişiminin uyarılması, buna bağlı olarak foliküllerden E2 salgılanması ve artan E2 nin ise FSH'yı baskılaması beklenir.10.gününde FSH nın bazal değerlere göre artmış olması veya E2 değerlerinde anlamlı bir yükselme olmaması olumsuz bir sonuç olarak değerlendirilir.

#### **2.4.3. GnRH Analogu stimulyasyon testi (GAST):**

Gonadotropin salgılatıcı hormon agonistleri uygulamanın ilk 4-6. Günleri arasında FSH ve LH artışına, buna bağlı olarak da E2 artışına neden olur. Bu durum "flare etki" (alevlendirici etki) olarak adlandırılır.Bu etkinin farklı hastalarda karşılaştırılması ile over rezervinin değerlendirilmesi yoluna gidilmiştir.Testte siklusun 2. Veya 3. günü GnRH analogunu uygulamasını takiben gözlenen E2 değişiklikleri değerlendirilmektedir.Uygulamadaki zorluk ve pahalı bir test olması nedeniyle pratik kullanımda yer almamıştır.

#### **2.4.4. Ekzogen FSH Ovaryen Rezerv testi (EFORT):**

Siklusun 3.günü 300IU FSH uygulanmasından 24 saat sonra, estradiol ve inhibin b seviyelerindeki değişikliğin ölçümüne dayanır.Düşük veya gecikmiş cevap, azalmış over rezervi ve YUT de kötü prognoz belirtisidir.Over rezervi değerlendirilmesinde bazal FSH ve Klomifen Sitrat Challenge Test'e göre daha güvenilir olmakla birlikte EFORT testininde aynı nedenlerle pratik uygulamada yeri yoktur (34).

#### **2.4.5. Ultrasonografik ölçümler:**

##### **2.4.5.1. Antral folikül sayısı:**

Antral folikül sayısı ile kadın yaşı, induksiyon için kullanılan toplam ilac miktarı, hCG gunu toplam E<sub>2</sub> değeri, elde edilen toplam ve metafaz II oosit sayısı ve gebelik oranları arasında istatistiksel anlamlılık saptanmıştır (35,36). Antral folikül sayısına göre yapılan derecelendirme tedavi şeması ve ilac dozları belirlemede yardımcıdır .Buna göre:

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

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

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

Grade IV overler PCO ya da PCO benzeri olup, bunlarda folikuler atrezi ya da OHSS riski yuksektir (30).

##### **2.4.5.2. Doppler USG ile over kan akımının ölçülmesi :**

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

#### **2.5. Kadın üreme endokrinolojisi:**

Hipotalamustan salgılanan nöroendokrin ajanların, büyüme hormonu üzerine, tiroid uyarıcı hormon (TSH) üzerine, adrenokortikotropik hormon (ACTH) üzerine ve tabii ki gonadotropinler üzerine indükleyici etkisi mevcuttur.Gonadotropinleri kontrol eden bu nörohormona gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH) denir.

GnRH'nun yarılanma ömrü sadece 2-4 dk'dır. Bu hızlı yıkım ve periferik dolaşımda ki dilüsyon nedeniyle portal dolaşım dışında biyolojik olarak aktif

miktarlarda GnRH bulunamaz. Deneysel çalışmalar, gonadotropinlerin normal olarak salgılanabilmesi için GnRH pulslarının belirli bir frekans ve amplitüde olması gerektiğini göstermiştir(37). GnRH 'da olduğu gibi gonadotropinler de pulsatil bir şekilde salgılanır ve bunun GnRH'nin pulsatil salınımına bağlı olduğu düşünülmektedir.

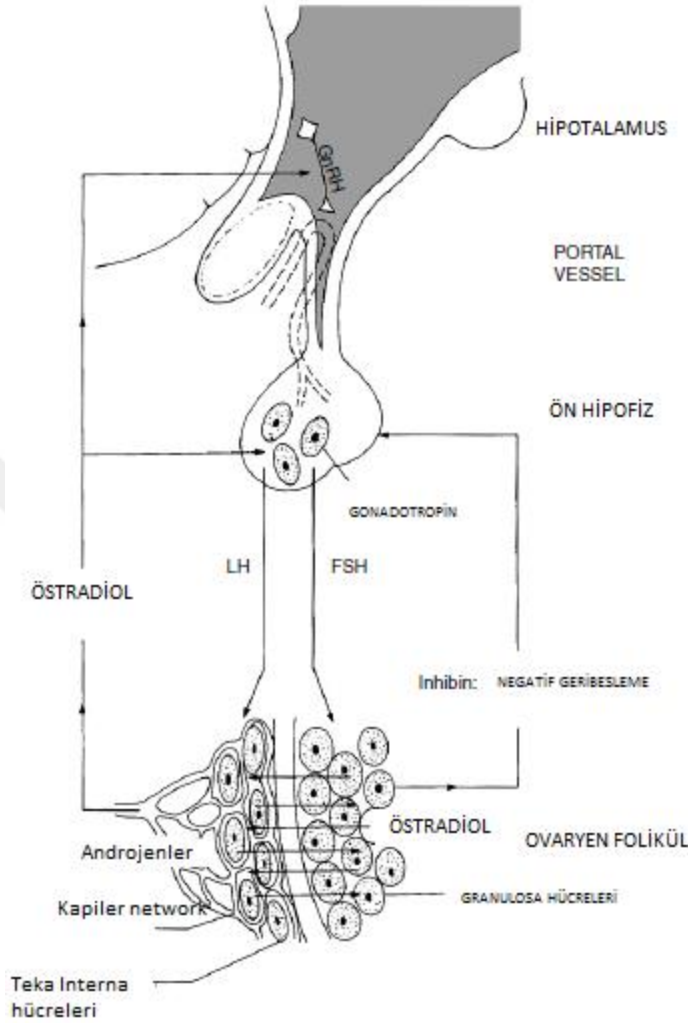
GnRH'nin hipofiz üzerinde sadece pozitif yönde etkisi vardır; sentez, depolanma ve salgılanmasını artırır. Düşük GnRh puls frekansları FSH salgılanmasını artırır ve yüksek GnRH puls frekansları LH salgısını artırır. Önceleri FSH ve LH salınımını kontrol eden iki ayrı hipotalamik hormon olduğu düşünülürken, daha sonra yapılan çalışmalar her iki hormonunda GnRH tarafından kontrol edildiğini ortaya çıkarmıştır. GnRH 10 amino asitten oluşan küçük bir peptid olup , amino asit dizilimi çeşitli memeli türlerinde değişiklik gösterir. Saf veya sentetik GnRH hem FSH, hemde LH salınımını uyarır (38).

Ovulatüer siklusta FSH hormonu; foliküllerin büyümesini, granuloza hücrelerinin üretim hızının artmasını, androjenik öncülerin aromatisasyonunu ve granuloza hücreleri üzerinde LH/hCG hormonları için reseptörlerin oluşmasını stimüle eder.

Östrojen düşük seviyelerde FSH ve LH'nin sentez ve depolanmasını artırır. LH salgılanması üzerine çok az etkisi varken, FSH salgısını baskılar. Östrojen yüksek seviyelerde, midsiklustaki LH pikinin sağlanmasından sorumludur ve bu yüksek seviyelerde devam ettiğinde LH'da yüksek kalır. Östrojenler, LH hormonunun folikül üzerindeki etkisini arttırdığı gibi hipotalamus ve hipofiz üzerinde negatif geribesleme yaparak gonadotropinlerin daha çok salgılanmasını inhibe eder (39).

Progesteron düşük seviyelerde hipofizde GnRH'ya LH yanıtını artırır. Misiklustaki FSH pikinin sağlanmasından sorumludur. Progesteron yüksek seviyelerde hipotalamusta GnRH pulsatil salınımını inhibe ederek gonadotropin salgısını azaltır. Ayrıca yüksek düzeylerde progesteron hipofizde östrojen etkisini antagonize ederek GnRH yanıtını azaltır.

Ayrıca overler tarafından salgılanan inhibin, hipofizden FSH salgılanmasını azaltır. LH teka hücrelerini uyararak, granuloza hücreleri tarafından östrojene dönüştürülecek androjenlerin salgılanmasını sağlar. LH hormonu ayrıca granuloza ve theca hücrelerinin herbirinde kolestroiden progesteron oluşmasını da stimüle eder (**Şekil 2.3**).



**Şekil 2.3 Üremenin endokrin kontrol şeması**

Johnson MH., *Essential Reproduction*, 6th edn. Blackwell Publications, Oxford, 2007.

Östrojen düşük seviyelerde FSH ve LH'nin sentez ve depolanmasını artırır. LH salgılanması üzerine çok az etkisi varken, FSH salgısını baskılar. Östrojen yüksek seviyelerde, midsiklustaki LH pikinin sağlanmasından sorumludur ve bu yüksek seviyelerde devam ettiğinde LH'da yüksek kalır. Menstrual siklustaki hormonal döngü Şekil 2.4 te gösterilmiştir.

Progesteron düşük seviyelerde hipofizde GnRH'ya LH yanıtını artırır. Midsiklustaki FSH pikinin sağlanmasından sorumludur. Progesteron yüksek seviyelerde hipotalamusta GnRH pulsatil salınımını inhibe ederek gonadotropin salgısını azaltır.



Ayrıca yüksek düzeylerde progesteron hipofizde östrojen etkisini antagonize ederek GnRH yanıtını azaltır.

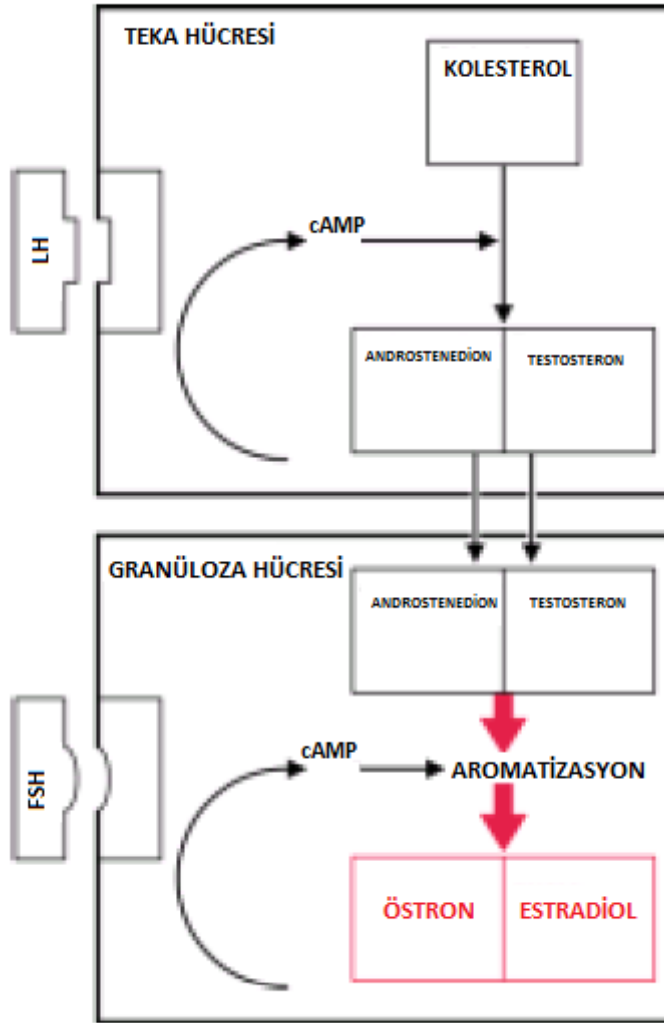
Ovulatüer siklusta , FSH hormonu; foliküllerin büyümesini, granuloza hücrelerinin üretim hızının artmasını, androjenik öncülerin aromatisasyonunu ve granuloza hücreleri üzerinde LH/hCG hormonları için reseptörlerin oluşmasını stimüle eder. Östrojenler, LH hormonunun folikül üzerindeki etkisini arttırdığı gibi hipotalamus ve hipofiz üzerinde negatif geribesleme yaparak gonadotropinlerin daha çok salgılanmasını inhibe eder (40).

Ayrıca overler tarafından salgılanan inhibin, hipofizden FSH salgılanmasını azaltır. LH , teka hücrelerini uyararak, granuloza hücreleri tarafından östrojene dönüştürülecek androjenlerin salgılanmasını sağlar. LH hormonu ayrıca granuloza ve theca hücrelerinin herbirinde kolestrolen progesteron oluşmasını da stimüle eder.

## 2.6. İki Hücre- İki Gonadotropin teorisi

İnsanlardaki preantral ve antral foliküllerde, LH reseptörleri sadece teka hücrelerinde, FSH reseptörleri de sadece granuloza hücrelerinde bulunmaktadır (40,41).

- 1- Teka interna hücrelerinin yüzeyinde LH reseptörleri ekspres edilir. LH hormonunun bu reseptörlere bağlanması cAMP üretimini sağlayan G-protein hücre sinyalizasyon yolağını başlatır. cAMP, asetat ve kolesterol öncülerinden androjen sentezini stimüle eder.
- 2- Teka hücrelerinden salınan Androstenedione, P450 aromataz tarafından Estradiol(E2) çevrildiği yer olan mural granuloza hücrelerine girer. Oluşan Estradiolün foliküler sıvıya ve kanakımına karışımı sağlanır. Bu reaksiyon FSH tarafından desteklenir.



**Şekil 2.5 İki Hücre- İki Gonadotropin teorisi**

Homburg, R, Glob. libr. women's med.,(ISSN: 1756-2228) 2014.

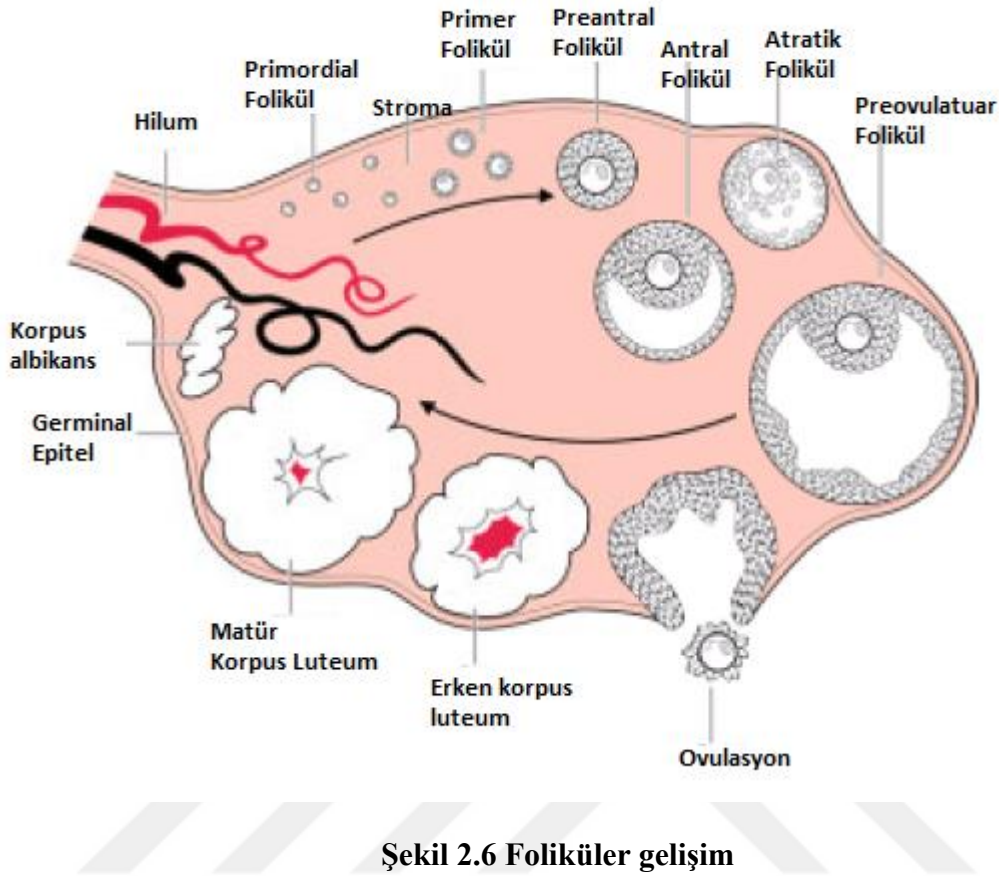
Salgılanan bu estradiol, folikül olgunlaşmasında ve foliküllerin yaşamını devam ettirmesinde rol oynar. Bu nedenle bu foliküller “Gonadotropin-bağımlı” olarak isimlendirilir.Şekil 2.5 te gösterildiği gibi steroid biyosentezi için her iki hormona, FSH ve LH a ihtiyaç duyarlar .

## 2.7. Foliküler gelişme

Foliküler faz boyunca ovulasyon için uygun sayıda folikülün hazırlanması ile sonuçlanan bir dizi olay meydana gelmektedir. İnsan overinde, bu foliküler gelişimin son aşaması (genellikle) bir olgun folikülün teşekkül etmesidir. 10-14 gün devam eden bu süreç, hormon ve otokrin/parakrin peptitlerin foliküle ardışık etkilerini saptamaktadır. Böylece ovülasyona uğrayacak olan folikül primordial folikül, preantral ve preovulatar folikül aşamalarından geçerek olgunlaşmaktadır. Preantral evrede oosit büyür ve zona pellucida adı verilen membran ile çevrilidir. Granüloza hücreleri çok katlı bir düzeni oluşturmak üzere çoğalırken, teka tabakası çevredeki stromadan farklılaşmaya devam eder. Bu evreye kadar granüloza hücrelerinde spesifik FSH reseptörleri bulunmamaktadır ve preantral foliküller kendi östrojenik mikroçevresini oluşturmak üzere sınırlı miktarda androjenleri aromatize edebilmek için FSH'nın varlığına ihtiyaç gösterirler. FSH ve östrojen, birlikte folikülün FSH reseptör içeriğini artırır ve granüloza hücrelerinin artışı uyarır.

Östrojen ve FSH'nın sinerjistik etkisi ile granülozanın interselüler boşluklarında biriken folikül sıvısının yapımı çoğalır. Folikül aşamalı olarak antral safhaya geçtikçe kavite oluşma eğilimi belirlemektedir. Folikül sıvısının birikmesi ile oosit ve onu çevreleyen granüloza hücrelerinin her folikülün spesifik endokrin ortamında beslenmesi sağlanmaktadır. Oositi çevreleyen granüloza hücreleri artık kümülüs ooforus'u oluşturmaktadır. Bu kümülüs ooforusun farklılaşması, oositten köken alan sinyallerle gerçekleşmektedir.

Östrojenin hakim olduğu foliküle başarıyla dönüşüm, ovulasyonu sağlayacak olan folikülün "seçimine" işaret etmektedir; bu aşamaları nadir istisnalar dışında sadece tek bir folikül başarmaktadır. Bir folikül kohortunun genellikle kaderi olan atreziden kurtarılmasında FSH artışı kritik bir durum yaratmakta, takiben bir dominant folikülün ovulasyon yoluna itilmesini sağlamaktadır (13,42).



Erk A. Ve Günalp S. ,Klinik Jinekolojik Endokrinoloji ve İnfertilite, Güneş Tıp Kitabevi 2007

## 2.8. Kontrollü Ovaryen Hiperstimülasyonu (KOH)

Kontrollü ovaryen hiperstimülasyonu yani kısaca ovülasyon indüksiyonu terimi aslında anovülatuvar siklusları olan kadınlarda folikül gelişiminin çeşitli ajanlar yardımı ile uyarılması ve ovülasyonun sağlanması anlamına gelmektedir. Buna karşın günümüzde ovülasyonu olan kadınlarda da folikül gelişiminin yönlendirilmesi, ovülasyonun zamanlaması ya da gametlerin buluşma olasılığının artırılması, bir yerine birkaç folikül gelişiminin sağlanması için de kullanılmaktadır(30).

Yardımla üreme tedavisinde, kontrollü ovaryen hiperstimülasyonu için, hipofizin LH ve FSH salınımını baskılamak amacıyla GnRH agonistleri kullanılır. Folikül büyümesi ve gelişimi dışarıdan verilen LH yokluğunda, saf FSH yüklenmesi ile gerçekleştirilir. Fakat hipogonadotropik hipogonadizm teşhisine sahip kadınlarda LH

yokluğunda sadece FSH yüklenmesi foliküler büyümeyi sağlamasına rağmen, gelişen oositler gelişimsel kapasiteye sahip değildir (43).

GnRH analogları 1980lerin ortalarından beri KOH protokollerinde kullanılmaktadır. Bunlar LH surge nün kontrol edilmesi ve ovulasyon zamanının ayarlanması için kullanılmaktadır. GnRH agonistlerinin kullanımı programlanmış KOH protokollerinin oluşturulması için çok etkili olmuştur. GnRH analogları peptit diziliminde eklentileri ile biyolojik yakınlıkları artırılarak, ön hipofizdeki reseptörlere bağlanarak FSH ve LH hormonlarının salınımını engellerler.

### **2.8.1. Klomifen Sitrata ile Ovülasyon İndüksiyonu:**

Klomifen sitrata hipotalamus seviyesinde estrojen reseptörlerine bağlanması sonucunda, yalancı hipoestrogenemi feed-back uyarısıyla GnRH salınımını, buna bağlı olarak gonadotropin salınımını arttırmaktadır. Bu etkisinin yanı sıra, klomifen sitratin GnRH 'ya karşı duyarlılığını arttırdığı da bilinmektedir. Klomifen sitratin normal ovülasyonu olan kadınlarda GnRH pulse frekansını arttırdığı, buna karşın anovulatuvar kadınlarda ise hem pulse frekansında hemde amplitudunda artışa sebep olduğu saptanmıştır. Bu etkileşim sonucunda FSH düzeylerinde artış izlenmekte, dolayısıyla folikül gelişimi uyarılmaktadır.

İnfertilite nedeni olarak estrojenize olup anovülasyonun belirlendiği, diğer faktörler açısından normal olarak değerlendirilen çiftlerde klomifen sitrata tercih edilebilir. Hipogonadotropik hipogonadizm (WHO-Grup-I) olgularında etkili değildir.

Ayrıca izah edilemeyen infertilite grubunda, infertilite süresi kısa ve kadın yaşı ileri olmayan çiftlerde, luteal faz yetmezliği düşünülen olgularda, düşük over rezervli olgularda gonadotropinlerle kombine edilerek de uygulanabilir. Ucuz ve kolay kullanılabilir olması en büyük avantajıdır.

### **2.8.2. Gonadotropinler ile Ovülasyon İndüksiyonu:**

Klinikte ovülasyon indüksiyonu amacıyla FSH veya FSH+LH kombinasyonu olan human menapozal gonadotropin (HMG) kullanılabilir.

Hipofizektomi yapılmış hayvanlarda LH etkisine gerek duyulmadan sadece FSH uyarısı ile folikül gelişiminin sağlandığı gösterilmiştir. Buna karşın folikül gelişiminde, özellikle oositin stoplazmik matürasyonunda LH in önemli etkisinin olduğuda bilinmektedir. LH “ İki hücre-İki gonadotropin” teorisinde önemli bir yere sahiptir. Granuloza hücrelerinin salgıladığı estrogen için substrat kaynağı olan androjenler LH etkisi ile teka hücrelerinden elde edilecektir. Bilinmektedir ki FSH folikülogenezde katılım (recruitment), seleksiyon ve dominansta rol oynarken, LH dominans, final maturasyon ve ovülasyonda önemli rol oynamaktadır. Ancak micro-ortamda, özellikle foliküler gelişimin erken döneminde LH in yüksek miktarlarda varlığı halinde , androjenik ortamın dominansı folikülerin atreziye gidişini arttırmakta ve oosit gelişimini bozabilmektedir. Dolayısıyla LH için geçerli olan bir tavan hipotezi söz konusudur. PCO olgularında, özellikle bazal LH in yüksek olarak saptandığı olgularda, indüksiyonu saf FSH preparatları ile gerçekleştirmek uygun olacaktır. Mid-foliküler fazdan itibaren granuloza hücrelerinde LH reseptörleri de oluşmaya başladıktan sonra aromataz enzimi üzerinde etkileri de dahil olmak üzere FSH in çoğu etkileri LH tarafından da gösterilebilmektedir. Aynı ortak hücre için mesajcıyı (cAMP) kullanmalarını nedeniyle mid-foliküler fazdan itibaren FSH ve LH a verilen yanıt aditif olabilmektedir. Dolayısıyla mid ve geç foliküler fazda belli bir kan düzeyi aralığında seyreden LH in oosit gelişimi üzerinde pozitif etkileri olduğu düşünülmektedir. Bu aralık ise değişik çalışmalarda 1.0 ile 6.0 UI/L olarak bildirilmiştir. Dolayısıyla ovulasyon indüksiyonunda PCO olguları haricinde HMG de kullanılabilir.(30,44)

Uzun yıllar boyunca HMG ovülasyon indüksiyonunda efektif olarak tek başına kullanılmıştır. Teorik olarak içerisinde 75IU FSH ve 75IU LH bulunması gereken bu preparatın değişik partilerde farklı oranda hormonlar içerdiği görülmüştür. Ayrıca düşük bir spesifik aktivite içermekte ve %4 civarında bir saflığa sahip olup, protein içeriğinin %3-4 ünün gonadotropin olduğu bilinmektedir. Daha sonraları folikülogenezde temel rolü oynadığı düşünülen FSH ı daha saf olarak içeren p-HMG (Purified) üriner prepatlar kullanıma girmiştir ve bunlarda %1 den daha az LH aktivitesi bulunmaktadır. Ancak protein içeriği purifiye preparatlarda da %5 oranındadır. Ardından üriner preparatların son aşaması olan yüksek oranda saflaştırılmış (Highly purified) HP-HMG preparatlar piyasaya sunulmuştur. Bu preparattaki LH oranı ise %0.1 den azdır. Ve yaklaşık %96 oranında saflık içeren protein yapısına sahip olduğundan önceki preparatların sahip olmadığı cild altı uygulama özelliğine de sahiptir.

Günümüzde tüm dünyada gonadotropin kullanımındaki artış ve gonadotropinlerin üriner kaynaktan teminindeki güçlükler nedeniyle daha farklı üretim teknikleri araştırılmış ve rekombinant teknoloji ile gonadotropin üretimine geçilmiştir.

### **2.8.2.1. GnRH agonistleri:**

Agonist bir yanıtı uyaran maddedir. Sürekli yüklenimleri LH ve FSH hormonlarının hipersekresyonuna (Flare-up) neden olur. 10 günlük bir zaman periyodundan sonra hipofiz depolarındaki gonadotropinler biter. LH ve FSH sekresyonu baskılanması için, hipofiz bezi etkisiz olmuş olur. Böylece yapay geridöndürülebilir menapoz durumu yaratılmış olunur. Farklı farklı GnRH agonist prepatları depot enjeksiyonu ( Decapeptyl, Zoladex gibi), günlük derialtı enjeksiyon (buserelin) yada günlük intranasal sniff ( Nafarelin, Synarel) şeklinde uygulanabilir (45).

### **2.8.2.2. GnRH antagonistleri:**

Antagonistik aktivite reseptöre bağlanmayı takip eder ve reseptör iletilisinin blokajı veya iletinin uyarılmasına yol açar. Hipofiz üzerindeki reseptörlere direk bağlanarak bloke olmalarını sağlarlar. Bu nedenle başlangıçta gonadotropinlerin hipersekresyonuna ihtiyaç yoktur. Günümüzde menstrüel siklusun 1 yada 2. Gününde gonadotropin yüklenmesi ile stimüle edilen foliküler büyümeden sonra LH sekresyonunun baskılanmasında bu maddelerin 3. jenerasyonu (ganirelix) kullanılmaktadır. Stimülasyonun 6.gününden itibaren yada foliküllerin büyüklüğünün 14 mm ye erişmesinden sonra antagonistler günlük derialtı enjeksiyon şeklinde uygulanır. hCG yüklenmesine kadar da devam eder (46).

Oosit toplama işlemi genellikle hCG enjeksiyonundan 36 saat sonra gerçekleştirilmektedir. Uygulanan değişik stimülasyonlara hastaların verdiği cevaplarda farklı farklı olmaktadır. Gonadotropinlere gösterilen bu cevaplardaki değişikliklerin tahmin edilemez oluşu, farmokogenetik çalışmaların yapılmasını tetiklemiştir. Stimülasyona rahmin vereceği cevabı tahmin edebilmek ve anlamak IVF tedavisinin başarısı açısından büyük önem taşımaktadır.

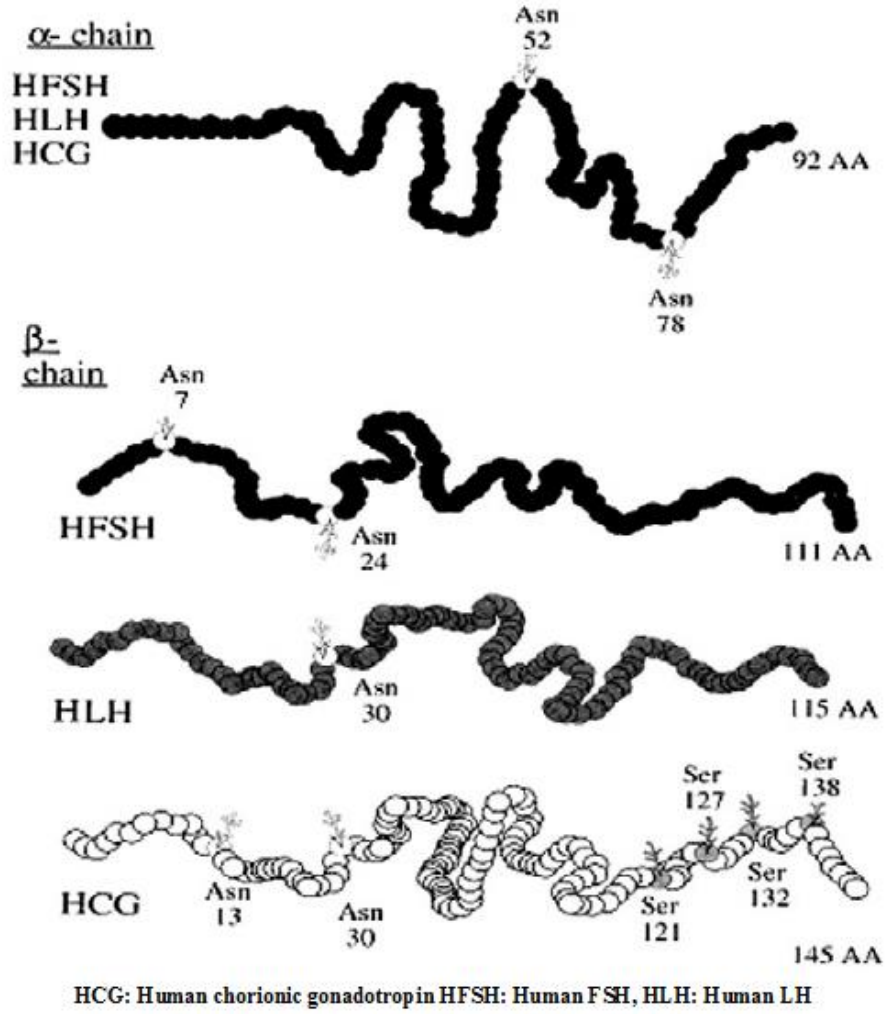
Genlerdeki polimorfizmin KOH sonucuna etkisi birçok çalışmaya konu olmakla beraber, en çok üzerinde durulan FSH hormon reseptörü olan FSHR genindeki

polimorfizmlerdir. Bazı FSHR genotipine sahip hastaların KOH için daha çok rFSH dozuna ihtiyaç duyduğu gösterilmiştir.

### 2.9. Folikül Stimüle edici hormon FSH ve reseptörü

FSH hormonu, insan üreme sistemindeki, gonat gelişimi ve gamet üretiminde merkezi öneme sahiptir. Kadın ve erkekte, hipogonadotropik hipogonadizm ile kısırlık tedavisinde kullanılmaktadır. Kısırlık tedavilerine artan talep ile birlikte üriner ve rekombinant FSH çeşitleri bulunmaktadır (47). FSH, LH ve hCG aynı alfa subünite sahip olmakla birlikte farklı reseptör-spesifik beta subüniteye sahiptirler (48). Sirküle eden FSH granuloza hücreleri üzerindeki FSH reseptörlerine etki ederek overlerdeki folikül gelişimini stimüle eder. FSH hormonu; foliküllerin büyümesini, granuloza hücrelerinin üretim hızının artmasını, androjenik öncülerin aromatzasyonunu ve dominant folikülün seçiminde rol oynar(49).FSH, büyük antral foliküllerinin granuloza hücrelerindeki LH reseptörlerinin gelişimini arttırmaktadır. Folikül büyürken östradiol salgılamayı sürdürür, böylece diğer kalan foliküller atreziye uğrar.Bu tek folikül olgunlaşarak, LH yükselmesiyle ovüle olur.





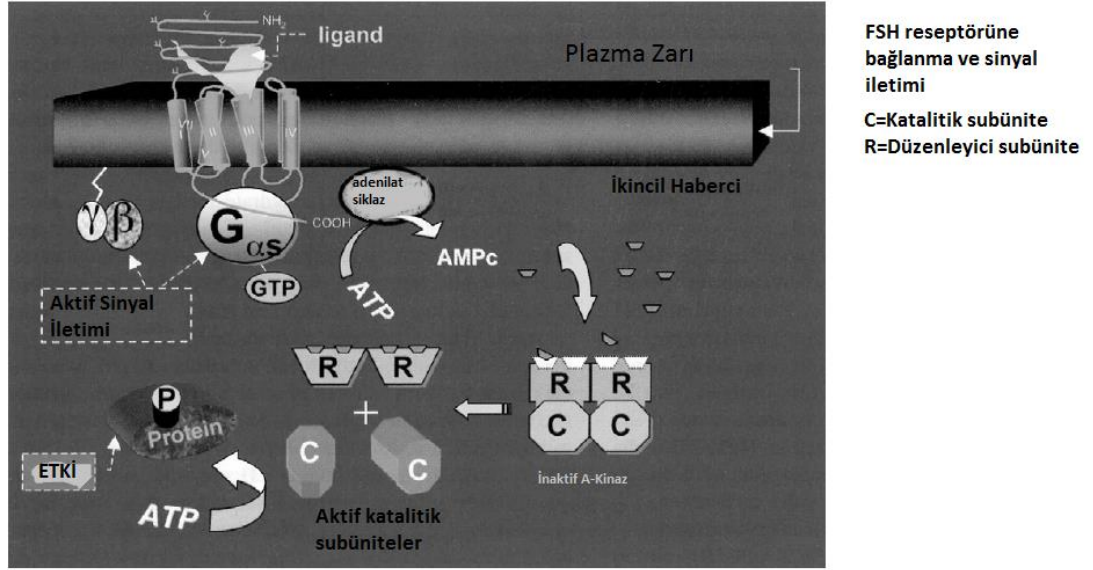
**Şekil 2.7 Gonadotropin ailesinin  $\alpha$  ve  $\beta$  subünitelerinin şematik gösterimi**

Olijve W, de Boer W, Mulders JWM., Molecular biology and biochemistry of human recombinant follicle stimulating hormone (Puregon). Molecular Human Reproduction 2, 371–382, 1996.

### 2.9.1.1. FSH reseptörü

Preantral evreye kadar granülosa hücrelerinde spesifik FSH reseptörleri bulunmamaktadır (50). FSH reseptörleri G-protein reseptör ailesine üyedir. Sinyal iletim mekanizması adenilat siklaz aktivasyonu ve hücre içi siklik adenosin monofosfat (cAMP) artışı ile olur. FSH reseptörü, LH/ hCG reseptörüne çok benzerdir, fakat yapı olarak özeldir. Uygun olarak (spesifizite için), ekstrasellüler kısım ana dizin ayrımı içermektedir. FSH reseptör geni kromozom 2p21-16'da, LH/hCG reseptör geni yakınında lokalizedir.

FSH reseptöründe sinyal iletimi Şekil 2.7'de görüldüğü gibi çoğunlukla protein kinaz yolağı ile olur (51). FSH reseptörünün uyarılması FSH'nin işlev göstermesi için gereklidir. FSH reseptörleri testislerde, yumurtalıkta ve rahimde bulunur.



**Şekil 2.8 FSH reseptörü ve sinyal yolağı**

Edwards RG, Risquez F (eds) Modern Assisted Conception. Reproductive Healthcare, Cambridge UK, pp. 66–70,2003.

FSH reseptörleri, yumurtalıklarda foliküler gelişimi ve granuloza hücrelerinin fonksiyonu için gereklidir. Erkeklerde, FSH reseptörü, spermatogenesis için kritik bir öneme sahip olan Sertoli hücreleri üzerinde de belirlenmiştir. FSH reseptörleri, rahimde luteal fazda ekspres edildikleri gibi karsinogenik tümörlerin kan damar yüzeylerinde de seçici olarak ekspres edilirler (52).

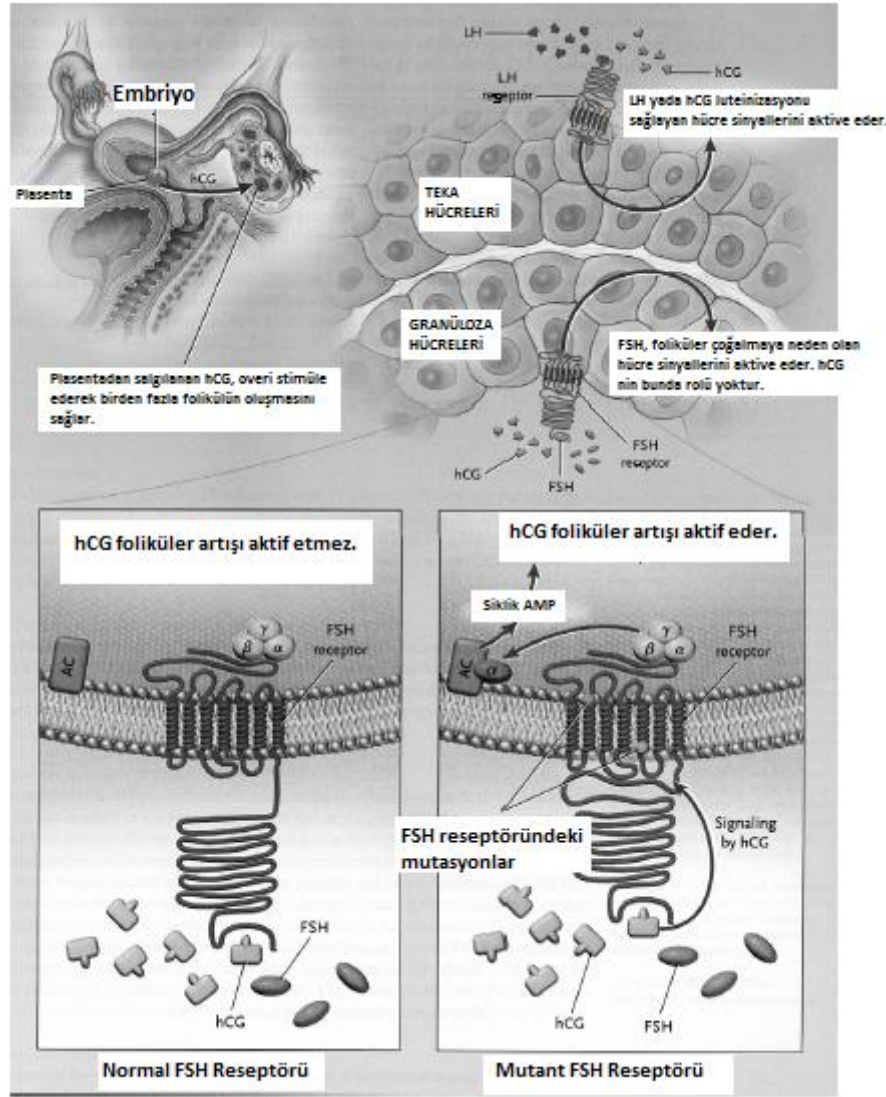
Östrojen, hücre zarı üzerinde ki FSH reseptör sayısının artmasını sağlar. FSH granuloza hücrelerini stimüle ederek östrojen salgılanmasını sağlar. Böylece FSH ve Östrojen sinerjik bir biçimde, yumurtalığıdaki foliküllerin büyümesinde rol oynar. Belli bir süre FSH a maruz kalan FSH reseptörü desensitize olur. Bu durum intracellular reseptör domaininin protein kinaz ile fosforilize olması ile gerçekleşir (53).

### 2.9.1.2. FSH reseptör geni ve Doğal Mutasyonlar

FSH reseptör geni 54kp büyüklüğünde tek-kopya bir gendir. 10 ekzon ve 9 introndan oluşmaktadır. İlk 9 ekzon hormon bağlanmasından sorumluyken, ekzon 10 sinyal iletiminden sorumludur(48).

İlk inaktivite edici mutasyon 1995 yılında primer yumurtalık yetmezliği olan Finli bir ailede tespit edilmiştir (54). Finlandiya popülasyonunda görölmesine karşın bu mutasyon diğer etnik gruplarda oldukça seyrek görölmektedir.

Doğal olarak meydana gelen aktive edici FSH reseptör mutasyonu, testosteron takviyesi ile normal spermatogenesisine sahip olan ancak serum gonadotropin seviyesi tespit edilemeyen, hipofisektomize erkekte görölüp raporlanmıştır (55) Şimdiye kadar kadınlarda raporlanan aktive edici mutasyonlara olan örnekler hep OHSS ile ilgilidir. Transmembranedomainde (TMD) meydana gelen mutasyon Thr449Ile (56) ve Thr449Ala (57) bunlara birer örnektir. İki mutasyonda heterozigot olup, reseptöre hormon bağlanma özelliğini azaltmaktadır. Ayrıca mutant reseptörler hCG ye cevap vermektedirler. Bu aktive edici mutasyon Şekil 2.9'da açıklanmıştır. Geçtiğimiz 10 yıllık sürede yapılan çalışmalar FSH reseptöründe meydana gelen mutasyonların son derece seyrek olduğunu göstermiştir.



**Şekil 2.9 FSHR geninde aktive edici mutasyon örneği**

Kaiser UB., The pathogenesis of the ovarian hyperstimulation syndrome. *New England Journal of Medicine* **349**, 729–732, 2003.

### 2.9.1.3. FSH reseptör geni ve SNP'ler

FSH reseptör geni üzerinde, çeşitli etnik gruplarda, kodlanan ve kodlanmayan bölgelerde 1300 den fazla SNP tespit edilmiştir (58) Kodlanan bölgedeki 8 polimorfizmden 6'sı asimptomatiktir. Diğer 2 polimorfizm p.Thr307Ala (rs6165) ve p.Asn680Ser (rs6166), üzerinde en çok çalışma yapılan polimorfizmlerdir. Pozisyon 307 deki polimorfizm hücre dışı domainde (ECD) iken pozisyon 680'deki polimorfizm

hücreiçi domainde (ICD) bulunmaktadır. İki polimorfizmde ekzon 10 da bulunur ve aralarında kuvvetli bir bağlantı dengesizliği bulunmaktadır (59,60).

Kodlanan bölgedeki bu iki polimorfizm dışında, 5'UTR de pozisyon -29 ve -114 de 2 polimorfizm tanımlanmıştır. Bu iki polimorfizm yakınlıklarından ötürü birbirleriyle bağlantılıdır (61).

#### **2.9.1.4. Ovaryen cevap ve FSH reseptörü ilişkisi**

FSH, foliküler büyümede önemli bir rol oynadığı için IVF protokollerinde de hem kadın hem erkek hastalar için kullanılmaktadır. IVF uygulamasında, aşağı yukarı aynı protokoller uygulanmasına rağmen, dışarıdan verilen bu FSH'a değişik hastaların yumurtalıkları değişik cevaplar vermektedir. Yumurtalığın tedaviye vereceği cevabı önceden kestirebilmek için yaş, azalmış over rezervi ve serum AMH seviyesi gibi göstergelerden yardım alınmaktadır. Yinede tedavi için uygun dozu belirlemek IVF başarısı için büyük önem taşır.

Perez-Mayorga ve arkadaşları 2000 yılında yaptıkları çalışmayla, ilk kez, FSH reseptör geninde 680 pozisyonunda (RS6166) Ser/Ser genotipine sahip bayanlarda basal FSH konsantrasyonunun daha yüksek olduğunu ve daha çok FSH yüklemesine ihtiyaçları olduğunu yayınlamışlardır(9).

In vitro yapılan, Thr307-Asn680 ve Ala307-Ser680 izoformlarının fonksiyonel analizinde, FSH bağlanması oranında ve cAMP üretiminde bir farklılık tespit edilmemiştir (62,63,64). Bu nedenle bu polimorfizmlerin, yumurtalık cevabını etkilemesindeki moleküler mekanizma hala açıkça anlaşılamamıştır.

hCG stimülasyonuna rağmen düşük östradiol üretiminin ve oldukça yüksek bazal FSH seviyesinin, değişik etnik gruplarda yapılan çalışmalarla Ser680 aleli ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (64,65,66,67).

Ancak, yukarıdaki bu çalışmalarda incelendiğinde, verilen toplam verilen FSH dozunda, gelişen folikül sayısında ve olgun yumurta sayısında, Asn/Asn ve Asn/Ser genotipli hastalar arasında herhangi bir bağlantı bulunamamıştır. De-Castro ve arkadaşlarının yaptığı 2004'teki çalışmasında Ser/Ser genotipli hastalarda tedaviye

cevap oranı düşük olmasına rağmen E2 tepe değeri, folikül sayısı, yumurta sayısı ve toplam verilen FSH dozu 680 pozisyonundaki 3 ayrı genotipli hastalarda da benzer bulunmuştur (65).

Pozisyon 307 deki polimorfizmin Hint popülasyonunda yapılan çalışmada, IVF tedavisinde hiper cevap verilmesinde etkili olduğu bulunmuştur. Ala307Ala genotipine sahip hastalarda OHSS gelişebilme riskinin daha çok olduğu iddia edilmektedir (68)

Toplanan yumurta sayısının gebelik şansını artırması ilişkisine bakılarak, bu polimorfizmlerin tedavi başarısına doğrudan etkisi olduğunu düşünülerek yapılan çalışmalarda, Ser680 aleline sahip hastaların, Asn680 aleline sahip hastalarla kıyaslandığında gebelik oranlarının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (69).

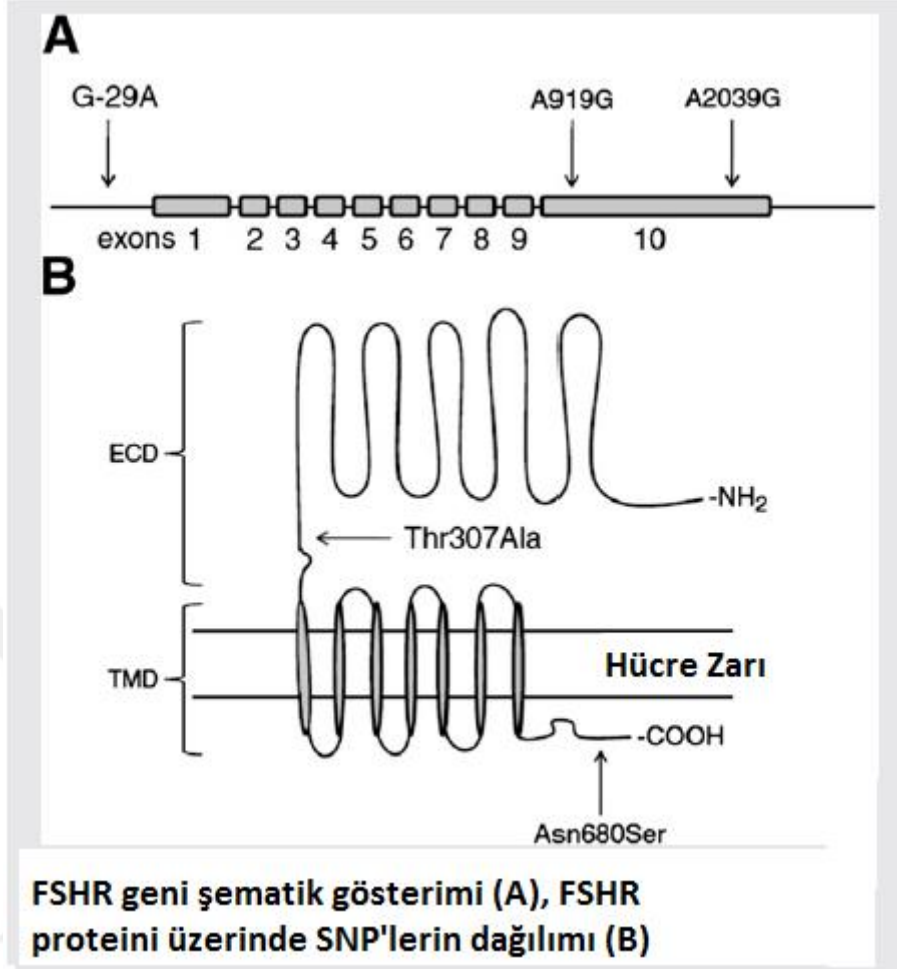
Son yıllarda yapılan meta-analizi çalışmalarında da FSH gen polimorfizminin düşük ovaryen cevabının tespit edilmesinde potansiyel bir biomarker olabileceği desteklenmiştir.(70,71,72) Bazı çalışmalarda da, değişik etnik gruplara bakıldığında bu polimorfizm ile düşük ovaryen cevap arasında bir bağlantı bulunamamıştır (69,73,74).

#### **2.9.1.5. FSH reseptör genotipinin Oosit Matürizasyonuna etkisi**

IVF tedavisinde yüksek kalitede yumurta elde etmek , tedavinin başarısı için büyük önem taşımaktadır (75).

FSH hormonunun, granuloza hücreleri üzerindeki, adenilat siklaz aktivasyonunu ve intrasellüler cAMP seviyesini artırarak işlev gösteren, G-protein yapısındaki FSH reseptörüne bağlanması, gonatların gelişimi ve foliküllerin olgunlaşmasında önemli bir rol oynar (48).Foliküllerdeki FSH konsantrasyonunun artmasının pozitif bir sinyal yayarak insanlardaki oosit matürizasyonunda görev yaptığı savunulmaktadır (76).

Boudjenah ve arkadaşlarının 2012'de yaptıkları çalışmada,Ser680 genotipine sahip hastalarda, Asn680 genotipli hastalarla kıyaslandığında daha fazla olgun kalitede yumurta toplandığı tespit edilmiştir (6).



**Şekil 2.10 FSHR geninin şeması ve SNP'lerin protein üzerindeki dağılımı**

La Marca A, Grisendi V, Giulini S, Argento C, Tirelli A, Dondi G, Papaleo E, Volpe A. Individualization of the FSH starting dose in IVF/ICSI cycles using the antral follicle count. J Ovarian Res. Feb 6;6(1):11, 2013.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Seçilen Örneklerin Tanımı:

Bu çalışmada Bahçeci Umut Tüp Bebek Merkezine tüp bebek tedavisi için başvuran 18-40 yaş arası kadın hastalardan alınan 100 adet kan örneği kullanılmıştır. Kan örnekleri yumurta toplama günü, yumurta işlemi öncesinde 10 ml'lik EDTA'lı tüplerde toplanmıştır. Toplanan örneklerin çalışılmasıyla ilgili Etik Kurulu onayı alınmıştır.

FSH reseptör genindeki polimorfizmin varlığının, hastalardan toplanan yumurta sayısına etkisinin araştırıldığı çalışmamızda, KOH tedavisi sonrasında yumurta sayıları ve yumurtaların matürasyonu istatistiki olarak karşılaştırıldığından ayrıca bir kontrol grubu kullanılmamıştır.

#### 3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler:

Agaroz, DNA marker, Etidyum Bromid, Primerler, TAE tamponu, Taq polimeraz, dNTP set, restriksiyon enzimi. (Asn680Ser polimorfizmi için BseNI)

#### 3.3. Kullanılan Gereçler:

Applied Biosystems 9500 Thermal Cycle, Etüv, Buzdolabı (Haier), Dijital görüntüleme sistemi, Elektrofez için güç kaynağı (Cleaver Scientific Ltd CS 300V), Elektrofez sistemi (Cleaver Scientific Ltd), Hassas terazi (Shimadzu AUX220), Gel logic görüntüleme sistemi (Cleaver Scientific UV Transilluminator), Isıtıcıli manyetik karıştırıcı (Elektomag), Microdalga fırın (Kenwood), Mikrosantrifüj (Beckman Coulter, Microfuge 16), pH metre (Hanna Instruments HI221), Pipet takımı (Eppendorf), Falcon santrifüj, Spektrofotometre (Nanodrop2000 Thermoscientific ), Su banyosu (Wisebath), Vortex (V-1 plus Biosan).



### 3.4. Yöntemler

#### 3.4.1. Kandan Genomik DNA Elde edilme Protokolü

DNA izolasyonu için iPrep DNA izolasyon robotu kullanılmıştır. İzolasyon için  $K_3EDTA$ 'lı tüplere alınan yaklaşık 350  $\mu$ l'lik periferik kan kullanılmıştır. Aşağıda açıklanan prensiplere dayanarak DNA elde edilmiştir. Elde edilen DNA  $+4^\circ C$  buzdolabında saklanmıştır. İzolasyon cihazı ChargeSwitch teknolojisine göre çalışmaktadır. Bu sistem, ortamdaki tamponun pH'ı üzerinden değiştirilebilir yüzey yüküne bağlı manyetik boncuk tabanlı bir teknolojidir. Düşük pH durumunda boncuklar negatif yüklü nükleik asit iskeletine bağlanan pozitif yüke sahiptir. Bu nedenle protein ve diğer kontaminantlar bağlanamaz ve sıvı yıkama tamponu ile yıkanır. Nükleik asitleri temizlemek için; boncuk yüzeyinin yükü, pH'ı düşük tuzu yıkama tamponu (elution) kullanarak pH 8,5'e yükseltılarak nötralize edilir. İzole edilmiş nükleik asit hemen yıkama tamponuna geçer ve uygulamalarda kullanılmak üzere hazır hale gelmiş olur. Bu kapalı sistem içerisinde DNA izolasyon işlemi 45 dakika içerisinde gerçekleşmiş ve bu işlem sonunda yaklaşık 150  $\mu$ l DNA elde edilmiştir.

Magnetik boncukların en etkin ve verimli şekilde DNA'ya bağlanmaları için kartuşlar bir süre çalkalanır. Hastalardan  $K_3EDTA$ 'lı tüplere toplanan periferik kandan 350  $\mu$ l çekilerek cihaz kiti ile birlikte gelen 1,5 ml'lik eppendorf tüplere aktarılıp ve iPrep izolasyon kartuşunun örnek bölümüne yerleştirilmiştir. İzole edilmiş DNA'nın konulacağı 1,5 ml'lik eppendorf tüpleri de elution bölümüne yerleştirilmiştir. İzolasyon sırasında pipetlemeyi yapmak için gerekli pipet uçlarının da özel bölmesine yerleştirilmiştir. En son elde edilen sulandırılmış DNA  $-20^\circ C$  yada  $+4^\circ C$ 'ye kaldırılmıştır.

#### 3.4.2. Elde edilen DNA'nın Konsantrasyon ve Kalitesinin Belirlenmesi

Spektrofotometrede 260nm ve 280nm dalga boylarında yapılan ölçümlerle DNA'nın saflığı ve konsantrasyonu belirlenmiştir. DNA'nın 50 $\mu$ g/ml çift iplikçikli içeriğinin 260 nm dalga boyunda bir optik densite (OD) verdiği kabul edilmektedir.

Nanodrop2000 Thermoscientific cihazı ilk örnekten önce Dnase/Rnase free distile su ile blank alınarak kullanıma hazır hale getirilmiştir. İzole edilmiş DNA

örneklerinden 1,5µl alınarak cihazın ölçüm yapan gözüne konulup ve işlem için bilgisayar üzerinden komut verilmiştir.

Bilgisayardan nükleik asit konsantrasyonu, A260, A280 , 260/280 , 260/230 değerleri otomatik olarak alınmıştır. İzole edilen DNA örneklerinin konsantrasyonları 50-150 ng/ml olacak şekilde Dnase/Rnase free distile su ile sulandırılmıştır.

Aletin uygun yerine 0,5 ile 1,5 microlitre örnek koyup ölçü basılarak değer alınıp , her 10 ölçümde bir blank alınarak, doğruluk payı artırılmıştır.

### **3.4.3. PZR Yöntemi ile Gen Bölgesinin Çoğaltılması ve RFLP Yöntemiyle polimorfizm Analizi:**

#### **3.4.3.1. PZR’da Kullanılan Kimyasal Maddeler:**

DNA Taq polimeraz enzimi (5U/µl) (BIORON Cat.No:101005)

PZR reaksiyonundaki konsantrasyonu 2,5 unite olacak şekilde 50µl’lik PZR karışımına 1 µl eklenmiştir.

10X DNA Taq PZR Tamponu 5 µl

dNTP’ler (100µmol/ml) 1 µl

dNTP’lerden (dATP, dTTP, dCTP, dGTP) 1µl alınmıştır.

#### **3.4.4. FSH reseptör gen bölgesinin PZR Yöntemi ile Çoğaltılması:**

FSHR geninin exon 10 bölgesindeki Asn680Ser polimorfizminin çoğaltılması için kullanılan primerlerin nükleotid dizisi aşağıda verildiği şekildedir. Bu primerler uluslararası yayınlarda doğrulanmış primer dizileridir. Primerler kullanılmadan önce 1/5 oranında sulandırılarak 100pmol/µl’lik stoklar hazırlanmıştır.

Asn680Ser polimorfizmi, FSHR gen bölgesi için (8)

İleri primer: 5’-TTT GTG GTC ATC TGT GGC TGC-3’

Geri primet: 5’- CAA AGG CAA GAC TGA ATT ATC ATT-3’

FSHR geninin Asn680Ser polimorfizm bölgesi için PZR karışımı aşağıdaki gibidir:

50µl’lik karışım; distile su 37 µl, dNTP 1 µl, PZR tamponu 5 µl, Primer 2 µl herbirinden, Taq polimeraz 1 µl.

Taq polimeraz eklendikten sonra tüp içerisindeki bileşenler pipetleme işlemi ile karıştırılmıştır. Örnek sayısı kadar 0,2ml'lik tüplere 48µl PZR karışımı dağıtılıp ve daha sonra her tüpe 2µl DNA (30-100ng) eklenerek pipetleme yapılmıştır. PZR (Applied Biosystems Thermal Cycler Version 2.09) cihazına yerleştirilmiştir.

#### 3.4.4.1. PZR Şartları:

FSHR geninin PZR şartları Tablo 3.1 deki gibidir.

<b>95 °C</b>	<b>5 dakika</b>	
<b>95 °C</b>	45 saniye	} 30 döngü
<b>58,3 °C</b>	45 saniye	
<b>72 °C</b>	45 saniye	
<b>72 °C</b>	5 dakika	

Tablo 3.1 PZR şartları

#### 3.4.4.2. FSHR geninde Asn680Ser Polimorfizminin belirlenmesi için PZR Ürünlerinde Restriksiyon Enzim Analizi:

BseNI (BsrI) Kesim enzimi (10U/µl): (Thermo Scientific ER0881) BseNI enzimi 1xBuffer B ile kullanılmıştır. BseNI enziminin tanıdığı dizi ve kesim yeri (8):

5'.....A C T G G N↓.....3'

3'.....T G A C↑C N.....5'

#### 3.4.4.3. BseNI Enzim Kesimi:

PZR ürünü saptanmış örneklerden toplam hacmi 31µl olacak şekilde restriksiyon enzim kesimi tabloda belirtilen çözeltilerin ve BseNI enziminin sırasıyla eklenmesi ile gerçekleştirilmiştir.(Tablo 3.2) Kesim işlemi BseNI enzimi için optimum sıcaklık olan 65 °C de 4 saat sürmüştür.

**Tablo 3.2 BseNI Enzimi için kesim protokolü**

<b>Kimyasallar</b>	<b>Miktar</b>
<b>PZR ürünü</b>	10 µl
<b>10X Buffer B</b>	2 µl
<b>Enzim: BseNI</b>	1 µl
<b>Distile Su (Dnase/Rnase free)</b>	18 µl

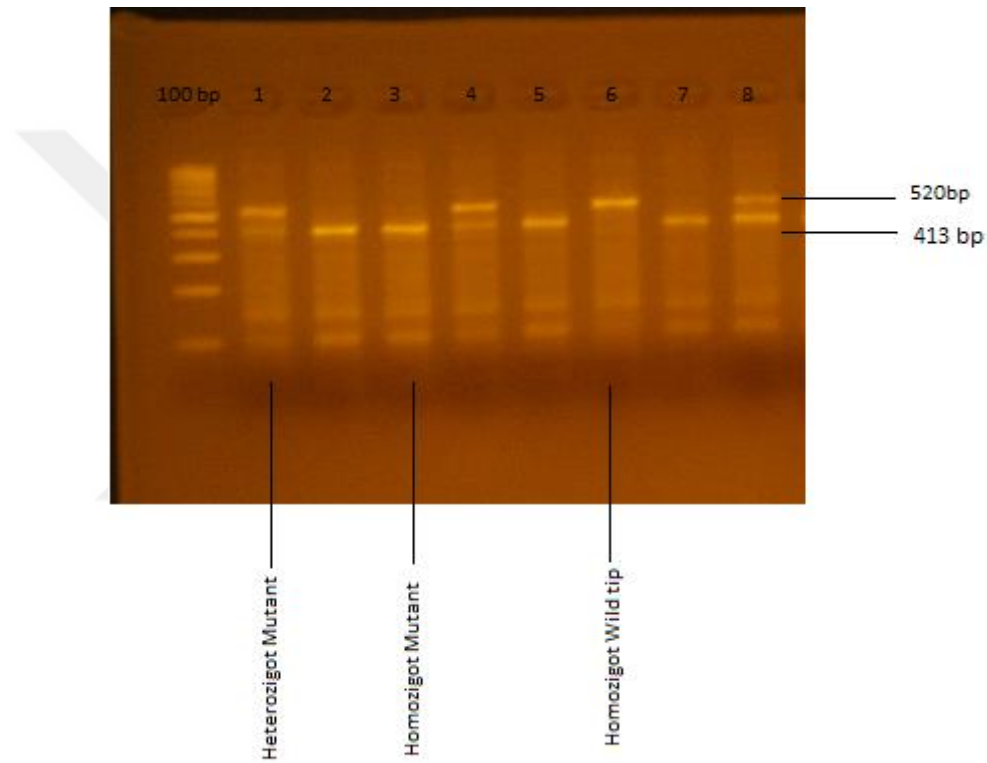
#### **3.4.4.4. BseNI Enzimi Kesim Ürünlerinin Kontrolü:**

Kesim ürünlerinin kontrolü için %3 lük agarose jel hazırlanmıştır. BseNI enzimi ile kesilen PZR ürününden 10 µl karıştırılıp ve EtBr içeren %3'lük agaroz jeldeki kuyulara yükleme yapılmıştır. Kesim ürünleri DNA moleküler marker (Bioron 100bp marker) ile birlikte yürütülmüştür. Yürütme sonrasında, jel üzerindeki bantlar, UV ışık altında incelenmiştir.

#### **3.4.4.5. BseNI Enzimi Kesim Sonuçlarının Değerlendirilmesi:**

Kesim işlemi yapılmadan önce elde edilen PZR ürünlerinin bant büyüklükleri 520bp olarak saptanmıştır. Asn680Ser polimorfizmi yokluğunda (Asn/Asn) , BseNI enzimi için bir kesim bölgesi bulunmamaktadır. Polimorfizimin olduğu (Asn/Ser, Ser/Ser) örneklerinde ise BseNI enzimi için bir kesim bölgesi bulunmaktadır. Polimorfizm içermeyen (Asn/Asn) PZR ürünleri 520bp büyüklüğünde tek bant verirken, homozigot (Ser/Ser) Asn680Ser polimorfizmi içeren örnekler 413bp bant verir. Heterozigot Asn680Ser (Asn/Ser) PZR ürünleri ise 520bp ve 413bp'lik iki bant verir.

Enzim kesim reaksiyonu sonucunda gözlenen 520 bp lik tek bant örneğin Asn680Ser polimorfizmi bulundurmadığını (Asn/Asn) gösterir. 413bp lik tek bant gözükmesi homozigot mutant varlığını (Ser/Ser) ve 520bplik ve 413 bplik bant görülmeside heterozigot mutant (Asn/Ser) varlığını göstermektedir.



**Şekil 3.1 Enzim kesimi**

### 3.5. Ovaryen Stimülasyonu

Tüp bebek merkezinde klinisyenler tarafından standard antagonist protokolü uygulanmıştır.

### 3.6. Matürasyon oranının hesaplanması

Matürasyon oranı (MII oositler/ Total oosit sayısı) X100 eşitliği ile hesaplanmıştır.

### 3.7. İstatistiksel ve Haplotip Analizi

Genotipleme sonucunda elde edilen veriler istatistiksel analiz için SPSS 21.0 programı ile değerlendirildi. Genotip ve allelerin gruplar arasında görülme sıklıklarının değerlendirilmesinde Ki Kare, Fisher's Exact Test kullanılmıştır. Gruplar arası genotipler arasındaki ilişkinin incelenmesi için Haploview programı kullanılarak haplotip analizi yapılmıştır.

#### 4. .BULGULAR

Hasta grubu olarak tüp bebek tedavisine başvurmuş kadınların arasından normogonadotropik ovülasyona sahip olanlar seçilmiştir. İnfertilite nedeni olarak erkek faktörü yada tubal faktör olanlar gruba dahil edilmiştir. Yaş ortalaması  $32,67\pm 4,36$  dır. Tablo 4.1’de olgulara ait bilgiler verilmiştir.

Tüp bebek tedavisine alınan hastalara antagonist protokol uygulanmıştır.

Çalışma grubundaki hastaların değerlendirilmesinde, FSHR geninde Asp680Ser polimorfizmi 26(%26) homozigot doğal (wild), 46(%46) heterozigot mutant ve 28 (%28) vakada ise homozigot mutant saptanmıştır.

Çalışmamıza dahil ettiğimiz hasta grubundan, KOH tedavisi sonrasında ortalama toplanan yumurta sayısı 9,68 ve olgun yumurta sayısı ise 7,96 dır. Hastalardan adetlerinin 3.günlerinde alınan kan örneği ile saptanan FSH değerleri ile genotip sonuçları ve yumurta sayıları istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.1: Olgulara ait demografik ve klinik parametreler

PARAMETRELER	
Yaş (yıl)	$32,67\pm 4,36$
FSH düzeyi (IU/L)	$6,86\pm 2,40$
Oosit sayısı (n)	$9,68\pm 6,47$
Olgun Oosit sayısı (n)	$7,96\pm 5,75$

Bütün PZR ürünleri beklenen büyüklükte bantlar göstermiştir. Ekzon 10 da pozisyon 680 deki polimorfizm için yapılan RFLP analizi ile belirlenen genotip dağılımı Tablo 4.2 de verilmiştir.

Tablo 4.2: Genotip Dağılımları

<b>GENOTİP DAĞILIMI (n:100)</b>		
Wild Tip (Asn/Asn) (n/%)	Heterozigot (Asn/Ser) (n/%)	Homozigot Mutant (Ser/Ser) (n/%)
26 (%26)	46 (%46)	28 (%28)
<b>ALLEL DAĞILIMI</b>		
Wild Allel (n/%)		Mutant Allel (n/%)
98 (% 49)		102 (%51)

Minor alel dağılımı, Ekzom değişken databankasında (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>) Kafkas Avrupa popülasyonu (n=4300) için %45.7 olarak raporlanmıştır.

Genotip dağılımlarına göre hastalara ait hormonal değerler ve elde edilen yumurta sayılarında karşılaştırılmıştır.



Genotip dağılımlarına göre FSH, Oosit ve M-oosit düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmemiştir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: Genotip dağılımlarına göre FSH, Oosit ve Olgun oosit düzeyleri arasında ilişkinin gösterilmesi

<b>Genotipler</b>	<b>Wild Tip (n:26)</b>	<b>Heterozigot (n:46)</b>	<b>Homozigot Mutant (n:28)</b>
FSH düzeyi (IU/L)	6,61±2,08	7,03±2,79	6,81±2,00
Oosit sayısı (n)	8,26±5,11	9,95±7,09	10,54±6,54
Olgun Oosit sayısı (n)	6,96±4,80	8,02±6,02	8,78±6,14

Allel dağılımlarına göre FSH, Oosit ve Olgun oosit düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmemiştir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4: Allel dağılımlarına göre FSH, Oosit ve Matür oosit düzeyleri arasında ilişkinin gösterilmesi

<b>Alleller</b>	<b>Wild Allel (n:72)</b>	<b>Mutant allel (n:74)</b>
FSH düzeyi (IU/L)	6,88±2,55	6,94±2,50
Oosit sayısı (n)	9,34±6,46	10,18±6,85
Olgun Oosit sayısı (n)	7,63±5,60	8,31±6,03

34 yaşı öncesi ve sonrası hastalarda FSH, Oosit ve M-oosit düzeyleri arasında ilişki incelendiğinde 34 yaşından büyük hastalarda daha genç olanlara göre FSH düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmıştır ( $p<0,001$ , %95 güven aralığı: 1,03-2,84). Bununla beraber oosit ( $p<0,001$ , %95 güven aralığı: 2,42-7,28) ve olgun

oosit sayısı ( $p < 0,001$ , %95 güven aralığı: 1,94-6,29) ise 34 yaşından büyük hastalarda anlamlı şekilde azaldığı gözlemlenmiştir.

Tablo 4.5: Yaş grubuna göre FSH, Oosit ve Olgun oosit düzeyleri arasında ilişkinin gösterilmesi

Yaş	>34 (n:42)	<34 (n:58)
FSH düzeyi (IU/L)	7,98±2,33*	6,04±2,12
Oosit sayısı (n)	6,86±5,57	11,72±6,35*
Olgun Oosit sayısı (n)	5,57±5,04	9,68±5,64*

Tedaviye zayıf cevap veren hastalarda (3 ve 3 ten az oosit toplanan hastalarda) genotip dağılımı açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Tablo. 4.6'da genotip dağılımı ile tedaviye verilen zayıf yada normal yanıt karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.6: Genotip dağılımına bağlı tedaviye zayıf yanıt veren ve iyi yanıt veren hastaların karşılaştırılması.

<b>GENOTİP DAĞILIMI (n:100)</b>			
	Wild Tip (Asn/Asn)	Heterozigot (Asn/Ser)	Homozigot Mutant (Ser/Ser)
	(n/%)	(n/%)	(n/%)
<b>&lt;3 oosit toplanan hasta grubu</b>	6 (%29)	11 (%52)	4 (%19)
<b>&gt;3 oosit toplanan hasta grubu</b>	20 (%25)	35 (%45)	24 (%30)

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

FSH reseptörleri, yumurtalıklarda foliküler gelişimi ve granüloza hücrelerinin fonksiyonu için gereklidir. Estrojen, hücre zarı üzerinde ki FSH reseptör sayısının artmasını sağlar. FSH granüloza hücrelerini stimüle ederek estrojen salgılanmasına neden olur. Böylece FSH ve estrojen sinerjik bir biçimde, yumurtalıktaki foliküllerin büyümesinde rol oynar.

FSH reseptörünün ekspresyonu ve ekzojen FSH'a cevap verebilme yeteneği gonadotropin tedavisinde belirleyici etkenlerden biri olarak gözükmektedir. Böylece değişmiş FSH reseptör ekspresyonu ve fonksiyonu, zayıf ovaryen cevabına karşı bir faktör olarak kabul edilebilir. Şimdiye kadar yaş ile azalan over rezervi yada serum AMH seviyesi ovaryen stimülasyona verilecek cevabı tahmin etmek için biomarker olarak kullanılmaktadır (77,78). Fakat optimum ovaryen cevabını belirleyebilmek için en uygun FSH dozunu tespit edebilmek süregelen araştırmaların başında gelmektedir. FSHR genindeki alelik değişikliklerin tespiti, IVF/ICSI protokollerinde ovaryen cevabı için, bir biomarker olarak kabul edilebilmesi için son yıllarda birçok çalışmaya konu olmuştur (53).

FSHR geninde ekzon ve intronlarda çok çeşitli polimorfizmler tespit edilmiştir. Thr307Ala (rs6165) ve Asn680Ser (rs6166) en çok çalışılmış olan polimorfizmlerdir. İki polimorfizmde ekzon 10 da bulunduğundan, aralarında kuvvetli bir bağlantı dengesizliği vardır (79). Bu nedenle bir çok çalışmada sadece Asn680Ser polimorfizmi üzerinde durulmuştur. Bizim çalışmamızda da, IVF/ICSI programına dahil edilmiş 100 hastanın klinik parametreleri, Asn680Ser polimorfizmi ile karşılaştırılmıştır.

Yapılan diğer başka çalışmalarda da bu polimorfizmin varlığının, ovaryen cevaba etkisi araştırılmıştır. Basal FSH değeri, estradiol, folikül ve oosit sayısının Asn680Ser polimorfizmi varlığında kıyaslaması yapılmıştır. Perez-Mayorga ve arkadaşlarının 2000 yılında 161 hastada yaptıkları çalışmada Ser/Ser ve Asn/Ser genotipine sahip kadın hastaların Asn/Asn genotipine sahip olanlarla kıyaslandığında; istatistiksel olarak anlamlı, daha yüksek basal FSH değerlerine sahip olduğu ve ovaryen hiperstimülasyonu için yine istatistiksel olarak anlamlı daha fazla FSH dozuna ihtiyaç duydukları tespit edilmiştir. Her 3 grupta da peak estradiol değerleri, folikül ve oosit sayıları benzerdir (9).

Sudo ve arkadaşlarının 2002 deki 58 hastalık gruptaki çalışmasında ise Ser/Ser genotipine sahip kadın hastalarda hCG uygulaması gününde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkide artmış ekzojen FSH ve düşük östradiol seviyesi tespit edilmiştir (64). Her 3 grupta da toplanan oosit sayısı benzerdir.

de-Castro ve arkadaşlarının 102 hastada 2004 yılında yaptıkları çalışmada Ser/Ser genotipine sahip kadın hastaların istatistiksel olarak anlamlı yüksek bazal FSH değerleri ve IVF siklus sayısı gösterdiği tespit edilmiştir(65). Her 3 grupta da estradiol seviyesi, folikül ve oosit sayıları benzerlik göstermektedir.

Behre ve arkadaşları 2005 teki çalışmalarında, 93 hastayı değerlendirmişlerdir. Ser/Ser genotipine sahip kadın hastaların, aynı ovaryen cevabı için daha yüksek FSH dozuna ihtiyaç duyduğu (225U/gün) diğer Asn/Asn genotipine sahip kadın hastalarda bu miktarın 150U/gün olduğu gösterilmiştir (66). Hasta grupları arasında basal FSH değeri, folikül ve yumurta sayısı, gebelik oranı benzerlik göstermektedir.

2003 yılında, Laven ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen 148 hastalık çalışmada ise Ser/Ser genotipine sahip kadın hastaların istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek bazal FSH değerleri varken, estradiol değerleri, ekzojen FSH dozu, folikül ve oosit sayısı diğer genotiplerle kıyaslandığında benzerlik gösterdiği bulunmuştur (73).

Klinkert ve arkadaşları 2006'da yaptıkları çalışmada Ser/Ser genotipine sahip kadın hastaların gebelik ve implantasyon oranlarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde Asn/Asn genotipine sahip kadın hastalardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çalışmaya dahil ettikleri hasta sayıları 105'tir (69).

Mohiyiddeen ve arkadaşları ise 2012 yılında 421 hastalık çalışma gruplarında gerçekleştirdikleri karşılaştırmada, her 3 grupta da stimülasyondaki FSH dozu ve toplanan oosit sayıları benzerlik göstermektedir (80).

Greb ve arkadaşları 2005'te 64 hastalık çalışma gruplarında yaptıkları çalışmada, Ser/Ser genotipine sahip kadın hastaların FSH a karşı daha yüksek ovaryen eşik değerine sahip oldukları, luteal sekresyonun negatif geribeslemesinin azalmış olduğu , daha uzun menstrüel siklusa sahip oldukları, yinede daha çok antral folikül sayısına sahip oldukları gibi sonuçlar genotiple ilişkilendirilmiştir (67). Estrodiol seviyeleri, inhibin B ve dominant foliküllerin gelişim hızı her 3 grupta da benzerdir.

Loutradis ve arkadaşları ise 2006'da yaptıkları 64 vaka sayısına sahip çalışmalarında gruplar arasında fark bulmuşlardır (3). Asn/Ser genotipine sahip kadın hastaların Ser/Ser ve Asn/Asn genotipine sahip olanlarla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek estrodiol seviyesine ayrıca folikül ve yumurta sayısına sahip oldukları tespit edilmiştir.

Daelemans ve arkadaşları bu polimorfizmin OHSS ile ilişkisini incelemiştir (81). Ser680 alelinin varlığı iatrojenik OHSS riskini arttırmakla birlikte ayrıca Asn680 alelinin varlığı istatistiksel olarak anlamlı olarak OHSS nin şiddeti ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Vaka sayıları 37dir.

Bir diğer çalışmada ise, Boudjenah ve arkadaşları 2012'de 427 hastalık bir grupta yaptıkları çalışmada, Ser/Ser genotipine sahip kadın hastaların diğer gruplardaki ile kıyaslandığında tedaviye daha çok hiper-cevap verdiği ilişkilendirilmiştir(6).

Bu çalışmaların sonuçları özet bir şekilde Tablo 5.2'de gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda vaka sayıları ve ırklar farklılık gösterdiği gibi elde edilen bilgilerde farklılık göstermektedir. Şimdiye kadar yapılan birçok çalışmada farklı sonuçların elde edilmesinin çeşitli nedenleri olabilmektedir. Bu farklılıklar çalışmaların değişik etnik gruplarda yapılmasından, farklı stimülasyon protokollerinin uygulanmasından yada çalışma dizaynlarının ayrı olmasından kaynaklanabilir (74).

Bu çalışmada ,FSHR genindeki Ser680Asn polimorfizminin Türk toplumundaki prevalansı araştırılmıştır.FSHR genindeki alelik değişkenliklerin varlığı, daha önce birçok toplum için araştırma konusu olmuştur.Yapılan çalışmalarda Alman, Japon, İspanyol,Kore ve Yunan toplumundan kadın hastalarda Ser680Asn polimorfizminin ovaryen cevaba pozitif etki ettiği, Hollanda'lı kadın hastalarda ise negatif etki ettiği görülmüştür (3,9,64,65,66,69,87).

Kuijper ve arkadaşları,FSHR genindeki Ser680Asn polimorfizminin değişik etnik gruplardan, geniş bir infertil hasta grubundaki dağılımına bakmışlardır (82). Bu hasta grubundan %3.8'si yada 67 tanesi Asyalı olup sadece %11'i adet düzensizliği görmektedir. Yapılan bu çalışmada Kafkas ve Akdenizli ırkı Asyalı ırkıyla karşılaştırıldığında, Asyalılarda Ser680Ser FSHR prevalansı düşük (%10.4) bulunurken, Asn680Asn prevalansı ise yüksek (%50.7) olarak bulunmuştur.

Türkiyede şimdiye kadar yayınlanmış çalışmalardan biri Ünsal ve arkadaşları tarafından 2009 yılında polikistik over sendromuna sahip ergen kızlar arasında yapılmış. FSHR geni ve başka genlerdeki polimorfizmler ile PKOS arasındaki ilişkiye bakılmış ancak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.(83)

Yaptığımız çalışmada, seçilen hasta grubunda ovaryen rezervine yaş faktörünün etkisini elimine edebilmek için 18 ile 40 yaş arasındaki kadın hasta grubu çalışmamıza dahil edilmiştir.İlerleyen yaşla birlikte over rezervi azalmakta ve tedavi için kullanılan ekzojen FSH dozu artmaktadır (13). FSHR genindeki polimorfizmin varlığının oosit sayısına etkisini incelediğimiz için tüp bebek endikasyonu olarak tubal faktör yada erkek faktörü dışındaki endikasyonlar elenmiştir. Oosit toplama işlemi, hcg dozunun verilmesinden 36-38 saat sonra gerçekleştirilmiştir. Transvajinal ultrason yardımı ile anestezi altında yapılan işlem sonrasında toplanan oositler ayıklama işleminden önce 2 saat inkübatörde (6% CO<sub>2</sub> ve 5%O<sub>2</sub>) bekletilmiştir. Tüp bebek tedavisinin başarısının göstergesi olarak matürasyon oranı %80-85'tir (84). Çalışmaya dahil edilmiş hasta grubunda matürasyon oranı %82,2dir.

Toplanan total oosit sayısı ve MII oosit sayısının ; ortalama embriyo transfer sayısını ve gebelik oranlarını dolaylı olarak etkilediği düşünülmektedir. Ne kadar iyi kalitede oosit elde edilirse o kadar çok embriyo oluşturulabilmekte ve hastanın gebelik şansı artmaktadır. Sonuç olarak KOH'un amacında budur. Hastaya optimum dozda gonadotropin vererek optimum sayıda oosit elde edinilmesi amaçlanmaktadır. (2,85) Ancak bazı hastalarda oluşan OHSS durumunda unutmamak gereklidir. Bu nedenle IVF tedavisinde hastalara verilen ilaç dozları fizyolojik olarak çok önemlidir. FSHR genindeki polimorfizmlerin varlığının, hastaya göre tedavi belirlemede önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle farmakogenetik çalışmalar sürdürülmektedir. (86)

Yaptığımız çalışmada, genotip dağılımı hastalar arasında 26(%26) homozigot doğal (wild), 46(%46) heterozigot mutant ve 28 (%28) vakada ise homozigot mutant olarak saptanmıştır.Genotip dağılımı Hardy-Weinberg eşitliğine uygundur. Bütün PZR örnekleri jel üzerinde beklenen büyüklükte bantlar vermiştir. Genotip dağılımına bağlı olarak karşılaştırma yapıldığında, toplanan oosit sayıları ile ilgili herhangi bir ilişki tespit edilememiştir. Matür oosit sayısında genotip dağılımına bağlı olarak istatistiksel bir farklılık göstermemektedir.

Hastalar , oosit sayılarına göre zayıf ve normal ovaryen cevap veren hastalar olarak ikiye ayrılmıştır. 3 ve altında oosit toplanan hastalar zayıf cevap veren hastalar olarak kabul edilmiştir. Bu hasta grubunun yaş ortalaması 34,4 tür. Normal cevap veren hasta grubunun yaş ortalaması ise 32,2'dir. Genotip dağılımına bağlı olarak değerlendirdiğimizde oosit sayısında bir fark bulunamamıştır

Basal FSH değerlerini karşılaştırdığımızda yine genotipe bağlı bir fark bulunamamıştır. Yeterli olgunluğa erişmiş foliküller inhibin-B üretirler ve bu da hipofizdeki FSH salgısı için negatif geri beslemeye neden olur. Yaş ilerledikçe, azalan folikülerin havuz daha az inhibin-B salgılamasıyla FSH'nin kan düzeyi artmaktadır(20,21).Bu nedenle yaşın artmasıyla FSH değerinin kan düzeyinde artması beklenen bir durumdur.

Yaptığımız prospektif çalışmada FSHR genindeki Asn680Ser polimorfizmi ile oosit maturitesini karşılaştırılmıştır. MII oosit sayısı ile farklı genotipler arasında istatistiksel bir farklılık bulunamamıştır.Çalışmada ovaryen cevap için MII sayısını gelişen embryo sayısını tahmin edebilmek adına kullanmak, antral folikül sayısını kullanmaktan daha bilgilendirici kabul edilmiştir. Örneğin ovaryen stimülasyona 4 antral folikülü olup 4 MII oositi çıkan bir kadın 20 antral folikülü olup 8 MII oositi çıkan bir kadından daha iyi yanıt vermiş kabul edilebilir. Mohiyiddeen ve arkadaşlarının 2013'te yaptığı çalışmada da bizim çalışmamıza benzer olarak Asn680Ser polimorfizmi ile oosit olgunluğu arasında bir ilişki bulunamamıştır.(Mohiyiddeen)

Literatürde yapılan diğer çalışmalarda fertilizasyon oranı genotiplere göre karşılaştırılmış ancak anlamlı bir fark bulunamamıştır. (66,87,69) Buna rağmen klinik gebelik ve implantasyon oranında yapılan bir çalışmada Ser/Ser genotipine sahip hastaların Asn/Asn genotipine sahip hastalara nazaran 3 kat fazla değerlere sahip olduğu bulunmuştur (69). Buna karşılık yapılan bir farklı çalışmada da tam tersi olarak klinik gebeliğin Asn/Asn grubunda daha yüksek olduğu bulunmuştur. (87)

Van Disseldorp ve arkadaşlarının 2011'de yaptıkları genom düzeyindeki çalışmalarında (Genome Wide Association Studies) 102 hastalık kohortlarında anlamlı over yanıtı, embryo kalitesi ve gebelikle ilişkili hiçbir SNP tespit edilememiştir. Ancak çalışmaların büyük ölçekli GWAS ile sürdürülmesi gereklidir. (103)

**Sonuç olarak diyebiliriz ki;** FSHR genindeki Asn680Ser polimorfizmi ile farklı genotipli hasta gruplarında tedavi sonrasında elde edilen olgun oosit sayısı için istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamamıştır. Diğer polimorfizmlerle örneğin steroid üretiminde etkili olan genlerdeki (ESR1,ESR2 ve CYP19A1) yada folikülogenez ile ilgili genlerle (BMP15,AMH and AMH2) birlikte değerlendirildiğinde klinik açıdan daha fazla anlamlılık kazanabilir.(de Castro 2004,Mohiyiddeen 2011) Bunun için daha fazla hasta popülasyonunda çalışmalar devam edilmeli aradaki çelişkileri ortadan kaldırmak adına genom düzeyinde çalışmaları (GWAS) yapılmalıdır. Konvansiyonel ovaryen hiperstimülyasyondan ziyade kişiselleştirilmiş ovaryen stimülyasyon yolunda ilerlenilmektedir. (89) Hastaya uygun kişiselleştirilmiş tedavi yolu bulmak için çalışmaların sürdürülmesi gerekmektedir.



## KAYNAKLAR

1. Elder K, Dale B. In Vitro Fertilization. Cambridge University Press, pp:22-25, United Kingdom,2011
2. Munne, S. Chromosome abnormalities and their relationship to morphology and development of human embryos. *Reprod. Biomed. Online* 12, 234–253,2006
3. Loutradis, D, Patsoula E, Minas V, Koussidis GA, Antsaklis A, Michalas S, Makrigiannakis A.FSH receptor gene polymorphisms have a role for different ovarian response to stimulation in patients entering IVF/ICSI-ET programs. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 23 :177-184,2006
4. Huang X, Li L, Hong L, Zhou W, Shi H, Zhang H, Zhang Z, Sun X, Du J. The Ser680Asn polymorphism in the follicle-stimulating hormone receptor gene is associated with the ovarian response in controlled ovarianhyperstimulation. *Clinical Endocrinology* 82:10.1111/cen.2015.82.issue-4, 577-583,2015
5. Tremellen K., Savulescu J.Ovarian reserve screening: a scientific and ethical analysis *Hum Reprod.* Dec;29(12):2606-14, 2014
6. Boudjenah R, Molina-Gomes,D., Torre A., Bergere M, Bailly M., Boitrelle f., Taieb S., Wainer R., Benahmed,M., Mazancourt P., Selva J., Vialard F. Genetic polymorphisms influence the ovarian response to rFSH stimulation in patients undergoing in vitro fertilization programs with ICSI. *PLoS ONE* 7 e38700, 2012
7. Valkenburg, O. van Santbrink EJ, König TE, Themmen AP, Uitterlinden AG, Fauser BC, Lambalk CB, Laven JS. Follicle-stimulating hormone receptor polymorphism affects the outcome of ovulation induction in normogonadotropic (World Health Organization class 2) anovulatory subfertility *Fertility and Sterility*, Vol. 103, Issue 4, p1081–1088.e3, 2015
8. Genro, V. K., Matte U, De Conto E, Cunha-Filho JS, Fanchin R. Frequent polymorphisms of FSH receptor do not influence antral follicle responsiveness to FSH administration as assessed by the follicular output rate (FORT), *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 29:657-663, 2012
9. Perez Mayorga, M., Gromoll, J., Behre, H.M., Gassner, C., Nieschlag, E., Simoni, M. Ovarian response to follicle-stimulating hormone (FSH) stimulation depends on the FSH receptor genotype. *J. Clin. Endocrin. Metab.* 85, 3365–3369, 2000

10. Mosher WD, Pratt WF. Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends, *Fertil Steril* 56 : 192, 1991
11. Barbieri RL. Female infertility. In Strauss FJ, Barbieri RL (eds), *Reproductive endocrinology*. Pennsylvania:Elsevier Inc., 5th ed, 2004, pp 633-668.
12. Vayena E, Rowe PS, Griffin PD (eds), *Current practices and controversies in assisted reproduction: report of a WHO meeting*. Geneva: WHO, 2002, pp 83-101.
13. Hutt KJ , Albertini DF. An oocentric view of folliculogenesis and embryogenesis *Reproductive Biomedicine Online* 14 (6): 758 –764, 2007
14. Faddy MJ , Gosden RG. A mathematical model for follicle dynamics in human ovaries . *Human Reproduction* 10 : 770 –775, 1995
15. Miller JH, Weinberg RK, Canino NL, Klein NA, Soules MR. The pattern of infertility diagnoses in women of advanced reproductive age, *Am J Obstet Gynecol* 181:952, 1999
16. Dunson DB, Colombo B, Baird DD. Changes with age in the level and duration of fertility in the menstrual cycle, *Hum Reprod* 17:1399, 2002
17. Gianaroli L .Preimplantation diagnosis for aneuploidies in patients undergoing in-vitro fertilization with a poor prognosis: identification of the categories for which it should be proposed . *Fertility and Sterility* 72 (5): 837 –844, 2002
18. Hull MG, Glazener CM, Kelly NJ, Conway DI, Foster PA, Hinton RA, Coulsan C, Lambert PA, Watt EM, Desai KM. Population study of causes, treatment, and outcome of infertility, *Br Med J (Clin Res Ed)* 291:1693, 1985
19. A practice committee report, American Society for Reproductive Medicine, Optimal evaluation of the infertile female. *Fertil Steril* 98 (2), 2012
20. Bostofte E, Bagger P, Michael A, Stakemann G. Fertility prognosis for infertile couples, *Fertil Steril* 59:102,1993
21. Collins JA, Burrows EA, Wilan AR. The prognosis for live birth among untreated infertile couples, *Fertil Steril* 64:22, 1995
22. Eskenazi B, Wyrobek AJ, Slotter E, Kidd SA, Moore L, Young S, Moore D . The association of age and semen quality in healthy men, *Hum Reprod* 18:447, 2003

23. Sundstrom I, Ildgruben A, Hogberg U. Treatment-related and treatment independent deliveries among infertile couples, a long term follow-up, *Acta Obstet Gynecol Scand* 76:238, 1997
24. Forti G, Krausz C. Evaluation and treatment of the infertile couple. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 83(129): 4177-4188, 1998
25. Scott Jr RT , Hofmann GE. Prognostic assessment of ovarian reserve, *Fertil Steril* 63:1,1995
26. Frequency of Macroprolactinemia in Hyperprolactinemic Women Presenting with Menstrual Irregularities, Galactorrhea, and/or Infertility: Etiology and Clinical Manifestations. Leños-Miranda A, Ramírez-Valenzuela KL, Campos-Galicia I, Chang-Verdugo R, Chinolla-Arellano LZ. *Int J Endocrinol.* 2013;478282. doi: 10.1155/2013/478282, 2013
27. Berger JJ, Bates GW. Optimal management of subfertility in polycystic ovary syndrome. *Jr.Int J Womens Health.* Jun 13;6:613-21, 2014
28. Neal, S.M. Sidestream smoking is equally as damaging as mainstreamsmoking on IVF outcomes. *Human Reproduction* Vol.20, No.9 pp. 2531–2535,2005.
29. Ashrafi M, Rashidi M, Ghasemi A, Arabipoor A, Daghighi S, Pourasghari P, Zolfaghari Z. The role of infertility etiology in success rate of intrauterine insemination cycles: an evaluation of predictive factors for pregnancy rate. *Int J Fertil Steril.* Jul;7(2):100-7, 2013.
30. Kahraman S, Yakın K. Ovulasyon induksiyonu. *İstanbul Memorial Hastanesi Yardımcı Üreme Teknikleri ve Reprodüktif Endokrinoloji Merkezi*, 2000.
31. Popovic-Todorovic B, Loft A, Lindhard A. A prospective study of predictive factors of ovarian response in 'standart' IVF/ICSI patients treated with recombinant FSH. A suggestion for a recombinant FSH dosage normogram. *Human Reproduction* ; 18(4): 781-787,2003.
32. Yong PY, Baird DT, Thong KJ, McNeilly AS, Anderson RA. Prospective analysis of the relationships between the ovarian follicle cohort and basal FSH concentration , the inhibin response to exogenous FSH and ovarian follicle number at different stages of the normal menstrual cycle and after pituitary down-regulation , *Hum Reprod* 18:35,2003.
33. Van Rooij IA, Broekmans Fj, te Velde ER, Fauser BC, Bancsi LF, de Jong FH, Themmen AP. Serum Anti-Mullerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve, *Hum Reprod* 17:3065, 2002.

34. La Marca A, Argento C, Sighinolfi G, Grisendi V, Carbone M, D'Ippolito G, Arsenio AC, Stabile G, Volpe A. Possibilities and limits of ovarian reserve testing in ART. *Curr Pharm Biotechnol.* Mar;13(3):398-408,2012.
35. Lass A, Silye R, Abrams D-C, Krausz T, Hovatta O, Margara R, Winston RML. Measurement of ovarian volume by transvaginal sonography before human menopausal gonadotropin superovulation for in-vitro fertilization can predict poor response, *Hum Reprod*, 12:294, 1994
36. Kupesic S, Kurjak A, Bjelos D, Vujisic S. Three-dimensional ultrasonographic ovarian measurements and in vitro fertilization outcome are related to age., *Fertil Steril* 79:190,2003.
37. Haisenleder DJ, Dalkin AC, Ortolano GA, Marshall JC, Shupnik MA. A pulsatile gonadotropin-releasing hormone stimulus is required to increase transcription of the gonadotropin subunit genes; evidence for differential regulation of transcription by pulse frequency in vivo, *Endocrinology* 117:1550, 1985.
38. McCartney CR, Gingrich MB, Hu Y, Evans WS, Marshall JC. Hypothalamic regulation of cyclic ovulation: evidence that the increase in gonadotropin-releasing hormone pulse frequency during the follicular phase reflects the gradual loss of the restraining effects of progesterone, *J Clin Endocrinol Metab* 87:2194, 2002.
39. Loumaye E , Engrand P , Howles CM , O'Dea L. Assessment of the role of serum luteinizing hormone and estradiol response to follicle-stimulating hormone on in vitro fertilization outcome . *Fertility and Sterility* 67 : 889 –899, 1997.
40. Kobayashi M, Nakano R, Ooshima A. Immunohistochemical localization of pituitary gonadotropins and gonadal steroids confirms the two cells two gonadotropins hypothesis of steroidogenesis in the human ovary, *J Endocrinol* 126:483, 1990.
41. Mcgee E.A., Hsueh, A.J.W. Initial and Cyclic Recruitment of Ovarian Follicles, *Endocrine Reviews* 21(2): 200–214, 2000.
42. Johnson M . *Essential Reproduction* , 6th ed. Blackwell Scientific Publications , Oxford ,2007.
43. Vayena E, Rowe PS, Griffin PD (eds), *Current practices and controversies in assisted reproduction: report of a WHO meeting.* Geneva: WHO, 2002, pp 102-125.

44. Xiao JS.,Su CM, Zeng XT. Comparisons of GnRH antagonist versus GnRH agonist protocol in supposed normal ovarian responders undergoing IVF: a systematic review and meta-analysis..PLoS One.Sep 12;9(9):e106854, 2014.
45. Macnamee MC , Howles CM , Edwards RG. Short term luteinising hormone agonist treatment, prospective trial of a novel ovarian stimulation regimen for in vitro fertilisation . *Fertility and Sterility* 52 :264 –269,1989.
46. Brinsden P. Superovulation strategies in assisted conception. In: Brinsden P (ed.) *A Textbook of In Vitro Fertilization and Assisted Reproduction* . Taylor-Francis, London , 2005.
47. Figen Turkcapar A, Seckin B, Onalan G, Ozdener T, Batioglu S.Human Menopausal Gonadotropin versus Recombinant FSH in Polycystic Ovary Syndrome Patients Undergoing In Vitro Fertilization. *Int J Fertil Steril*. Jan;6(4):238-43, 2013.
48. Simoni M, Gromoll J, Nieschlag E 1997 The follicle stimulating hormone receptor: biochemistry, molecular biology, physiology, and pathophysiology. *Endocrine Reviews* 18, 739–773,1997.
49. Rosen MP, Zamah AM, Shen S, Dobson AT, McCulloch CE, Rinaudo PF, Lamb JD, Cedars MI. The effect of follicular fluid hormones on oocyte recovery after ovarian stimulation: FSH level predicts oocyte recovery. *Reprod Biol Endocrinol*. Apr 23;7:35. doi: 10.1186/1477-7827-7-35,2009.
50. Ulloa-Aguirre A, Zarinan, Pasapera AM. Multiple facets of follicle stimulating hormone receptor function. *Endocrinology* 32, 251–263, 2007.
51. Schuler MA, Scammell JG.Pharmacodynamics and pharmacokinetics of gonadotrophins. In: Rizk B, Garcia-Velasco JA, Sallam HN, Makrigiannakis A (eds.) *Infertility and Assisted Reproduction*. Cambridge University Press, Cambridge and NewYork, pp. 228–234,2008.
52. Radu A, Pichon C, Camparo P, Antoine M, Allory Y, Couvelard A, Fromont GX, Hai MT, Ghinea N . Expression of Follicle-Stimulating Hormone Receptor in Tumor Blood Vessels. *N Engl J Med* 363 (17): 1621–1630. .PMID 20961245, 2010.
53. La Marca A, Carducci Arsenio A, Stabile G, Rivasi F, Volpe A . Evidence for cycle-dependent expression of follicle-stimulating hormone receptor in human endometrium. *Gynecol. Endocrinol*. 21 (6): 303–6. .PMID 16390776, 2005.

54. Aittomaki K, Lucena JL, Pakarinen P, Sistonen P, Tapanainen J, Gromoll J, Kaskikari R, Sankila EM, Lehvaslaiho H, Engel AR, Nieschlag E, Huhtaniemi I, de la Chapelle A. Mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene causes hereditary hypergonadotropic ovarian failure. *Cell* , 82:959-968,1995.
55. Tapanainen J, Aittomaki K, Min J, Vaskivuo T & Huhtaniemi I. Men homozygous for an inactivating mutation of the follicle-stimulating hormone (FSH) receptor gene present variable suppression of spermatogenesis and fertility. *Nature Genetics* 15 205–206, 1997.
56. Vasseur C, Rodien P, Beau I, Desroches A, Gérard C & de Poncheville L. A chorionic gonadotropin-sensitive mutation in the follicle stimulating hormone receptor as a cause of familial gestational spontaneous ovarian hyperstimulation syndrome. *New England Journal of Medicine* 349 753–759,2003.
57. Montanelli L, Van Durme J, Smits G, Bonomi M, Rodien P, Devor J, Moffat-Wilson K, Pardo L, Vassart G & Costagliola S. Modulation of ligand selectivity associated with activation of the transmembrane e region of the human follitropin receptor. *Molecular Endocrinology* 18 2061–2073,2004.
58. Desai SS, Roy BS, Mahale SD. Mutations and polymorphisms in FSH receptor: functional implications in human reproduction. *Reproduction*. Oct 23;146(6):R235-48, 2013.
59. Lussiana C, Guani B, Mari C. Mutations and polymorphisms of the FSH receptor (FSHR) gene: Clinical implications in female fecundity and molecular biology of FSHR protein and gene. *Obstetrical and Gynecological Survey* 63, 785–795,2008.
60. Simoni M, Tempfer CB, Destenaves B, Fauser BC. Functional genetic polymorphisms and female reproductive disorders: Part I: Polycystic ovary

syndrome and ovarian response. *Human Reproduction Update* 14, 459–484, 2008.

61. Wunsch A, Ahda Y, Banaz-Yasar F, Sonntag B, Nieschlag E, Simoni M & Gromoll J. Single-nucleotide polymorphisms in the promoter region influence the expression of the human follicle-stimulating hormone receptor. *Fertility and Sterility* 84 446–453, 2005.
62. Tilly L, Kowalski I, Schomberg W & Hsueh J. Apoptosis in atretic ovarian follicles is associated with selective decreases in messenger ribonucleic acid transcripts for gonadotropin receptors and cytochrome P450 aromatase. *Endocrinology* 131 1670–1676, 1992.
63. Minegishi T, Igarashi S, Nakamura K, Nakamura M, Tano M, Shinozaki H, Miyamoto K & Ibuki Y. Functional expression of the recombinant human FSH receptor. *Journal of Endocrinology* 141 369–375, 1994.
64. Sudo S, Kudo M, Wada S, Sato O, Hsueh J and Fujimoto S. Genetic and functional analyses of polymorphism in the human FSH receptor gene. *Molecular Human Reproduction* 8 893–899, 2002.
65. de-Castro F, Morón FJ, Montoro L, Galán JJ, Hernández DP, Padilla ES, Ramírez-Lorca R, Real LM & Ruiz A. Human controlled ovarian hyperstimulation outcome is a polygenic trait. *Pharmacogenetics* 14 285–293, 2004.
66. Behre H, Greb R, Mempel A, Sonntag B, Kiesel L & Kaltwasser P. Significance of a common single nucleotide polymorphism in exon 10 of the follicle-stimulating hormone (FSH) receptor gene for the ovarian response to FSH: a pharmacogenetic approach to controlled ovarian hyperstimulation. *Pharmacogenetics and Genomics* 15 451–456, 2005.
67. Greb RR, Grieshaber K, Gromoll J, Sonntag B, Nieschlag E, Kiesel L & Simoni M. A common single nucleotide polymorphism in exon 10 of the human follicle stimulating hormone receptor is a major determinant of length and hormonal dynamics of the menstrual cycle. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 90 4866–4872, 2005.
68. Achrekar SK, Modi DN, Desai SK, Mangoli VS, Mangoli RV & Mahale SD. Poor ovarian response to gonadotrophin stimulation is associated with FSH receptor polymorphism. *Reproductive BioMedicine Online* 18 509–515, 2009b.
69. Klinkert, E.R., te Velde, E.R., Weima, S., van Zandvoort, P.M., Hanssen, R.G., Nilsson, P.R. FSH receptor genotype is associated with pregnancy but not with ovarian response in IVF. *Reprod. Biomed. Online* 13, 687–695, 2006.
70. Morón FJ & Ruiz A. Pharmacogenetics of controlled ovarian

hyperstimulation: time to corroborate the clinical utility of FSH receptor genetic markers. *Pharmacogenomics* 11 1613–1618, 2010.

71. Altmaïe S, Hovatta O, Stavreus-Evers A & Salumets A. Genetic predictors of controlled ovarian hyperstimulation: where do we stand today? *Human Reproduction Update* 17 813–828, 2011.
72. La Marca A, Grisendi V, Giulini S, Argento C, Tirelli A, Dondi G, Papaleo E, Volpe A. Individualization of the FSH starting dose in IVF/ICSI cycles using the antral follicle count. *J Ovarian Res.* Feb 6;6(1):11, 2013.
73. Laven JS, Mulders AG, Suryandari DA. Follicle-stimulating hormone receptor polymorphisms in women with normogonadotropic anovulatory infertility. *Fertility and Sterility* 8, 986–992, 2003.
74. Mohiyiddeen, L., Newman, W.G., Cerra, C., McBurney, H., Mulugeta, B., Roberts, S.A., Nardo, L.G. A common Asn680Ser polymorphism in the follicle-stimulating hormone receptor gene is not associated with ovarian response to gonadotrophin stimulation in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 99, 149–155, 2013.
75. Grady R, Alavi N, Vale R, Khandwala M, McDonald SD. Elective single embryo transfer and perinatal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 97:324–331, 2012.
76. Mendoza, C., Ruiz-Requena, E., Ortega, E., Cremades, N., Martinez, F., Bernabeu, R., Greco, E., Tesarik, J. Follicular fluid markers of oocyte developmental potential. *Hum. Reprod.* 17, 1017–1022, 2002.
77. Klingman I & Rosenwaks Z. Differentiating clinical profiles: predicting good responders, poor responders, and hyper responders. *Fertility and Sterility* 76 1185–1190, 2001.
78. Nardo LG, Yates AP, Roberts SA, Pemberton P & Laing I. The relationships between AMH, androgens, insulin resistance and basal ovarian follicular status in non-obese subfertile women with and without polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction* 24 2917–2923, 2009.
79. Simoni M, Nieschlag E, Gromoll J. Isoforms and single nucleotide polymorphisms of the fsh receptor gene: Implications for human reproduction. *Hum Reprod Update* , 8:413 421, 2002.




80. Mohiyiddeen L, Newman WG, McBurney H, Mulugeta B, Roberts SA, Nardo LG. Follicle-stimulating hormone receptor gene polymorphisms are not associated with ovarian reserve markers. *Fertil Steril*. 2012 Mar;97(3):677-81, 2012.
81. Daelemans C, Smits G, de Maertelaer V, Costagliola S, Englert Y, Vassart G, Delbaere A. Prediction of severity of symptoms in iatrogenic ovarian hyperstimulation syndrome by follicle-stimulating hormone receptor Ser680Asn polymorphism. *J Clin Endocrinol Metab*. Dec;89(12):6310-5, 2004.
82. Kuijper EA, Blankenstein MA, Lutikhof LJ, Roek SJ, Overbeek A, Hompes PG, Twisk JW, Lambalk CB. Frequency distribution of polymorphisms in the FSH receptor gene in infertility patients of different ethnicity. *Reprod Biomed Online*.20(5):588-93,2010.
83. Unsal T, Konac E, Yesilkaya E, Yilmaz A, Bideci A, Ilke Onen H, Cinaz P, Menevse A., Genetic polymorphisms of FSHR, CYP17, CYP11A1, CAPN10, INSR, SERPINE1 genes in adolescent girls with polycystic ovary syndrome. *J Assist Reprod Genet*.26(4):205-16,2009.
84. Chian C., In-vitro maturation of immature oocytes for infertile women with PCOS. *Reproductive BioMedicine Online Vol 8. No 5. 547-552, 2004.*
85. Veeck, L.L., The morphological assessment of human oocytes and early conception. In: Keel, B.A., Webster, B.W. (Eds.), *Handbook of the Laboratory Diagnosis and Treatment of Infertility*. CRC Press, Boston, pp. 353–369, 1990..
86. Laan M, Grigorova M, Huhtaniemi IT., Pharmacogenetics of follicle-stimulating hormone action. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 19(3):220-7, 2012.
87. Jun JK, Yoon JS, Ku SY, Choi YM, Hwang KR, Park SY, Lee GH, Lee WD, Kim SH, Kim JG, Moon SY., Follicle-stimulating hormone receptor gene polymorphism and ovarian responses to controlled ovarian hyperstimulation for IVF-ET. *J Hum Genet*. 51(8):665-70, 2006.

88. van Disseldorp J, Franke L, Eijkemans R, Broekmans F, Macklon N, Wijmenga C, et al. Genome-wide analysis shows no genomic predictors of ovarian response to stimulation by exogenous FSH for IVF. *Reprod Biomed Online* ;22:382–8, 2011.
89. Nardo LG, Fleming R, Howles CM, Bosch E, Hamamah S, Ubaldi FM, Hugues JN, Balen AH, Nelson SM., Conventional ovarian stimulation no longer exists: welcome to the age of individualized ovarian stimulation. *Reprod Biomed Online*. Aug;23(2):141-8, 2011.




## FORMLAR

 YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ	<b>YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ          KLİNİK ARAŞTIRMALAR DEĞERLENDİRME          KOMİTESİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ          OLUR FORMU</b>
---	--

Araştırmanın Adı / Protokol Numarası:
---------------------------------------

**Araştırmanın Konusu: Folikül Stimüle Edici Hormon Reseptörü (FSHR) Genindeki Polimorfizmler ile Kontrollü Ovaryen Hiperstimülasyonu cevabı arasındaki ilişkinin araştırılması**

<p><b>Araştırmanın Amacı:</b> Kontrollü Ovaryen Stimülasyonunda, hastalara üriner yada rekombinant FSH(Folikül Stimüle edici Hormon) verilerek overler kontrol altına alınmaktadır. FSH hormonu FSHR reseptörüne bağlanarak çalışır. Bu reseptörde bulunan polimorfizmler, tedavinin yanıtını etkileyebilmektedir. Bu araştırmada FSHR genindeki polimorfizmlerin KOH cevabını nasıl etkilediği araştırılmak istenmektedir.</p> <p><b>Araştırmanın Süresi:</b> 1 yıl</p> <p><b>Araştırmaya Katılan Gönüllü Sayısı:</b>400</p> <p><b>Araştırmada İzlenecek Yöntem:</b>DNA izolasyonu          PCR-RFLP</p> <p><b>Alternatif Tedavi veya Girişimler:</b> ÇALŞMA KAPSAMINDA TEDAVİ / GİRİŞİM YOK</p> <p><b>Araştırma Sırasında Karşılaşılabilecek Riskler:</b> YOK</p> <p><b>Araştırma İlacının Olası Yan Etkileri:</b>™</p> <p><b>Araştırma Süresince 24 Saat Ulaşılabilir Kişi Adı / Soyadı / Telefonu:</b>Biyolog Aşına          BAYRAM 0536 680 37 03- 0216 545 55 55</p>
--

 <p>YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ</p>	<p>YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR DEĞERLENDİRME KOMİTESİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU</p>
--	---

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum.

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı / Soyadı / İmzası / Tarih


Açıklamaları Yapan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekliyse Olur İşlemine Tanık Olan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekliyse Yasal Temsilcinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu asgari olarak yukarıda belirtilen başlıkları içermelidir.

## ETİK KURUL KARARI

 <b>YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ</b>	<b>YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU</b>
---	--

KURUL ADI	YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
AÇIK ADRES	YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ Devlet Yolu Ankara Cad. No: 102-104, 34752 Kozyatağı, İstanbul
TELEFON	0216 578 47 67
E-POSTA	guln.demin@yeditepe.edu.tr

<b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b>	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Folikül Stimüle Edici Hormon Reseptörü (FSHR) Genindeki Polimorfizmler ile Kontrolü Ovaryen Hiperstimülasyonu cevabı arasındaki ilişkinin araştırılması.		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜNÜN KODU			
	EUDRACT NUMARASI			
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVAN/ADI/SOYADI	Doç.Dr.Rukset Altar Prof.Dr.Mustafa Bahçeci Prof.Dr.Turgay İspir		
	SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D Moleküler Tıp Anabilim Dalı		
	KOORDİNATORUN ÜNVAN/ADI/SOYADI	Aşina Bayram		
	KOORDİNATORUN UZMANLIK ALANI	Moleküler Biyolog		
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	Yeditepe Üniversitesi Moleküler tıp A.D Bahçeci Umut Tıp Bebek merkezi Bahçeci Fulya Tıp Bebek Merkezi		
	ARAŞTIRMA MERKEZİNİN AÇIK ADRESİ	Yeditepe Üniversitesi Moleküler tıp A.D Bahçeci Umut Tıp Bebek merkezi Bahçeci Fulya Tıp Bebek Merkezi		
	DESTEKLEYİCİ VE AÇIK ADRESİ	Yeditepe Üniversitesi		
	DESTEKLEYİCİNİN YAŞAL TEMSİLCİSİ VE ADRESİ	Yeditepe Üniversitesi		
	UZMANLIK TEZİ/AKADEMİK AMAÇLI	UZMANLIK TEZİ <input checked="" type="checkbox"/>	AKADEMİK AMAÇLI <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 <input type="checkbox"/>	FAZ 2 <input type="checkbox"/>	FAZ 3 <input type="checkbox"/>
		FAZ 4 <input type="checkbox"/>	BE/BY <input type="checkbox"/>	DİĞER <input type="checkbox"/>
	İLAC ARAŞTIRMA <input checked="" type="checkbox"/>	DİŞİ <input checked="" type="checkbox"/>	Diğer ise belirtiniz: Beliriniz:Polimorfizm çalışması	
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	
			ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

<b>DEĞERLENDİRİLEN BELGELER</b>	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>



## YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama	
		ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>	
	HASTA KARTI/GÜNÜKLÜKLERİ	<input type="checkbox"/>	
	ILAN	<input type="checkbox"/>	
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>	
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>	
	GUVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>	
	DİĞER	<input type="checkbox"/>	

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: <u>314</u>	Tarih: <u>02.04.2013</u>
	<p>Aşına Bayram Koordinatörlüğünde ve Doç.Dr.Rukset Attar, Prof.Dr.Mustafa Bahçeci, Prof.Dr.Turgay İspir sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik bir sakınca bulunmadığına toplantıda katılan etik kurulu üyelerinin oy çokluğu ile karar verilmiştir.</p>	

ETİK KURULU BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Kuruluş ve Çalışma Esasları.
ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADU/SOYADI: Prof. Dr. R. Serdar ALPAN	
ETİK KURULU ÜYELERİ	

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	İlişki *		Katılım **		İmza
Prof. Dr. R. Serdar Alban	Farmakoloji	YÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>MARİTE U</i>
Prof. Dr. M. Reha Cengizler	Pedatri	YÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>MARİTE U</i>
Prof. Dr. Serdar Öztezcan	Biyokimya	YÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>MARİTE U</i>
Doç. Dr. Bekir Ekçi	Genel Cerrahi	YÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>MARİTE U</i>
Prof. Dr. Ferda Özkan	Patoloji	YÜTF	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>MARİTE U</i>
Prof. Dr. Nural Bekiroğlu	Biyostatistik	MÜTF	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>MARİTE U</i>
Doç. Dr. Esra Can Say	Diş Has. Ted.	YÜDF	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>MARİTE U</i>
Doç. Dr. Meriç Köksal	Eczacılık	YÜEF	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>MARİTE U</i>
Prof. Dr. Ali Rıza Okur	Hukuk	YÜHF	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>MARİTE U</i>
Prof. Dr. Başar Atalay	Beyin Cerrahi	YÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>MARİTE U</i>
Yrd. Doç. Dr. Nesrin Sarıman	Göğüs Hastalıkları	MÜTF	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>MARİTE U</i>
Yrd. Doç. Dr. Esin Öztürk Işık	Biyomedikal Mühendisi	YÜTF	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>MARİTE U</i>
Bilge Firuzbay	Sivil Üye/Emekli		E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	<i>MARİTE U</i>

**PATENT HAKKI İZİNİ**



**TELİF HAKKI İZİNİ**



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Aşina	<b>Soyadı</b>	Bayram
<b>Doğ.Yeri</b>	Eskişehir	<b>Doğ.Tar.</b>	17/11/1981
<b>Uyruğu</b>	TC	<b>TC Kim No</b>	28888639372
<b>Email</b>	<a href="mailto:asinabayram@gmail.com">asinabayram@gmail.com</a>	<b>Tel</b>	+971 56 641 56 58

### Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
<b>Doktora</b>		
<b>Yük.Lis.</b>		
<b>Lisans</b>	Boğaziçi Üniversitesi	2003
<b>Lise</b>	Eskişehir Fatih Fen Lisesi	1998

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
<b>1.</b>	Senior Embriyolog	Fakih Fertility Center	2013-
<b>2.</b>	Senior Embriyolog-Laboratuvar Sorumlusu	Bahçeci Umut Tüp Bebek Merkezi	2007-2013
<b>3.</b>	Senior Embriyolog	Alman Hastanesi	2004-2007

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	İyi	İyi		

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
<b>LES Puanı</b>			
<b>(Diğer) Puanı</b>			

### Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Ofis Programları	İyi

## Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

- 1. Morphokinetic analysis of cleavage stage embryos and its relationship to aneuploidy in a retrospective time-lapse imaging study.**

Chawla M., Fakih M., Shunnar A., Bayram A., Hellani A., Perumal V., Divakaran J., Budak E., Journal of Assisted Reproduction and Genetics , Volume 32, Issue 1, pp 69-75,2015.

- 2. Does extensive sperm search and recovery affect ICSI outcomes in men with non-obstructive azoospermia?**

M. Serdarogullari, A. Bayram, M. E. Bakircioglu, U. Ulug, H. Erden, M. Bahceci.

Bahceci Umut IVF Center, Istanbul, Turkey,

Bahceci Fulya IVF Center, Istanbul, Turkey

Poster Presentation in ASRM 2012

- 3. Comparison of morphokinetic parameters between euploid and aneuploid embryos by time-lapse monitoring.**

A. Bayram, H.N. Ciray, O. Sahin, O. Okutman-Emonts, M. Bahceci.

Oral Presentation in ESHRE 2012

- 4. Female offsprings have an advanced mitotic cell cycle starting from the initial cleavage.**

M. Serdarogullari, H.N. Ciray, S. Yayla, A. Bayram, M. Bahceci.

Oral Presentation in ESHRE 2012

- 5. Infertility treatment of men with hypogonadotropic hypogonadism: Combination of medical therapy with intracytoplasmic sperm injection.**

O. Sahin, E. Bakircioglu, M. Serdarogullari, A. Bayram, S. Yayla, U. Ulug, S.B. Tosun, M. Bahceci.

Poster presentation, ESHRE 2012

- 6. MicroTESE and ICSI outcomes of azoospermic men with hypogonadotropic hypogonadism after one year combined HCG and FSH treatment.**

E. Bakircioglu, U. Ulug, S. Tosun, M. Serdarogullari, A. Bayram, H.N. Ciray,

M. Bahceci.

Poster presentation, ESHRE 2012

**7. Klinefelter syndrome: Does it confer a bad prognosis in treatment of nonobstructive azoospermia?**

E. Bakircioglu, U. Ulug, H.F. Erden, S. Tosun, A. Bayram, H.N. Ciray, M. Bahceci.  
Fertil Steril, 2011 Apr; 95(5):1696-9

**8. Preliminary study of embryo development following assessment of male and female gametes.**

H.N. Ciray, O. Coban, A. Bayram, A. Kizilkanat, M. Bahçeci.  
Reprod Biomed Online. 2008 Jun; 16(6):875-80.PMID: 18549699

**9. IVM ve HTF bazlı solüsyonlarda inkübe edilen insan immatür oositlerinin döllenme ve gelişimlerinin karşılaştırılması.**

A. Bayram, O. Şahin, M. Çoban, H.N. Çıray, U. Uluğ, S. Tosun, M. Bahçeci.  
KED 2011 Poster Presentation

**10. Dinamik embriyo izleme sistemi ile cerrahi yöntemle sperm bulunan hastalar ile ejakülat spermi kullanılan hastaların, döllenme ve ilk yarıklanma sürelerinin karşılaştırılması.**

A. Bayram, O. Şahin, M. Çoban, H.N. Çıray, U. Uluğ, S. Tosun, M. Bahçeci.  
Üreme Tıbbı Derneği Kongresi 2011, Oral Presentation

**11. Blastocyst transfer experience of a single IVF center using a new sequential medium for the first 10 months.**

A. Bayram, H. Aslan, G. Yurtdaş, O. Şahin, H.N. Çıray, S. Tosun, U. Uluğ, M. Bahçeci.  
Tajev 2011, Poster Presentation

**12. Comparison of pregnancy and implantation rates of frozen-thawed embryos fertilized with fresh or frozen-thawed testicular sperm and fresh ejaculated sperm of normospermic and oligospermic patients.**

A. Bayram, O. Şahin, M. Çoban, E. Bakircioglu, H.N. Çıray, U. Uluğ, S. Tosun, M. Bahçeci. ASRM 2011 Poster Presentation

- TC Sağlık Bakanlığı, Embryoloji Sertifikası 2005
- ESHRE, Certified Clinical Embryologist in 2012
- Abu Dhabi Health Authority, IVF Technologist Lisence in 2014

**Özel İlgi Alanları (Hobileri):** Sinema izlemek, Kitap okumak