

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANA BİLİM DALI**

**İN VİTRO FERTİLİZASYON SIKLUSLARINDA OVERYAN
YANITIN PREDİKSİYONUNDA ANTI-MÜLLERYAN HORMON
VE SİTOKİNLERİN YERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Raşit İlhan**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Zehra Sema Özkan**

**ELAZIĞ
2014**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Ekrem Sapmaz

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Z. Sema Özkan

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

..... _____
..... _____
..... _____
..... _____
..... _____

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca yetiŐmemde emeği olan Anabilim Dalı BaŐkanımız Prof. Dr. Ekrem SAPMAZ'a,

Uzmanlık tezimin hazırlanmasında bana baŐtan sona titizlikle yol gÖsteren ve her aşamada değerli yardımlarını esirgemeyen tez danıŐmanım Yrd. Doç.Dr. Z. Sema ÖZKAN'a,

Eđitimim süresince teorik ve pratik ağıdan yardımlarını gördüğüm tüm hocalarıma teşekkür ederim. Ayrıca birlikte çalıŐmaktan mutluluk duyduğum tüm araştırma görevlisi, hemŐire ve personel arkadaşlarıma, tezimin hazırlanma aşamasında büyük emekleri olan Fırat Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tüp Bebek Merkezi'nin tüm çalıŐanlarına,

Bugünlere gelmemde büyük pay sahibi olan beni maddi ve manevi olarak hiçbir zaman yalnız bırakmayan aileme

Sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Kontrollü overyan hiperstimülasyon (KOH) tedavilerine başlamadan önce overyan yanıtın öngörülmesi; siklus iptallerini azaltır ve hekime uygun tedavi stratejileri geliştirme imkanı sağlar. Anti-mülleryan hormon (AMH) seviyeleri preantral, geç pre-antral ve preovulatar folliküllerde oositin gelişim evreleriyle paralel olarak düzenlenir ve intra-interfolliküler koordinasyonda görevlidir. Kemik morfogenetik protein-15 (BMP-15); primordial-primer, preantral-antral follikül geçiş aşamasında ve progesteron (P4) sentezini baskılayarak prematür lüteinizasyon inhibisyonunda görev alır.

Bu çalışmada; AMH ve BMP-15'in KOH yanıtının öngörülmesindeki yerini değerlendirmeyi amaçladık. Bu prospektif, randomize, kesitsel çalışma Fırat Üniversitesi Hastanesi Tüp Bebek Merkezi'nde 01.06.2012-01.06.2013 tarihleri arasında yapıldı. Hastalar gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) agonist (G1; n=38), GnRH antagonist (G2; n=44), olarak 2 gruba ayrıldı. Hastalardan adetın 3. günü (D3) ve oosit toplama günü (OPU) 8 mL kan; OPU günü 8 mL follikül sıvısı alındı. Kanlardan santrifüj sonrası elde edilen serumlar ve follikül sıvıları -20 °C'de bir defada çalışılmak üzere saklandı. AMH ve BMP-15 ölçümleri kantitatif olarak ELİSA yöntemi ile gerçekleştirildi. Hastaların ortalama yaşı; G1'de G2'den anlamlı olarak düşük iken ($p<0,05$); antral follikül sayıları (AFS), human koryonik gonadotropin (hcg) günü östradiol (E_2) düzeyleri ve toplanan oosit sayıları anlamlı olarak yüksek idi ($p<0,05$). G1 ve G2'de D3, OPU kanı ile folliküler sıvı BMP-15 düzeyleri ile D3 ve OPU kanı AMH düzeyleri benzer bulundu ($p>0,05$). Follikül sıvısı AMH düzeyi G2'de anlamlı olarak yüksek idi ($p<0,05$).

Her bir grup kendi içinde kıyaslandığında; D3, OPU kanı AMH ve follikül sıvısı AMH düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0,017$). D3 BMP-15 düzeyi ile OPU BMP-15 düzeyleri benzer iken ($p >0,017$), follikül sıvısı BMP-15 düzeyleri ile aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0,017$). D3 ve OPU kanı AMH düzeyleri ve OPU kanı BMP-15 düzeyleri ile fertilizasyon oranları (FR) arasında anlamlı negatif korelasyon tespit edildi.

Sonuç olarak; bizim sonuçlarımızın tartışılabilmesi için AMH ve BMP-15 düzeylerinin inceleneceği daha geniş popülasyonlu çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: in vitro fertilizasyon, over rezervi, BMP-15, AMH

ABSTRACT

IMPACT OF ANTIMULLERIAN HORMONE AND CYTOKINES IN PREDICTION OF IN VITRO FERTILIZATION OUTCOME

Prediction of ovarian response before starting treatment of controlled ovarian hyperstimulation (COH) reduce cycle cancellations and provides the physician the opportunity to develop appropriate treatment strategies. Anti-mullerian hormone (AMH) levels are arranged in paralel with the development phases of oocytes in the pre-antral, late pre-antral and preovulatory follicles and it is charged in coordination with follicular development. Bone morphogenetic protein-15 (BMP-15) is involved in transition of phases of primordial-primary, pre-antral-antral follicle and inhibites premature luteinizing by the inhibition of the synthesis of progesterone (P4).

In this study; we aimed to evaluate the importance of AMH, and BMP-15 for prediction ovarian response. This prospective, randomized, cross-sectional study was carried out with 80 patients during 01.06.2012-01.06.2013 in IVF Center of Firat University Hospital. Patients were divided into two groups as fallows; gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist (G1, n = 38) and GnRH antagonist (G2, n=44). Approximately eight ml of peripheral venous blood was collected from patients on the third day of the menstrual cycle and on the day of the collected samples pick oocyte up (OPU) and also follicular fluid was collected during OPU. Bloods were centrifuged and the serum samples were stored at -20 °C until analysis. Analysis of AMH, and BMP-15 were performed quantitatively by ELISA method. The mean age of the patients was significantly lower in G1 than G2 ($p < 0.05$); antral follicle counts (AFC), estradiol (E2) levels on day of human chorionic gonadotropin (HCG) and the number of oocytes collected were significantly higher. D3 and with the blood of the OPU and levels of BMP-15; D3 and AMH levels of OPU blood were similar in G1 and G2 ($p > 0,05$). Follicle fluid AMH levels were significantly higher in G2 ($p < 0,05$).

When each group was compared with each other, the difference was statistically significant between D3, level of AMH of OPU blood and level of AMH of follicular fluid ($p < 0,017$). While the levels of OPU BMP-15 were similar with the level of D3 BMP-15 ($p > 0,017$), the difference with levels of BMP-15 in follicular

fluid between them were statistically significant ($p < 0.017$). The significant negative correlation was identified between fertilization rates (FR) and blood level of AMH on D3 and OPU, blood level of BMP-15 on OPU.

In conclusion to discuss our results, the broader populated studies which examined of the levels of AMH and BMP-15 are needed.

Key Words: in vitro fertilization, ovarian reserve, BMP-15, AMH

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
KISALTMALAR LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	5
1.1.1. İnfertilite Nedenleri	5
1.1.1.1. Oosit üretimindeki anormallikler	5
1.1.1.2. Anatomik faktörler	5
1.1.1.3. İmmunolojik faktörler	6
1.1.1.4. Genetik nedenler	6
1.1.1.5. Sperm üretimindeki anormallikler	6
1.1.1.6. Açıklanamayan infertilite:	6
1.1.2. İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi	6
1.1.3. Overyan Rezerv Testleri	7
1.1.3.1. Statik testler	7
1.1.3.1.1. Yaş	7
1.1.3.1.2. Bazal Serum FSH	7
1.1.3.1.3. FSH/LH Oranı	8
1.1.3.1.4. İnhibin-B	9
1.1.3.1.5. Bazal Serum E ₂	9
1.1.3.1.6. Bazal Antral Follikül Sayısı	9
1.1.3.1.7. Overyan Hacim	10
1.1.3.1.8. Overyan Stromal Kan Akımı	10
1.1.3.1.9. Over Biyopsisi	11
1.1.3.1.10. Follikül sıvısı	11

1.1.3.1.11. AMH	13
1.1.3.1.12. BMP 15	16
1.1.3.2. Dinamik Testler	18
1.1.3.2.1. CCCT	18
1.1.3.2.2. GAST	18
1.1.3.2.3. EFORT	18
2. GEREÇ VE YÖNTEM	20
2.1. Çalışma Populasyonu	20
2.2. Çalışma Düzeni	20
2.2.1. İVF Öncesi Hasta Medikasyonu ve Takibi	20
2.2.2. Yumurta Toplanması, Embriyo Gelişimi ve Embriyo Transfer İşlemleri	21
2.2.3. Hormon Ölçümleri	22
2.2.4. Gebelik Tanımı ve Tespiti	22
2.2.5. İstatistik Değerlendirme	23
3. BULGULAR	24
4. TARTIŞMA	31
5. KAYNAKLAR	41
6. ÖZGEÇMİŞ	57

TABLÖLİSTESİ

Tablo 1. Çalışmadaki tüm çiftlerin demografik ve klinik özellikleri	24
Tablo 2. Grupların demografik ve klinik özelliklerinin kıyaslanması	25
Tablo 3. Gruplara göre spermogram değerleri	26
Tablo 4. Grupların Overyan Stimülasyon ve Embriyoloji Özellikleri	26
Tablo 5. Grupların AMH ve BMP-15 düzeyleri	27
Tablo 6. AMH ve BMP-15'in birbirleriyle ve klinik parametrelerle korelasyon ilişkisi	28
Tablo 7. AMH ve BMP-15'in fertilizasyon ve implantasyon üzerine etkisi	28

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. AMH'nın follikül gelişimi üzerine etkisi	14
Şekil 2. Adetin 3. günü OPU günü AMH venöz kan düzeyleri ve Follikül sıvısı AMH düzeylerinin karşılaştırılması	29
Şekil 3. D3 ve OPU BMP-15 düzeyleri ve follikül sıvısı BMP-15 düzeylerinin karşılaştırılması	30

KISALTMALAR LİSTESİ

AFS	: Antral follikül sayısı
AMH	: Anti-mülleryan hormon
AMHR	: Anti-mülleryan hormon reseptör
BMP-15	: Kemik morfogenetik protein-15
CC	: Klomifen sitrat
CCCT	: Klomifen sitrat challenge test
D3	: Adetin üçüncü günü
E₂	: Östradiol
EFORT	: Ekzojen FSH overyan rezerv test
ET	: Embriyo transferi
FR	: Fertilizasyon oranı
FSH	: Folliküler stimulan hormon
GAST	: GnRH agonist stimülasyon test
GCT	: Granüloza hücreli tümör
GDF-9	: Oosit kaynaklı büyüme farklılaşma faktörü
GnRH	: Gonadotropin salgılatıcı hormon
hCG	: İnsan koryonik gonadotropin
hMG	: İnsan menapozal gonadotropim
HSG	: Histerosalpingografi
ICSI	: İntrastoplazmik sperm enjeksiyonu
IUD	: İntrauterin araç
İVF	: İn vitro fertilizasyon
KOH	: Kontrollü overyan hiperstimülasyon
LH	: Luteinizan hormon
OAT	: Oligoastenoteratospermi
OHSS	: Overyan hiperstimülasyon sendromu
OPU	: Oosit toplama
P4	: Progesteron
POF	: Prematür overyan yetmezlik
TV USG	: Transvajinal ultrason
VKİ	: Vücut kitle indeksi

WHO : Dünya Sağlık Örgütü
YÜT : Yardımcı üreme teknikleri

1. GİRİŞ

İnfertilite, bir yıllık korunmasız ilişkiye rağmen konsepsiyonun gerçekleşmemesi olarak tanımlanmaktadır. Daha önce hiç gebelik oluşmamışsa primer infertilite, canlı doğumla sonuçlansın yada sonuçlanmasın, en az bir gebelik oluşmuşsa, sekonder infertilite olarak adlandırılır. Sağlıklı çiftlerin yaklaşık %85-90'ında ilk bir yıl içerisinde gebelik gerçekleşmektedir. Dolayısıyla infertilite çiftlerin %10-15'ini ilgilendiren bir sorundur (1). Bir menstrüel siklusta, gebe kalabilme olasılığına fekundabilite, bir siklusta canlı doğuma kadar gidebilecek gebelik oluşma olasılığına ise fekundite denir. Fekundabilite fertilitate potansiyeline sayısal baz oluşturması nedeni ile değerli ve bilimsel bir kavramdır. Ayrıca çeşitli fertilitate tedavilerinin yeterliliğinin sayısal olarak tahmin edilebilmesini ve optimal tedavinin planlanmasını sağlar. Sağlıklı çiftlerde yapılan çalışmalarda ilk üç ay boyunca fekundabilite %25 iken, sonraki 9 ayda %11 olarak bulunmuştur. On iki ayın sonunda gebelik elde edemeyen çiftlerde ise tedavi edilmediği takdirde bu oran %0 ile %4 arasındadır (2).

Yardımcı üreme tekniklerinin (YÜT) tarihsel gelişimini inceleyecek olursak; 1968 yılında İngiliz Biyolog Edwards, İngiltere'de pelvik laparoskopi tekniğine öncülük eden jinekolog Patrick Steptoe ile tarihi bir işbirliğine başlamıştır. Manchester yakınlarında Oldham General Hospital'daki klinik pratiğinde Steptoe, tubal hasar nedeniyle infertil olan hastalardan laparoskopik olarak preovulatar oositleri toplayabilmiştir. Bob Edwards, Jean Purdy ve Steptoe in vitro fertilizasyon (İVF) sistemini optimize etmek için kültür ortamı üzerinde çalışmış ve fertilizasyon için daha çok sayıda oosit elde etmek amacıyla ilaçlarla overyan stimülasyonu denemişlerdir. 1970 yılında insan embriyosundan blastokist aşamasına gelişimi gözlemledikten sonra, in vitro olarak elde edilen embriyoyu hasta uterusuna re-implante etmeye karar vermiş, ilk insan embriyo transferini 1972 yılında başarmışlardır. Sonuç olarak 1978 yılında ilk İVF bebeğinin doğması ile başarıya ulaşmışlardır (3, 4). Haziran 1978'de Lousie Brown'un doğumu ile YÜT alanında yeni bir dönem başlamıştır. Elde ettikleri başarılı gebelik ve canlı doğumlar sayesinde Edwards ve Steptoe, 1980-1990'lı yıllarda İVF tedavisinin dünya çapında hızla yayılmasını sağlamışlardır. Donmuş ve çözölmüş embriyo transferi ile ilk doğum ise 1984-1985'te gerçekleşmiş ve sperm gibi embriyoların da

kriyopreservasyonu rutin uygulamaya girmiştir. Steroid hormonlar ve bunların reproduktif rollerinin tanımlanması gibi reproduktif endokrinolojideki gelişmeler özellikle 20. yüzyılın ilk yarısında reproduktif biyolojideki araştırmalara önemli katkıda bulunmuştur. 1930-1940'lı yıllarda follikül büyümesi ve luteinizasyondan sorumlu olan pituiter hormonlar tanımlanıp foliküler stimulan hormon (FSH) ve luteinizan hormon (LH) tedavi kombinasyonlarının overyan follikülerde maturasyonu sağladığı ve ovulasyonu tetiklediği gösterilmiştir. 1950'lerin başında postmenapozal kadınların idrarında gonadotropinlerin yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu keşfedilmiş ve geliştirilen üriner preparatlar anovulatuvar hastalarda ovulasyon indüksiyonu için kullanılmıştır.

Yetmişli yıllardan itibaren uygulanmaya başlanan İVF ve 1992'den itibaren uygulanan intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) yöntemleri erkek faktör infertilitesi başta olmak üzere günümüzde çeşitli nedenlere bağlı infertilitede umut olmuştur (5). YÜT kullanılacak hastalarda KOH ile çoklu follikül gelişmesi ve bunun sonucunda çok sayıda oosit ve embriyo eldesi ile YÜT başarısını arttırmak amaçlanmıştır. Ne var ki, kontrollü overyan hiperstimülasyon (KOH) uygulanan siklularda %20'lere varan prematür LH pikinin oluşmasının gebelik sonuçlarını olumsuz etkilediği görülmüştür. Pituiter bez GnRH reseptörleri üzerinde desensitizasyona neden olarak endojen LH artışının engellenebileceğinin bulunması ile GnRH analoglarının kullanıma girmesi, bu prematür LH piki oluşumunu %2'lere düşürmüş, gebelik oranlarını arttırmıştır (6). Günümüzde gonadotropinlerle beraber GnRH agonistleri en sık reçete edilen tedavi ajanlarıdır. Agonist tedavi protokolleri arasında en sık kullanılanı uzun protokoldür. Ancak, bu tedavi protokolü 2-3 haftalık bir desensitizasyon süresi gerektirdiğinden tedavi süresi uzun olmakta, ihtiyaç duyulan gonadotropin miktarı artmakta ve over hiperstimülasyon sendromu (OHSS) riski artmaktadır. Hastalar desensitizasyon periyodunda sıcak basması, baş ağrıları, kanama ve vajinal kuruluk gibi yan etkilere maruz kalmaktadırlar. GnRH zincirinde aminoasitlerin multiple noktalarda başka moleküllerle yer değiştirmesi ile elde edilen ve reseptöre yüksek afinite ile bağlanıp endojen gonadotropin salınımını engelleyen GnRH antagonistlerinden beklenti oldukça fazla olmuş, olumlu farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri ile agonistlerin yerini alabilecekleri düşünülmüştür. İlk flare up etkisinin olmaması, uzun desensitizasyon süresi gerektirmemesi ve böylece

östrojen eksikliği semptomları yaşanmaması, kısa sürede yeterli LH baskılaması sağlaması, etkisinin doza bağımlı olması ve antagonist etkinin GnRH agonisti ile hızlıca geri döndürülebilmesi antagonistleri agonistlere üstün kılan özellikleridir (7, 8). Ayrıca yapılan çalışmalar tedavi süresinin daha kısa ve kullanılan gonadotropin dozunun antagonist protokolde daha az olduğu yönündedir (8, 9). Yapılmaya devam edilen ve yapılacak çalışmalarla antagonist tedavisinin agonist protokolu kadar gebelik sonuçları açısından etkili olduğu gösterilebildiğinde, antagonistler bu avantajlı etkileri ile klinik kullanıma daha sık girebilecektir.

Son yirmi yılda kadınların eğitim düzeylerinin ve kariyer isteklerinin artması, doğum kontrol yöntemlerinin daha yaygın kullanılması nedeniyle gebelik yaşı yükselmiştir (10, 11). Yapılan çalışmalar sonucunda doğum kontrol yöntemi kullanmayan doğal populasyonda fertilitenin, 30 yaşından itibaren azalmaya başladığı, 30'lu yaşların ortalarında azalmanın hızlandığı ve ortalama 41 yaşında yok denecek kadar azaldığı gözlenmiştir (11, 12). Bir yıllık korunmasız ilişki ile kendiliğinden gebe kalamayan hasta yüzdesi yirmili yaşlarda %5 iken, 35 yaş üstünde %30'a kadar çıkmaktadır (11). Yaş arttıkça oosit miktarı ve kalitesindeki azalma fertilitiyi azaltan en önemli etkidir. Normal popülasyonda gebe kalma yaşının artmasına paralel olarak YÜT'den faydalanan olgularda da düşük over rezervli, ileri yaş hastaların oranlarıda artmaktadır. Azalmış over rezervi spontan sikluslarda fekunditeyi azalttığı gibi YÜT ile konsepsiyon sağlanmaya çalışılan olgularda da başarıyı azaltmaktadır. Tedavilerin maliyeti, yan etkileri, hasta açısından zorlukları göz önüne alındığında uygun hasta seçimi ve uygun prognoz belirlenmesinin oldukça önemli olduğu görülmektedir. Tedaviye başlanmadan önce overyan yanıtın ön görülmesi ile siklus iptalleri, OHSS oranları azalmakta aynı zamanda hekime uygun tedavi stratejileri geliştirme ve oosit donasyonu gibi alternatif yöntemlere yönelmeyi sağlayabilmektedir.

Gonadotropinlerin kullanımı sonucu multifoliküler gelişimi takiben çok sayıda embriyo transferi (ET) YÜT başarısını artırmaktadır. Ancak %10 oranında tedaviye rağmen uygun sayıda follikül gelişimi olmayan ve 'kötü overyan yanıtı' olarak adlandırılan bir hasta grubu bulunmaktadır (13). Kötü overyan yanıtı bu hasta grubunda daha fazla siklus iptali, yetersiz veya az sayıda follikül gelişimi, düşük veya yavaş artan E₂ düzeyleri ve düşük gebelik oranları bulunmaktadır (14). Kötü

overyan yanıtın literatürde ortak bir tanımı olmamasına rağmen nasıl tanımlanırsa tanımlansın İVF başarısını ve gebelik oranlarını düşürdüğü gözlenmiştir. Bazal serum FSH, E₂, inhibin-B, LH/FSH oranı, overyan hacim, antral follikül sayısı, overyan stromal kan akım hızı, klomifen sitrat challenge test (CCCT), GnRH agonist stimülasyon test (GAST), ekzojen FSH overyan rezerv test (EFORT) over rezervini göstermek ve KOH'a verilen yanıtı ön görmek için son iki dekada kullanılmaya başlanan over rezerv testleridir. Günümüzde klinik olarak kullanılan testlerden hiçbirisinin tek başına over yanıtını öngörmeye yeterli olmadığı düşünülmektedir. Literatürde İVF tedavisine başlanan ve over rezerv testleri normal olan bir grup hastada over yanıtının beklendiği gibi olmaması sonucunda siklus iptalleri izlenmektedir. Bu olgularda AMH ve inhibin-A düzeylerinin geleneksel over rezerv testlerinden daha etkin olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. AMH'nın toplanan oosit sayısının yanında, oosit kalitesi ile ilişkili olduğunda düşünülmektedir. AMH düzeyleri yüksek olanlarda fertilizasyon oranının yüksek, abort oranında düşük olduğu gösterilmiştir (15).

Kemik morfojenetik proteinlerinden BMP-15, X'e bağlı olarak oositte sentezlenir (16). Primordial folliküllerin primer folliküle aktive olmaları siklik bir hadisedir, menapoza kadar devam eder ve bu aşama hormon bağımsızdır (17). Bu aktivasyonda TGF- β ailesinin bazı üyeleri rol almaktadır. Ovaryan stroma ve teka hücrelerinden salınan BMP-4 ve BMP-7 ile oosit kaynaklı büyüme farklılaşma faktörü (GDF-9) bu olayda rol oynamaktadır (18-22). Primordial-primer follikül geçişinde olduğu gibi preantral-antral follikül gelişiminde de aktivinler, BMP-4, BMP-7, GDF-9 ve BMP-15 rol almaktadır. BMP-15 primordial-primer follikül gelişim aşamasında ve preantral-antral follikül geçiş aşamasında (hormon bağımsız) görev aldığı, gonadotropin ile olan P4 sentezini baskılayarak prematür lüteinizasyonu inhibe ettiği (23) için İVF sikluslarında overyan yanıt ve overyan rezerv belirteci olarak kullanılabilir.

Bu çalışmada amaç İVF sikluslarında agonist ve antagonist tedavi uygulanan gruplarda D3 ve oosit toplama (OPU) günü alınan periferik venöz kan örnekleri ve follikül sıvısındaki AMH ve BMP-15 düzeylerinin overyan yanıtın prediksyonundaki rolünü araştırmaktır.

1.1. Genel Bilgiler

1.1.1. İnfertilite Nedenleri

Gebelik, sağlıklı oosit ve sperm üretimi, reproduktif traktusta gametlerin bir araya gelebilmesi, oluşan embriyonun uterin kaviteye ulaşip endometriyuma yerleşmesi ile gerçekleşir. Bu aşamalardaki bozukluklar subfertilite olarak karşımıza çıkar. İnfertil çiftlerdeki reproduktif hastalıkların dağılımı bilimsel verilerden ziyade tarıfsel gözlemlere ve hastalıklar hakkındaki varsayımlara dayanmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) standart tanılma protokolleri kullanarak oluşturduğu verilere göre infertil çiftlerin; %37'sinde kadın faktörü, %8'inde erkek faktörü, %35'inde her iki faktör birden bulunmuş, %5'inde de nedeni belirlenememiştir. Hastaların %15'i gözlem sırasında gebe kalmıştır (2).

Fekundabiliteyi etkileyen durumlar 5 ana başlık altında toplanabilir:

-Sağlıklı oosit üretimindeki anormallikler

-Sperm, oosit ya da embriyonun transportunu engelleyen reproduktif sistem anormallikleri

-İmplantasyon aşamasındaki anormallikler (erken embriyonel gelişim ve embriyo endometriyum etkileşimi)

-Diğer nedenler (immünojenik, genetik nedenler ve açıklanamayan infertilite)

-Sperm üretimindeki anormallikler

1.1.1.1. Oosit üretimindeki anormallikler

Kadın infertilitesinin en sık nedeni olup (%27), oosit üretimi ile ilgili en sık rastlanılan durumlar anovulasyon, oligoovulasyon ve over folliküllerinin yaşlanmasıdır.

1.1.1.2. Anatomik faktörler

Tubal faktör: İnfertil çiftlerin yaklaşık %20'sinde tubal ya da peritoneal faktör sorumludur. Pelvik inflamatuvar hastalıklar, apendisit, septik abortus, önceki tubal cerrahi, pelvik enfeksiyona neden olan intrauterin araç (IUD) kullanımı, C. Trachomatis'in sebep olduğu subklinik pelvik enfeksiyonlar tubal hastalığa katkıda bulunurlar. Tubal durumu değerlendirmek için en çok kullanılan testler histerosalpingografi (HSG) ve laparoskopidir.

Servikal faktör: Normal servikste salgılanan mukus spermin geçişini kolaylaştıran özelliklere sahiptir. Konjenital malformasyon ve servikal travma normal mukus üretimini engeller.

Endometriyozis: İnfertil kadınlarda laparoskopi ile saptanan endometriyozis prevalansı fertil kadınlardan fazladır (%21-47 vs %5). Tubal yapışıklığa neden olmamış minimal endometriyozisin infertilite nedeni olup olmadığı netlik kazanmamıştır.

Uterin leiomyomlar:

1.1.1.3. İmmunolojik faktörler

İnfertil kadınlarda otoantikor oranı fertil kadınlardan daha yüksek bulunmuştur (%15-45 vs %1-4) (24).

1.1.1.4. Genetik nedenler

Turner sendromu, X kromozomu translokasyon ve delesyonu, fertilite ve fekundabilite ile ilgili genlerdeki mutasyonlar (FSH, LH reseptör mutasyonu vb.), galaktozemi gibi enzim eksiklikleri infertilite nedenleri arasındadır (24).

1.1.1.5.Sperm üretimindeki anormallikler

1.1.1.6. Açıklanamayan infertilite:

İnfertilite değerlendirmesinde spesifik neden tespit edilemeyen duruma açıklanamayan infertilite denir. Bu hastaların tedavi edilmediği taktirde 3 yıl içinde gebe kalma oranı %30'dur.

1.1.2. İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi

a) Anamnez:

- Yaş,
- İnfertilitenin süresi,
- Primer ya da sekonder olup olmadığı ve varsa önceki gebeliklere yönelik anamnez alınması,
- Menstrüasyon düzeni ve son adet tarihi,
- Sistemik hastalık varlığının ve özellikle galaktore, hirsutismus gibi şikayetlerin sorgulanması,

- Sigara ve alkol kullanımının sorgulanması,
- Geçirilmiş operasyon varlığı,
- Daha önce infertilite tedavisinin uygulanıp uygulanmadığı, uygulandı ise kullanılan ilaçlar, bunlara alınan cevap ve sonuçlarının sorgulanması gerekir.

b) Fizik muayene:

c) Laparoskop ve histeroskopi (24, 25):

d) Erkek hastaların değerlendirilmesi:

1.1.3. Overyan Rezerv Testleri

1.1.3.1. Statik testler

1.1.3.1.1. Yaş

Over rezervi yaşla beraber azalmaktadır. Genel infertil popülasyonda klomifen sitrat (CC) testleriyle over rezervi normal olarak saptanan olgularda bile, yaş; gebelik hızlarında önemli bir prognostik faktör olmaya devam etmektedir. Over rezervi azalmış olgularda gebelik oranı yaştan bağımsız olarak düşüktür (26). Templeton ve ark. (27) tarafından yapılan çok merkezli çalışmada İVF gebeliklerinde başarının 30 yaşından sonra progresif olarak azaldığı, 35 yaşından sonra azalmanın daha belirgin olduğu gösterilmiştir. Over rezervinin azalmasında benzeri bir eğilim başka bir çalışmada gösterilmiş ve folliküler atrezinin özellikle 38 yaşından sonra hızlandığı belirlenmiştir (28). YÜT'de gebelik başarısını göstermesi açısından yaş, bazal FSH'dan daha düşük başarı oranına sahiptir (29). Buna karşın 1045 hastayla yapılan bir retrospektif analiz sonucunda İVF tedavisindeki genç hastalarda yaşın bazal FSH'dan daha yüksek başarıya sahip olduğu gösterilmiştir (30). Less ve ark. (31) 1087 İVF siklusu ile yapılan çalışmada; 471 adet 40 yaş üstü olgu ile 616 adet 40 yaş altı olgu karşılaştırdığında ilk gruptaki gebelik oranlarının anlamlı olarak düşük olduğu gözlenmiştir (%1.3 vs %28.2). Kadın yaşı 42'yi geçtiğinde gebelik oranları düşüktür ve 45 yaş üstünde ise gebelik tespit edilmemiştir (31).

1.1.3.1.2. Bazal Serum FSH

En sık kullanılan over rezerv testlerinden birisidir. Bazal FSH; inhibin, E₂ gibi folliküllerden sentezlenen maddelerin hipofizi etkilemesi sonucunda değişiklik

gösteren indirek bir göstergedir. Van Montfrans ve ark. (32) tarafından yapılan çalışmada 40 yaş altında FSH>10 mIU/mL ile FSH<10 mIU/mL olan 50 subfertil hasta 3-7 yıl boyunca fekunditeleri açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Bu çalışma sonuçlarına göre bazal FSH'nın özellikle ovulatuvar menstural siklusu olan olgularda gebelik oranını ön görmeye etkisinin az olduğu sonucuna varılmıştır.

Bazal FSH seviyeleri YÜT sırasında toplanan oosit sayısı ve iptal edilen siklusları ön görmeye iyi bir belirleyicidir. Yaş arttıkça toplanan oosit sayısından ziyade implantasyon ve gebelik oluşum hızı azalırken; FSH'nın artışı ile toplanan oosit sayısı azalmakta, iptal edilen siklus sayısı artmaktadır. Bazal FSH, oosit kalitesini yaş kadar iyi göstermemektedir (33). Toner ve ark. (34) tarafından 1478 İVF siklusunda yapılan çalışmada FSH düzeyi arttıkça siklus iptal oranlarının arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmalara rağmen İVF tedavisinde bazal FSH'yı değerlendiren meta-analiz sonuçlarına göre; FSH'nın kötü over yanıtını gösterme etkinliği orta derece, gebelik hızını gösterme etkinliği düşük bulunmuş ve İVF tedavilerinde sonucu ön görmeye rutin olarak kullanılması önerilmemiştir (35). FSH reseptörlerinin farklı genotipte olmaları, bazal FSH düzeyi ve gonadotropinlere verilen cevabın farklı olmasında rol oynayan faktörlerden biridir. FSH reseptör proteinin 680. pozisyonunda bulunan asparginin serin ile yer değiştirmesi sonucunda reseptör aktivitesi azalmakta, over rezervi normal olmasına rağmen FSH düzeyleri yüksek bulunabilmektedir (36, 37).

Kırkyaş üstünde FSH'nın pozitif prediktif değeri infertilite prevelansının yüksek olması nedeniyle daha fazladır. Genç hastalarda bu değer daha düşüktür ve anormal FSH seviyeleri olan birçok olgu yanlış bir şekilde tedavi sonucunda gebelik oluşamayacak grup içinde değerlendirilmektedir (38).

Bazal FSH; inhibin, aktivin, E₂, folistatin gibi birçok faktör tarafından düzenlenen over rezervinin indirek göstergesidir. Sikluslar arası değişkenliğinin fazla olması, laboratuvarlar arasında kullanılan antikor testleri arasındaki farklılıklar ve belirgin bir eşik değerinin olmaması klinik değerini azaltmaktadır (39, 40).

1.1.3.1.3. FSH/LH Oranı

FSH/LH oranı İVF tedavisinde overyan yanıtın ön görülmesi amaçlı kullanılabilir. Artmış oranın FSH düzeyi normal olmasına rağmen kötü over

rezervinin göstergesi olduğu düşünülmektedir (41). Mukherjee ve ark. (42) tarafından yapılan retrospektif çalışmada 41 yaş altında FSH <15 mIU/mL olanlarda FSH/LH oranı 3,6'nın üzerine çıktığında overyan yanıtın kötü olduğu gösterilmiştir. Bu oranın, FSH yükselmesinden önce artmaya başladığı görülmektedir.

1.1.3.1.4. İnhibin-B

İnhibin B plazma düzeyi 45 pg/mL ve altında saptanan olgularda gebelik oranlarının düşük, iptal riskinin yüksek olduğu gösterilmiştir.

1.1.3.1.5. Bazal Serum E₂

Erken folliküler E₂ seviyeleri over rezervini belirlemek için kullanılabilir. Bazal E₂ seviyesi yüksekliği düşük fekundite ile ilişkilidir. Smotric ve ark. (43) tarafından FSH düzeyinden bağımsız olarak bazal E₂ seviyeleri ve İVF sonuçlarını karşılaştıran çalışmada 80 pg/mL altı ve üstü olarak ikiye ayrılan gruplarda sırasıyla gebelik oranları %37,0 ve %14,8; siklus iptal oranları ise %0,4 ve %18,5 olarak tespit edilmiştir. FSH'nın 15 mIU/mL'den yüksek olduğu hastalar çalışma dışında tutulduğunda da benzer sonuçlar bulunmuştur (44). Licciardi ve ark. (45) yaptıkları çalışmada bazal E₂<30 pg/mL ise YÜT sonucu oluşan gebelik yüzdesinin E₂ 31-74 pg/mL arasındakilerden anlamlı şekilde fazla olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada 75 pg/mL üzerinde gebelik izlenmemiştir. E₂ seviyesindeki erken yükselme, azalmış over rezervine bağlı FSH düzeylerinin yükselmesi sonucunda ilerlemiş folliküler büyüme ve erken dominant follikül gelişimine bağlıdır. Artmış E₂ seviyeleri nedeniyle FSH baskılanabilmekte ve normal sınırlar içinde izlenebilmektir. Bu nedenle bazal E₂ düzeyi, FSH düzeyine bağlı yanlış negatiflikleri azaltmaktadır. Her iki değerinde arttığı hastalarda prognozun daha da kötü olduğu gözlenmektedir.

1.1.3.1.6. Bazal Antral Follikül Sayısı

Erken folliküler fazda <10 mm olan follikül sayısı toplanan oosit sayısı ve siklus iptal oranlarıyla ilişkili bulunmuştur (46). AFS yaşla beraber azalmaktadır. Otuzüç yaşından önce yılda %4,8, sonrasında ise %11,7 oranında azalmaktadır (47). AFS gonadotropin stimülasyonuna verilen yanıtı öngörmeye iyi bir parametre olsa da yapılan çalışmalarda gerek antral follikül tanımında, gerekse AFS eşik değerinde farklılıklar bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda 2-5 mm arasındaki folliküller antral follikül olarak tanımlanırken, çoğu çalışmada 2-10 mm arasındaki folliküller

antral follikül olarak tanımlanmaktadır. AFS aynı hastada sikluslar arasında da değişiklik gösterebilmekte ve bu değişiklik genç ve AFS fazla olanlarda daha fazla gözlenmektedir (48-51). Chang ve ark. (52) tarafından prospektif olarak 149 İVF siklusu ile yapılan çalışmada AFS'ye göre 3 grup oluşturulmuş (AFS <4, 4-10, >10) ve bu 3 grupta sırasıyla siklus iptal oranları %68,8, %5,3 ve %0 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada AFS arttıkça gebelik oranlarının arttığı tespit edilmiştir (%0; %23,7; %36,8). AFS'nin; bazal FSH, E₂, inhibin B ve toplam over hacmine göre kötü over yanıtını ön görmede daha etkin olduğu düşünülmektedir (53).

AFS ile kadın yaşı, toplam gonadotropin dozu, hCG günü E₂ değeri, elde edilen toplam ve metafaz II oosit sayısı ve gebelik oranları arasında istatistiksel anlamlılık saptanmıştır. AFS'ye göre yapılan derecelendirme tedavi şeması ve ilaç dozunun belirlenmesinde yardımcıdır (25, 64). Buna göre:

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

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

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

Grade IV overler polikistik over (PCO) yada PCO benzeri olup, bunlarda folliküler atrezi yada OHSS riski yüksektir.

1.1.3.1.7. Overyan Hacim

Ultrasonografik olarak ölçülen total, ortalama veya düşük over volümlerinin KOH'a verilen yanıt ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (55, 56). Herhangi bir overi <3 cm³ olanlarda İVF siklus iptal riski yüksektir (57). Yapılan başka bir çalışma sonucuna göre düşük over volümü, büyümekte olan follikül sayısı ile korelasyon göstermekte ancak toplanan oosit sayısı ile korelasyon göstermemektedir (46). Over volümündeki progresif küçülme daha çok menapoz sonrası ortaya çıkmakta ve reproduktif dönemde belirgin bir değişiklik olmamaktadır (58, 59).

1.1.3.1.8. Overyan Stromal Kan Akımı

Engman ve ark. (60) yaptıkları çalışmada; pituiter supresyon sonrasında transvajinal (TV) olarak ölçülen tepe overyan stromal akım hızının, FSH düzeyleri normal sınırlarda olan olgularda KOH'a verilen yanıtı ön görmede yaş, bazal E₂ ve FSH/LH oranına göre daha üstün olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Bu çalışmada 10

cm/sn üstünde, her 1cm/sn lik artışta toplanan oosit sayısında %7'lik artış saptanmıştır. Zaidi ve ark. (61) KOH'a kötü yanıt veren olgularda tepe overyan stromal kan akım hızının anlamlı şekilde azaldığını gözlemlemişlerdir. Overyan stromal kan akımı, yaşla beraber genel populasyonda da azalmaktadır (62). Doppler USG ile over kan akımının ölçülmesi follikül ve oosit sayısını tahmin etmede belirleyici olabilir (54).

1.1.3.1.9. Over Biyopsisi

Birim hacimdeki over korteksinde bulunan follikül sayısı follikül yoğunluğunu göstermektedir. Overden biyopsi alınarak ölçülen follikül yoğunluğunun over rezervini göstermek için kullanılabileceği düşünülmüş, ancak Lambalk ve ark. (63) çalışmalarında over rezervini göstermede faydasının olmadığı bulunmuştur. İnvaziv bir işlem olmasının yanında, over korteksinde folliküllerin homojen olarak dağılmadığı ve fertilité üzerine olumsuz etkileri olabileceğinden önerilmemektedir.

1.1.3.1.10. Follikül sıvısı

Overyan follikülogenez istirahatteki primordial folliküllerin aktivasyonu ile başlar. Bu folliküller primer, sekonder ve antral dönem olarak gelişir sonunda preovulatuvar faza gelir. LH pikine cevap olarak preovulatuvar follikül ovulasyon ile matür oositi oluşturur, kalan teka ve granüloza hücreleri korpus luteumu oluşturmak için diferansiye olur (64). Follikülogenezde primer follikül 0.2 mm büyüklüğe ulaştığında granüloza hücre tabakasında düzensiz ve içi sıvı dolu küçük boşluklar meydana gelir. Hyaluronik asitten zengin olan bu sıvıya follikül sıvısı denir. Bu sıvının miktarı, follikül büyüyüp küçük boşlukların birleşerek büyük ve at nalı şeklini (antrum) alması ile artar. Antrumun oluşmasıyla gelişen bu follikül sekonder, antral ya da veziküler follikül adını alır. Follikülün büyüklüğü, follikül sıvısının miktarına, granüloza ve teka hücrelerinin artışına bağlıdır (65). Follikül belirli bir büyüklüğe geldiğinde YÜT kapsamında oosit toplama prosedürü uygulanır. Folliküler sıvı oosit gelişimi için çok önemli bir mikroçevre oluşturur. Kan plazma içeriğinin kan follikül bariyerinden geçen kısmı ve granüloza ve teka interna hücrelerinin sekretuar aktivitesinin ürünü olarak meydana gelir (66). Bu sekretuar ürünler oosit gelişimi için önemli bir yere sahiptir. Yarı geçirgen bir zar ile kan ve

folliküler sıvı mikroçevresi ayrılır. Bu zardan proteinler moleküler ağırlıklarına göre geçer. Sadece <500 kDa büyüklüğündeki proteinler kandan folliküler sıvıya filtre edilebilir (67). Oositi çevreleyen follikül sıvısının biyokimyasal içeriğinin oosit kalitesinin tayini, fertilizasyon potansiyeli ve embriyo gelişimi üzerinde kritik bir rol oynadığı düşünülmektedir. Folliküler sıvı komponent analizi, kan serumundaki metabolik değişimler (folliküler sıvı kompozisyonunu gösteren biyokimyasal çevre) ile ilgili bilgi sağlar (68). Folliküler sıvı akışkandır, İVF sikluslarında kolay elde edilebilir ve oosit kalitesi hakkında optimal non-invaziv bir belirteç olabilir. Bir substratın folliküler sıvıdaki konsantrasyonunun değişkenliğinin follikül kalitesi (dolayısıyla içindeki oositin kalitesi), yada hastanın klinik karakteristiği (yaş, sigara kullanımı, overyan stimülasyon tipi) ile ilişkisi tamamen netleşmemiştir.

Folliküler sıvının kimyasal içeriği şu şekilde kategorize edilebilir.

a) Hormonlar

Gonadotropinler, büyüme hormonu, prolaktin, östrojen, progesteron, androjenler, kortikosteroidler

b) Transforme edici büyüme faktörü- beta (Tgf- β) süper ailesi

İnhibin, aktivin, AMH, BMP-15

c) Diğer Büyüme Faktörleri ve İnterlökinler

İnsülin benzeri büyüme faktörü, diğer büyüme faktörleri, interlökinler

d) Reaktif Oksijen Radikalleri

Reaktif oksijen radikalleri ve anti-oksidan faktörler, nitrik oksit, vasküler endotelyal büyüme faktörü

e) Anti-apoptotik Faktörler

f) Proteinler, Peptitler ve Aminoasitler

Alfa-fetoproteinler, karsinoembriyogenik antijen (CEA), karsinojenik antijen-125 (CA -125), antijen CD44, alfa1-antitripsin, leptin, endotelin- 2, oosit matürasyon inhibitörü, homosistein, beta-endorfin, laktoferrin, anjiotensin-2, prorenin, aminoasitler

g) Şekerler

Hyaluronan, myo-inositol

h) Prostanoidler

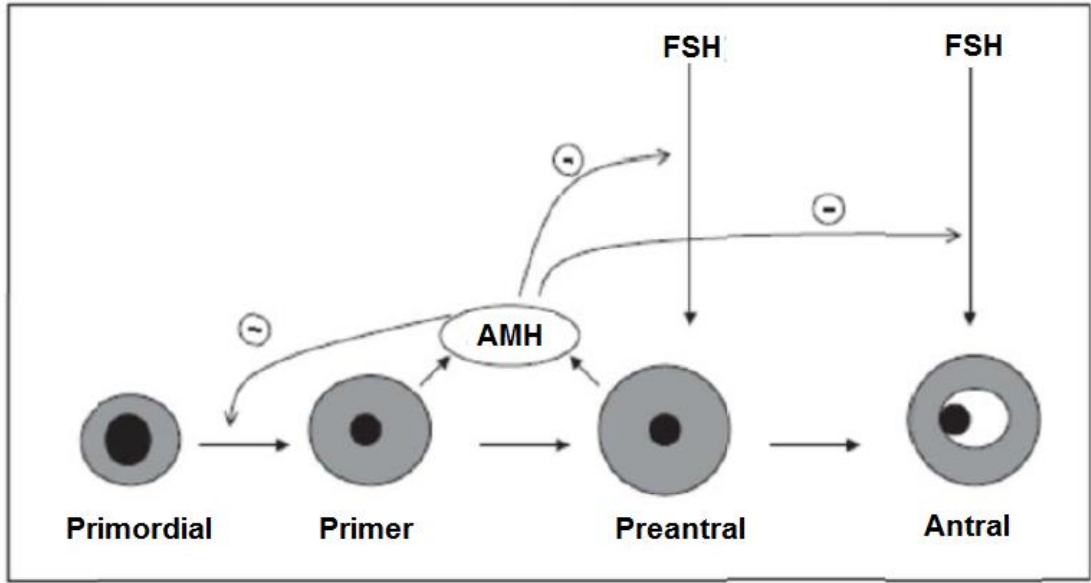
1.1.3.1.11. AMH

TGF- β ailesinden 140 kDa büyüklüğünde dimerik glikoprotein yapıdadır (69). Erkeklerde testiküler gelişimin başlangıcından puberteye kadar sertoli hücrelerinden, daha az miktarda dişilerde granüloza hücrelerinden doğumdan menapoza kadar sentezlenmektedir (70, 71). AMH'nın tek etkisinin reproduktif organlara olduğu düşünülmektedir. En önemli ve belirgin etkisi mülleryan kanalın regresyonunu sağlamaktır. Yokluğunda mülleryan kanaldan fallop tüpleri, uterus ve vajenin üst 1/3' ü gelişmektedir (72, 73).

Anti-mülleryan hormon overyan granüloza hücrelerinden preantral ve küçük antral folliküllerden, pitüiter FSH'nın etkisiyle dominant follikül için seçilebilecek büyüklüğe ve farklılaşmaya ulaşıncaya kadar sentezlenmektedir. İnsanlarda bu olay follikül 4-6 mm büyüklüğe ulaşıncaya kadar gerçekleşmektedir. AMH teka hücresi ve atretik folliküllerden sentezlenmemektedir (74, 75).

Son çalışmalarda preantral, geç pre-antral ve preovulatuvar folliküllerde AMH mRNA seviyelerinin oositin gelişim evreleriyle paralel olarak düzenlendiği, AMH'nın intra ve inter-folliküler koordinasyonda önemli görevleri olduğu gösterilmiştir (76). AMH sentezini düzenleyen mekanizmalar tam olarak bilinmemekle beraber granüloza hücreleri üzerinde AMH reseptörleri tespit edilmesi overyan fizyolojide rolü olduğunu düşündürmektedir (77). AMH'nın serin tireonin kinaz reseptörlerini kullanan iki farklı reseptörü bulunmaktadır (AMHR Tip1, AMHR Tip 2). AMHR 2 mülleryan kanal mezenkiminde bulunmaktadır. Bu reseptörün fonksiyon bozukluğu tıpkı AMH yokluğu gibi kalıcı mülleryan kanal sendromuna yol açabilmektedir. Ratlarda AMHR 2 granüloza ve teka hücrelerinde de izlenmektedir (78, 79). AMHR 1 özellikleri ve işlevi günümüze kadar tam olarak tespit edilememiştir.

Primordial folliküllerin gelişmesi negatif ve pozitif faktörlerin etkisi altındadır. AMH erken folliküler gelişim üzerine negatif etkileri olan bir faktördür. Homozigot AMH knockout dişi ratlarda daha fazla sayıda büyüyen preantral ve küçük antral follikül saptanmış ancak bu ratlarda primordial follikül stoklarının daha erken yaşta tükendiği gözlenmiştir.



Şekil 1. AMH'nın follikül gelişimi üzerine etkisi

Anti-mülleryan hormon etkilerinin direk primordial hücreler üzerinden olup olmadığını göstermek için yapılan bir çalışmada AMH bulunmayan rat overini AMH bulunan yapay ortama bıraktıktan iki gün sonra yapılan incelemede büyüyen follikül sayısının %50 azaldığı, AMH'nın primordial oositleri direk olarak etkilediği gözlenmiştir ve AMH'nın primordial follikül gelişiminin aktivasyonunu preantral folliküllerde azalttığı sonucu çıkarılmıştır (80).

İn vivo ve in vitro çalışmalar AMH eksikliğinde foliküllerin FSH'ya daha duyarlı olduğunu göstermektedir. Düşük ve yüksek FSH konsantrasyonları ile yapılan çalışmalarda AMH'dan yoksun fareler, AMH mevcut farelerle karşılaştırıldığında hem sayısal hem de gelişimsel olarak follikül gelişiminde daha iyi yanıt alındığı gözlenmiştir (81). Clemente ve ark. (82) ekzojen AMH'nın kültür ortamında granüloza hücrelerinde aromataz aktivitesini ve LH reseptör sayısını azalttığını göstermişlerdir. Bu çalışmalar ışığında AMH'nın overyan folliküllerin FSH'ya verdiği yanıtı belirleyen faktörlerden birisi olduğu sonucu çıkmaktadır. Başka bir çalışmada ise AMH'nın farelerde 1.mayoz bölünmeyi inhibe ettiği gösterilmiştir (83). AMH insan granüloza-luteal hücrelerin proliferasyonunu bloke etmekte ve folliküler sıvı AMH konsantrasyonu granüloza hücrelerindeki mitoz indeksi ile ters orantılı bulunmuştur (84, 85). Hayat boyunca AMH düzeyi kadınlarda erkeklerden daha düşüktür. Yenidoğanda AMH seviyeleri tespit edilemeyecek kadar düşüktür; 2-4 yaşlarında hafif yükselme olur ve sonrasında ergenliğe kadar stabil seyrederek. Yaş

ilerledikçe folliküler rezerv azalmasına bağlı olarak serum düzeyi düşer, menapozda çok düşük veya tespit edilemeyecek düzeye geriler (86). Serum AMH menstrüal siklus sırasında fluktuasyon göstermemektedir. Bu özelliği diğer over rezerv testlerinden farklı olarak siklusun herhangi bir gününde değerlendirilme yapma avantajı sağlamaktadır (87, 88). Minimal fluktuasyonlar siklik olmayan küçük follikül büyümesinden dolayı oluşabilmektedir. Overyan follikül havuzunun azalması ve oosit kalitesinin düşmesi nedeniyle yaşla beraber üreme fonksiyonları azalmaktadır. AMH over rezervini ölçmek amaçlı son zamanlarda kullanılmaya başlanmıştır.

Spontan menapoz sonrasında, ooferektomi sonrasında AMH düzeylerinin tespit edilemeyecek düzeylere düşmesi AMH'nın tamamen over kaynaklı olduğunu göstermektedir (86, 89, 90). D3'te saptanan AMH seviyeleri yaşla beraber düşmektedir. De Vet ve ark. (91) yaptığı çalışmada 1,1-7 yıl boyunca takip edilen olgularda AMH seviyelerinin ortalama %38 düştüğü, buna karşın aynı sürede antral follikül sayısı, bazal FSH düzeyi ve inhibin B düzeylerinde değişiklik olmadığı saptanmıştır. Over rezervini gösteren diğer belirteçlere oranla yaşa bağlı oosit/follikül rezervini daha iyi gösterdiği düşünölmektedir ve yaş arttıkça diğer parametrelerde değişiklik olmadan ilk olarak AMH düzeyleri azalmaktadır (92).

Anti-mülleryan hormon düzeyleri KOH sırasında azalmaktadır (88, 93). Bunun nedeninin FSH'nın AMH sekresyonuna olumsuz etkisinin olduğu düşünölmektedir. Baarends ve ark. (75) tarafından ratlarda FSH'nın AMH ve AMHR 2 ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir. Alternatif olarak suprafizyolojik E₂ seviyelerinin overde AMH ve AMHR 2 mRNA sentezini azaltmasının da AMH seviyelerinin azalmasına katkıda bulunduğu düşünölmektedir. Yine başka bir çalışmada KOH sırasında AMH seviyeleri, küçük AFS ile korelasyon göstermekte ve çoklu folliküler matürasyon sonrası küçük AFS'de azalmaya bağlı olarak ve daha büyük folliküllerden oldukça az salgılanması nedeniyle azalmakta olduğu sonucuna ulaşılmıştır (94). Folliküller, antral follikül aşamasına gelişinceye kadar gonadotropinlerden bağımsız olarak gelişmektedir (95). Hipofizektomize, hipopituitarizm olan olgularda antral follikül basamağına kadar gelişim olmaktadır. AMH sekonder amenore tanısında hipogonadotropik hipogonadizm ile hipogonadotropik hipogonadizm ayırımında yardımcı olabilmektedir. Gebelikte

gonadotropin düzeyleri oldukça düşük olmasına rağmen gebelik öncesi AMH düzeylerinde değişiklik olmadığı görülmektedir. AMH plasentadan sentezlenmemekte, gebelik boyunca ve puerperiumda düzeyleri değişmemektedir (96).

Anti-mülleryan hormon düzeyleri PCOS olanlarda kontrollerle karşılaştırıldığında artmış bulunmuştur. PCOS tanımlanmasında sensitivitesi %92, spesifitesi %67 olarak bulunmuştur (97-99). Literatürde tanısal kriter olarak follikül sayısının yerine kullanılabilceğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır (102). Amenoreik ve oligomenoreik PCOS hastaları karşılaştırıldığında amonerik grupta AMH seviyelerinin oligomenoreik gruptan anlamlı şekilde yüksek olduğu tespit edilmiş ve AMH'nın anovulasyon etyopatogenezinde rolü olduğu düşünülmüştür (101).

Anti-mülleryan hormon sadece granüloza hücrelerinden sentezlenmektedir, bu nedenle granüloza hücreli tümörlerde (GCT) marker olarak kullanılabilir. GCT saptanan olguların %76-93'ünde yüksek bulunmuştur (102, 103). Tümör rezeksiyonunu takiben yapılan seri ölçümlerde, rekürrens klinik olarak tespitinden ortalama 16 ay önce yükselmeye başlamaktadır (89). AMH, GCT takibinde E₂ ve inhibine göre daha iyi bir belirteçtir, özellikle rekürrenslerin 10-20 yıllık zaman dilimlerinde ortaya çıktığı GCT'lerde rekürrenslerin erken tesbitinin sağ kalım süresini arttırdığı düşünülerek takiplerde kullanılmaktadır.

1.1.3.1.12. BMP 15

Kemik morfogenetik proteinleri (BMP) doku gelişimi ve homeostazını da içeren birçok hücre ve doku fonksiyonunda kilit düzenleyicilerdir. Bu büyüme faktörlerinin regülasyonunun bozulması kanser ve çeşitli bağ dokusu hastalıklarında önemli rol oynamaktadır. Bu büyüme faktörleri ekstrasellüler matrikste yer alırlar ve sinyal oluşturmaları matriks proteinlerine bağlanma ile kontrol edilir (104). Kemik morfogenetik proteinlerinden BMP-15, X'e bağlı olarak oositte sentezlenir (16). Over hayat döngüsünde; primordial folliküler büyüme başlaması ile inaktif fazdan primer aşamaya geçerler. Bu geçişte son yıllarda yapılan transjenik hayvan çalışmaları göstermektedir ki tek bir hormon veya sinyal yolağından ziyade over içinde farklı kompartmanlardan kaynaklanan (oosit, granüloza ve teka hücreleri, stroma) sinyallerin otokrin ve parakrin etkileşimleri ile primordial folliküllerin

primer basamağa ulaştıkları bilinmektedir (105-108). Primordial folliküllerin primer folliküle aktive olmaları siklik bir hadisedir, menapoza kadar devam eder ve bu aşama hormon bağımsızdır (17). Bu aktivasyonda TGF- β ailesinin bazı üyeleri rol almaktadır. Overyan stroma ve teka hücrelerinden salınan BMP-4 ve BMP-7 ile oosit kaynaklı büyüme farklılaşma faktörü (GDF-9) bu olayda rol oynamaktadır (18-22). GDF-9 geni olmayan fare infertil olup primer aşamadan ileri follikül gelişimi izlenmezken, GDF-9'un primordial follikülden primer folliküle geçişteki etkileri tartışmalıdır (20, 21). TGF- β üyelerinin etkileri açısından türler arasında da farklılıklar olduğu belirtilmektedir. Örneğin oosit kaynaklı BMP-6 ve BMP-15 (GDF-9B) genleri olmayan farelerde normal follikül gelişimi ve fertilitate izlenirken, BMP-15 mutasyonu insan ve koyunda prematür overyan yetmezlik ile karakterizedir (109, 110). Primordial-primer geçişinde olduğu gibi preantral-antral follikül gelişiminde de aktivinler, BMP-4, BMP-7, GDF-9 ve BMP-15 rol almaktadır. BMP-15 preantral-antral aşamasında follikül büyümesini indükleyen ajanlardan birisidir. Oosit kaynaklı bu büyüme faktörü FSH'dan bağımsız olarak granüloza hücrelerinin proliferasyonundan sorumludur (111). Gonadotropin bağımlılığının olmadığı erken follikül büyümesi döneminde follikül büyümesini BMP-15 sağlayabilmektedir. BMP-15 ilginç olarak FSH reseptör ekspresyonunu inhibe edebilmektedir ve folistatin, BMP-15'in bu etkilerini antagonize etmektedir. Folistatin ekspresyonu ise en fazla dominant follikülde mevcuttur. Dolayısıyla folistatin dominant follikül seçimi esnasında follikülde yeterince FSH reseptörlerinin bulunmasını sağlamaktadır (112). Granüloza hücre proliferasyonu ve follikül büyümesi esnasında prematür lüteinizasyonun önlenmesi önemlidir. Bu bağlamda oosit kaynaklı faktörler BMP-6, BMP-15 ve GDF-9 gonadotropin ile olan P4 sentezini baskılayarak prematür lüteinizasyonu inhibe eder (112). BMP-15 FSH reseptörünü baskılayarak görevini yerine getirirken, BMP-6 ise FSH reseptörünün adenilat siklaz aktivitesini inhibe eder (23, 111).

Anti-mülleryan hormon, erken primordial follikülün granüloza hücrelerinde saptanmakta ve antral follikülde tepe değere ulaşmaktadır. Ayrıca AMH parakrin aktivitesi ile FSH uyarımlı follikül büyümesini inhibe etmekte ve dominant follikül gelişmesini sağlamaktadır. Bu aktiviteden dolayı dolaşan AMH düzeyleri, gelişen follikül sayısını göstermekte ve overyan yaşlanma ve fertilitate prognozunu

belirlemede kullanılmaktadır. AMH seviyeleri İVF'te overyan yanıt belirteci, overyan rezerv belirteci, PCOS tanı ve ovulatuvar tedaviye yanıt belirteci, prematür overyan yetmezlik (POF) tanısı, kemoterapi sonrası overyan hasar, nonobstrüktif azospermi değerlendirimi ve operatif overyan hasarın değerlendirilmesinde kullanılabilir. BMP-15 ise primordial-primer follikül gelişim aşamasında ve preantral-antral follikül geçiş aşamasında (hormon bağımsız) görev aldığı için İVF sikluslarında overyan yanıt ve overyan rezerv belirteci olarak kullanılabilir.

1.1.3.2. Dinamik Testler

1.1.3.2.1. CCCT

Siklusun 5-9. günleri arasında 100 mg CC verilir. Siklusun 3. ve 10. günlerinde FSH ölçülür. Bu ölçümlerde laboratuvar sınırlarını aşan bir değer bulunmuşsa test pozitif olarak değerlendirilir. Bu sınır genellikle 10-12 mIU/mL dir (25, 113).

1.1.3.2.2. GAST

Menstrüasyonun ikinci yada 3. günü verilen GnRH analoguna cevaben E₂'deki değişim paternleri değerlendirilir. Diğer testlere göre üstünlüğü olmadığı belirlenmiştir (25).

1.1.3.2.3. EFORT

Siklusun 3. günü 300 IU FSH IM uygulanır. Önce ve 24 saat sonra E₂, FSH değerlerine bakılır. İyi cevap olarak değerlendirmek için artış oranları sırasıyla > 25-30 pg/mL, <9 IU/L olmalıdır (25).

Sperm yeterliliğinin değerlendirilmesi:

Öykü ve fizik muayeneye ek olarak semen analizi etiyoloji ve yeterlilik konusunda bilgi verir. Semen örneği 2-3 günlük abstinens süresi sonunda tercihen mastürbasyon yöntemi ile alınır. İlk sperm örneği normal sınırlarda ise test tekrarlanmaz; aksi takdirde 6-12 hafta sonra ikinci bir örnek alınmalıdır (24).

Semen değerlendirmesinde WHO'nun önerdiği referans değerler şunlardır; (24, 114)

- **Hacim:** 2 mL veya daha fazla
- **pH:** 7,2 yada daha fazlası

- **Sperm konsantrasyonu:** 15×10^6 spermatozoa/mL yada daha fazla
- **Total sperm sayısı:** 30×10^6 spermatozoa/ejakulat veya daha fazlası
- **Hareketlilik:** Ejakulasyondan sonra 60 dakika içinde %50 veya daha fazlası hareketli (grade a+b) veya %25 veya daha fazlası ilerleyici hareketliliğe sahip (grade a) ise normal.
- **Morfoloji:** %30'tan fazlası normal morfolojide (kruger kriterlerine göre >%14)
- **Vitalite:** %75 veya daha fazlası canlı
- **Lökosit sayısı:** 1×10^6 'dan daha az
- **İmmunobead testi:** Motil spermatozoaların %50'den azı immütaneciklere bağlı.
- **MAR testi:** Motil spermatozoaların %50'den azında partiküller yapışık.
- **Bu referans değerlerinden farkları tanımlamak için kullanılan terminoloji herhangi bir nedensel ilişkiyi belirlemez:**
- **Normozoospermi:** Referans değerlerle tanımlanan normal ejakulat
- **Oligozoospermi:** Referans değerlerden düşük sperm konsantrasyonu
- **Astenoospermi:** Hareketlilik için referans değerden daha düşük değer
- **Teratoospermi:** Morfoloji için referans değerden daha düşük değer
- **Oligoastenoteratoospermi (OAT):** Her üç değişkende olan bozukluğa işaret eder
- **Azoospermi:** Ejakulatta hiç spermatozoa olmaması
- **Aspermi:** Hiç ejakulat elde edilememesi

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Çalışma Populasyonu

Bu prospektif çalışmaya, 10.05.2012 tarih ve 125 sayılı klinik araştırmalar etik kurul onamını takiben Haziran 2012 ile Haziran 2013 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D. Tüp Bebek Merkezi'ne başvuran ve infertilite değerlendirmeleri sonucunda İVF tedavisi planlanan 82 çift dahil edildi. Tüp bebek tedavisi için başvuran çiftler çalışma hakkında bilgilendirilerek kendilerinden imzalı onam alındı.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri

1. İnfertilite veya çocuk isteği nedeniyle tüp bebek kliniğimize başvurma
2. <35 yaş hastalarda en az 12 ay, >35 yaş hastalarda en az 6 ay korunmasız ilişkiye rağmen gebe kalamama

Gönüllülerin araştırmaya dahil edilmeme kriterleri

1. İnfertilite değerlendirmeleri esnasında jinekolojik malignite tespit edilen olgular
2. 39 yaş üzerinde olmak
3. Erkeklerde TESE'de sperm bulunmaması.

2.2. Çalışma Düzeni

2.2.1. İVF Öncesi Hasta Medikasyonu ve Takibi

Pre-İVF hazırlığında bazal tetkikler olarak demografik özelliklerden sonra D3'te jinekolojik muayene, TV USG ile antral follikül sayımı ve uterusun değerlendirilmesi, FSH, LH, E₂, prolaktin, TSH hormon profili, HSG ve semen analizi istendi. Açıklanamayan infertilite, erkek faktörü, azalmış over rezervi ve tubal faktör tanılarıyla İVF kararı verilen hastalara ofis histeroskopi ile uterin kavite kontrolü yapıldı. KOH protokolüne alınan hastalar GnRH agonist (n=38) ve GnRH antagonist (n=44) olarak iki gruba ayrıldı. Stimülasyon için rekombinant FSH veya human menopozal gonadotropin (hMG) kullanıldı. GnRH agonist uzun luteal protokol uygulanan olgularda gonadotropin başlanmadan önceki siklusun mid-luteal fazında (21. gün) 1 mg/gün leuprolide asetat en az 14 gün cilt altına uygulandıktan sonra E₂ seviyesi 50 pg/mL altında ve menstrüasyon kanaması olmuş ise bazal hormon tetkikleri ile AMH ve BMP-15 düzeyi için periferik venöz 8 mL kan örneği

alındı ve hastaya uygun dozda gonadotropin başlanıp leuprolide asetat dozu 0,5 mg/gün'e düşürülerek gonadotropin tedavisi boyunca aynı dozdan devam edildi. Antagonist protokol uygulanan olgularda pitüiter supresyon yapılmaksızın sonografik olarak kistik yapı saptanmaz ise D3'te bazal hormon tetkikleri ile AMH ve BMP-15 düzeyi için periferik venöz 8 mL kan örneği alındı ve uygun dozda gonadotropin stimülasyonuna başlandı. Önde giden follikül 12 mm çapa ulaştığında veya serum E₂'si 300 pg/mL'i geçtiğinde setrorelax veya ganireliks 0,25 mg/gün s.c ile GnRH antagonizması başlatıldı ve hCG uygulanacağı güne kadar gonadotropinlerle birlikte kullanıldı. Tüm hastalarda gonadotropin dozu bireysel olarak belirlendi. 150-450 IU/gün rekombinant FSH (Gonal-f® Merck Serono, İsviçre; Puregon®, MSD, USA) veya hMG (Menogon Ferring, Almanya; Merional®, IBSA, İsviçre) tek başına veya kombine olarak maksimum doz 450 IU/gün olacak şekilde uygulandı. Follikül gelişiminin takibi amacıyla gonadotropin tedavisinin 5. gününde USG ve E₂ kan seviyelerine göre hastalar değerlendirilip gonadotropin doz ayarlaması yapıldı. Yeterli gonadotropin stimülasyonuna rağmen dominant follikül (>14 mm) gelişmeyen hastalarda siklus iptal edildi. USG takipleri sonucunda en az üç follikül >17 mm olduğunda 250 mcg rekombinant hCG (Ovitrelle® Merck-Serono, İsviçre) uygulandı. GnRH agonist ve antagonisti rec-hCG gününe kadar o gün dahil olacak şekilde devam edildi.

2.2.2. Yumurta Toplanması, Embriyo Gelişimi ve Embriyo Transfer İşlemleri

Hastalara hCG uygulamasını takiben 35-36 saatler arasında anestezi altında, litotomi pozisyonunda transvajinal yoldan oosit toplama işlemi uygulanmıştır. OPU günü işlem öncesi 8 mL periferik venöz kan örneğinden elde edilen serum, işlem esnasında toplanan follikül sıvısı ve D3 venöz kandan elde edilen plazma örnekleri AMH ve BMP 15 düzeyine "Enzyme-linked immunosorbent assay" (ELISA) yöntemi ile bakılana kadar -20 °C'de saklandı. OPU işlemi sonrasında elde edilen oositlere uygun işlemler yapıldı ve sadece metafaz II oositlere fertilizasyon işlemi uygulandı. Aynı gün hastanın eşinden mastürbasyon yoluyla elde edilen spermler androloji laboratuvarında likefaksiyon sonrası sayı ve motilite değerlendirilerek gradient yöntemi kullanılarak sperm hazırlandı. TESE ile elde edilen sperm örnekleri ise gradient yöntemi ile hazırlandı. Her hastaya, elde edilen spermler kullanılarak rutin

olarak sadece ICSI işlemi yapıldı. Ertesi gün embriyoloji laboratuvarında fertilizasyon değerlendirildi. Ardından embriyo gelişimine bağlı olarak 2. ile 5. günler arasında USG eşliğinde ET uygulandı. Tüm hastalara zorunlu tek, şartlı çift ET yapılmıştır. Üçten fazla embriyonun geliştiği olgularda öncelikle grade 1-2 embriyolar transfer için tercih edilmiştir. Tüm hastalara luteal destek sağlamak amacıyla OPU gününden 1 gün sonra başlayarak intravajinal progesteron jel (Crinone® %8 gel, Merck Serono, İsviçre) ve progesteron 50 mg/mL i.m. flakon (Progestan 50 mg/mL flakon Koçak Farma, Türkiye) başlandı. Ayrıca tüm hastalara OPU gününden başlayarak embriyo transfer gününe kadar oral doksisisilin günde iki kez ve Prednol 16 mg tablet günde bir kez başlandı. Gebe hastalarda vajinal progesteron uygulamasına 12. gebelik haftasına kadar devam edildi.

2.2.3. Hormon Ölçümleri

Çalışmada; EDTA içeren vakumlu kan alma tüplerine 8 mL kan alındı. AMH ve BMP-15 aktivitesinin ölçümü için alınan kan örnekleri 2500 rpm'de +4 °C'de santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Plazma örneklerinde; AMH ve BMP-15 düzeylerini ölçmek için örnekler çalışma gününe kadar -20 °C'de derin dondurucuda saklandı. Plazma örneklerinde; AMH düzeyleri Cusabio marka (Katalog no:CSB-E12756h, Çin) ve BMP-15 düzeyleri Eastbiopharm marka (katalog no:CK-E90147, USA) kitleri kullanılarak kantitatif olarak ELISA yöntemiyle (Diagnostic Systems Laboratories, Webster, Texas, U.S.A) gerçekleştirildi. Ayrıca hastalardan alınan follikül sıvılarında da aynı yöntemler kullanılarak AMH ve BMP-15 düzeyleri ölçüldü.

2.2.4. Gebelik Tanımı ve Tespiti

Embriyo transferinden 12 gün sonra serumda β -hCG çalışılarak gebelik test edildi. β -hCG pozitif gelmesine rağmen ultrasonda gestasyonel kese gözlenmeden düşen olgular biyokimyasal gebelik olarak değerlendirildi. β -hCG testi pozitif gelen hastalara iki hafta sonra USG yapılmış ve ultrasonografik olarak gestasyonel kese varlığı klinik gebelik olarak tanımlanmıştır. Gestasyonel kese gözlemlendikten sonra olan düşükler klinik abortus olarak değerlendirilmiştir.

2.2.5. İstatistik Değerlendirme

Verilerin değerlendirilmesi SPSS 12.0 paket programı (Statistical Package for the Social Sciences – SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) kullanılarak yapıldı.

Sürekli değişkenler için parametrik testler, kesikli değişkenler için ise parametrik olmayan testler kullanıldı. Sürekli verilerin normal dağılıma uygunluğunu değerlendirmek için Kolmogorov-Smirnov One Tailed testi uygulandı ve büyük çoğunluğun normal dağılıma uymadığı görüldü. Gruplar arası farkların istatistiksel analizleri Mann-Whitney U Test ve Wilcoxon W Rank Testile yapıldı. Grup içi tekrarlı ölçümlerde Wilcoxon W Rank Testi; gruplar arası karşılaştırmada ise Mann-Whitney U Test kullanıldı ($p < 0,05$ anlamlı kabul edildi). Grup içi tekrarlı karşılaştırmalarda Wilcoxon W Rank Testile ikili karşılaştırma yapıldı ($p < 0,017$ anlamlı kabul edildi) ve önemlilik enflasyonunu önlemek için Bonn Ferroni düzeltmesi yapıldı ($p = 0,05 / \text{karşılaştırma sayısı}$). Parametreler arasındaki ilişki analizi Spearman korelasyon testi ve regresyon analizi ile yapıldı. Tüm karşılaştırmalarda $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

Gruplar arasında dengeyi sağlamak amacı ile çalışmaya dahil edilmede sınırlama kriterleri belirlendi ve uygulandı. Agonist grubundan 38 hasta, antagonist grubundan 44 hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışmadaki tüm çiftlerin demografik ve klinik özellikleri Tablo-1’de sunuldu.

Tablo 1. Çalışmadaki tüm çiftlerin demografik ve klinik özellikleri

Parametre	Ortalama±SD / %
Kadın yaş (yıl)	30,6±5,2
Erkek yaş (yıl)	33,9±6,6
İnfertilite süre (ay)	60,1±43
VKI (kg/m ²)	25,5±4,2
D3 FSH (mIU/mL)	6,3±1,9
D3 LH (mIU/mL)	5,4±3,3
D3 Estradiol (pg/mL)	45,2±23,5
TSH (mIU/L)	2±1,9
Sağ over AF sayısı	6,9±3,7
Sol over AF sayısı	6,7±3,7
İnfertilite tip(%)	
- Primer	69,5
- Sekonder	30,5
İnfertilite etyolojisi(%)	
- Açıklanamayan	35,4
- Anovulasyon	22
- Erkek faktörü	25,6
- Azalmış over rezervi	9,8
- Tubal faktör	7,3
Sigara içiciliği(%)	17,1
Akraba evliliği(%)	8,5
Alerji öyküsü(%)	3,7
Sistemik hastalık öyküsü(%)	24,4
Cerrahi öyküsü(%)	39

Not: Değerler ortalama±SD ve yüzde olarak verildi. Not: VKİ=Vücut kitle indeksi; FSH=Foliküler stimulan hormon; LH=Luteinizan hormon; TSH=Tiroid stimulan hormon; AFS=Antral follikül sayısı; D3=Adetin üçüncü günü

Grupların demografik ve klinik özelliklerinin kıyaslanması Tablo-2’de sunuldu. İki grup arasında evlilik süresi, ortalama vücut kitle indeksi (VKİ), ortalama infertilite süresi, sigara içiciliği, D3 hormon seviyeleri arasında anlamlı farklılık izlenmedi (Tablo-2). Kadın yaşı, erkek yaşı, infertilite etyolojisi, TSH, sağ ve sol over antral follikül sayıları arasında anlamlı farklılık izlendi (Tablo-2).

İnfertilite nedenlerine bakıldığında agonist grubunun %20,5; antagonist grubunun %31,6'sında erkek infertilitesi; agonist grubunun %36,8 ve antagonist grubunun %40,9'unda kadın infertilitesi olduğu görülmektedir. Açıklanamayan infertilite oranı ise agonist ve antagonist grupta sırayla %31,6 ve %38,6 idi. Hastaların tedavi protokollerine göre infertilite nedenlerinin dağılımı Tablo-2'de sunuldu.

Tablo 2. Grupların demografik ve klinik özelliklerinin kıyaslanması

Parametre	GnRH Agonist (n=38)	GnRH Antagonist (n=44)	P değeri
Kadın yaş (yıl)	28,9±0,7	32,1±0,8	0,01
Erkek yaş (yıl)	31,9±0,9	35,7±1	0,04
Evlilik süresi (ay)	77,1±6,8	80,8±9	NS
VKI (kg/m ²)	25,2±0,6	25,7±0,7	NS
İnfertilite süresi (ay)	66,2±6,7	54,8±6,6	NS
İnfertilite etyoloji (%)			
- Açıklanamayan	31,6	38,6	
- Anovulasyon	26,3	18,2	0,04
- Erkek faktörü	31,6	20,5	
- Azalmış over rezervi	0	18,2	
- Tubal faktör	10,5	4,5	
Sigara içiciliği (%)	18,4	15,9	NS
Alerji öyküsü (%)	0	6,8	NS
Cerrahi öyküsü (%)	28,9	47,7	NS
Sistemik hastalık (%)	23,7	25	NS
D3 FSH (mIU/mL)	6,1±0,3	6,4±0,3	NS
D3 LH (mIU/mL)	6,1±0,7	4,9±0,3	NS
D3 E2 (pg/mL)	40,9±3	49±4	NS
Prolaktin (ng/mL)	12,7±0,9	13,67±0,8	NS
TSH (mIU/L)	2,2±0,2	1,87±0,3	0,03
Sağ over AF sayısı	7,9±0,5	6±0,6	0,02
Sol over AF sayısı	7,65±0,6	5,8±0,6	0,03

Not: Değerler ortalama±SEM ve % olarak verildi. VKI=Vücut kitle İndeksi; FSH=Foliküler stimulan hormon; LH=Luteinizan hormon; TSH=Tiroid stimulan hormon; AF=Antral follikül sayısı; D3=Adetin üçüncü günü

Araştırmaya katılan çiftlerin gruplara göre spermogram değerleri Tablo-3'te sunuldu. Gruplar arasında spermogram değerleri açısından bir fark izlenmedi (Tablo-3).

Grupların overyan stimülasyon ve embriyoloji özellikleri Tablo-4'te sunuldu. Her iki grupta indüksiyon için uygulanan FSH başlangıç dozu, HMG başlangıç dozu, FSH toplam dozu, HMG toplam dozu, stimülasyon süreleri, matür oosit sayıları,

fertilize oosit sayıları, fertilizasyon oranları, ET günü grade 1 embriyo sayıları, ET günü embriyo skorları, HCG günü endometriyal kalınlık, HCG günü P4 seviyesi, siklus başına gebelik oranı, ET başına gebelik oranı, implantasyon oranı, klinik gebelik oranı açısından anlamlı farklılık izlenmedi (Tablo-4). Toplanan oosit sayısı ve HCG günü E₂ seviyesi agonist grupta anlamlı olarak daha yüksek bulundu (Tablo-4).

Tablo 3. Gruplara göre spermogram değerleri

Parametre	GnRH Agonist (N=38)	GnRH Antagonist (n=44)	P değeri
Sayıx10 ⁶ /mL	43,2±8	38,2±5	NS
Progresif motil sperm (%)	29,8±3,1	34,7±2,9	NS
Yerinde motil sperm (%)	19,5±2	18,1±1,7	NS
Kruger normal morfoloji (%)	4,2±1,7	2,8±0,4	NS

Not: Değerler ortalama±SEM ve % olarak verildi.

Tablo 4. Grupların Overyan Stimülasyon ve Embriyoloji Özellikleri

Parametre	GnRH Agonist (n=38)	GnRH Antagonist (n=44)	P değeri
FSH başlangıç dozu (IU)	288,1±14,7	267,6±22,1	NS
HMG başlangıç dozu (IU)	106,58±27,9	165,3±30,7	NS
FSH Toplam dozu (IU)	1724,7±144,6	1662,5±155,2	NS
HMG Toplam dozu (IU)	459,9±124,5	948,9±206,9	NS
Stimülasyon süresi (gün)	9,55±0,18	9,8±1,7	NS
Toplanan oosit sayısı	14,5±0,9	11,2±0,9	<0,01
Matür oosit sayısı	9,42±0,9	9,02±0,8	NS
Fertilize oosit sayısı	6,74±0,7	6,5±0,6	NS
Fertilizasyon oranı (%)	70	74	NS
ET günü grade 1 embriyo	2,13±0,3	1,93±0,2	NS
ET günü ortalama	2,62±0,2	3±1,9	NS
HCG günü estradiol	3054,2±203	2161,2±143,9	<0,01
HCG günü endometrial	13,78±3,6	10,5±0,4	NS
HCG günü progesteron	0,95±0,1	0,97±0,1	NS
Gebelik oranı / siklus	29	48	NS
Gebelik oranı /ET başına	33	51	NS
İmplantasyon oranı (%)	18	23	NS
Klinik gebelik oranı (%)	24	32	NS

Not: Değerler ortalama±SEM ve % olarak verildi. FSH=Foliküler stimulan hormon; HMG=Human menopozal gonadotropin; ET=Embriyo transferi; HCG=Human koryonik gonadotropin

Grupların D3 ve OPU günü alınan perik venöz kan AMH, BMP-15 seviyeleri ve follikül sıvısı AMH, BMP-15 düzeyleri Tablo-5'te sunuldu. Gruplar arasında D3 AMH, OPU AMH, D3 BMP-15, OPU BMP-15, follikül sıvısı BMP-15 düzeyleri arasında anlamlı farklılık izlenmedi. AMH Follikül düzeyi ise antagonist grupta anlamlı olarak yüksek bulundu (Tablo 5).

Tablo 5. Grupların AMH ve BMP-15 düzeyleri

Parametre	GnRH Agonist (n=38)	GnRH Antagonist (n=44)	pdeğeri
D3 AMH (ng/mL)	3,4±0,9	4,4±1,6	0,19
OPU AMH (ng/mL)	8±1,4	10,3±2,6	0,26
FOLLİKÜL AMH (ng/mL)	558±28	642±28	0,04
D3 BMP 15 (ng/mL)	41,8±2,3	39,2±1,3	0,45
OPU BMP 15 (ng/mL)	38,2±2,2	36,6±1,8	0,80
FOLLİKÜL BMP 15 (ng/mL)	278±12	262±7	0,16

Not: Değerler ortalama±SEMolarak verildi. D3=Menstrüel siklusun 3. günü; OPU= Oosit pik-up; BMP= Kemik morfojenetik protein; AMH=Anti-mülleryan hormon

Anti-mülleryan hormon ve BMP-15'in birbirleriyle ve klinik parametrelerle korelasyon ilişkisi Tablo-6'da sunuldu. D3 AMH düzeyi ile OPU günü AMH ve follikül sıvısı AMH düzeyleri arasında anlamlı korelasyon bulundu. OPU günü AMH düzeyi; follikül sıvısı AMH düzeyi, Hcg günü P4 düzeyi ve TSH düzeyi ile anlamlı korelasyon gösterdi. OPU günü BMP-15 düzeyi; follikül sıvısı BMP-15 düzeyi ve D3 prolaktin düzeyi ile anlamlı korelasyon gösterdi. D3 BMP-15 düzeyi ile Hcg günü P4 ve Hcg günü TV USG ile ölçülen endometriyal kalınlık arasında anlamlı korelasyon bulundu. Follikül sıvısı AMH düzeyi ile yaş arasında anlamlı korelasyon izlendi. Fertilizasyon oranı; D3 AMH ve OPU günü AMH; OPU günü BMP-15 düzeyleri ile anlamlı korelasyon gösterdi.

Tablo 6. AMH ve BMP-15'in birbirleriyle ve klinik parametrelerle korelasyon ilişkisi

Parametre	Parametre	R	pdeğeri
D3 AMH	OPU AMH	0,32	<0,01
D3 AMH	FOLİKÜL AMH	0,25	0,02
OPU AMH	FOLİKÜL AMH	0,28	<0,01
OPU BMP-15	FOLİKÜL BMP-15	-0,25	0,02
OPU AMH	Hcg P4	0,22	0,051
D3 BMP-15	Hcg P4	0,22	0,04
D3 BMP-15	Hcg End	0,39	<0,01
FOLİKÜL AMH	Yaş	0,28	0,01
OPU AMH	TSH	-0,24	0,03
OPU BMP-15	Prolaktin	0,26	0,02
FR	D3 AMH	-0,38	<0,01
FR	OPU AMH	-0,38	<0,01
FR	OPU BMP-15	-0,22	0,053

D3=Menstrüel siklusun 3. günü; OPU=Oosit pik-up; BMP=Kemik morfogenetik protein; AMH=Anti-mülleryan hormon; FR=Fertilizasyon oranı; Hcg=Human koryonik gonadotropin; End=Endometriyum; TSH=Tiroid stimulan hormon

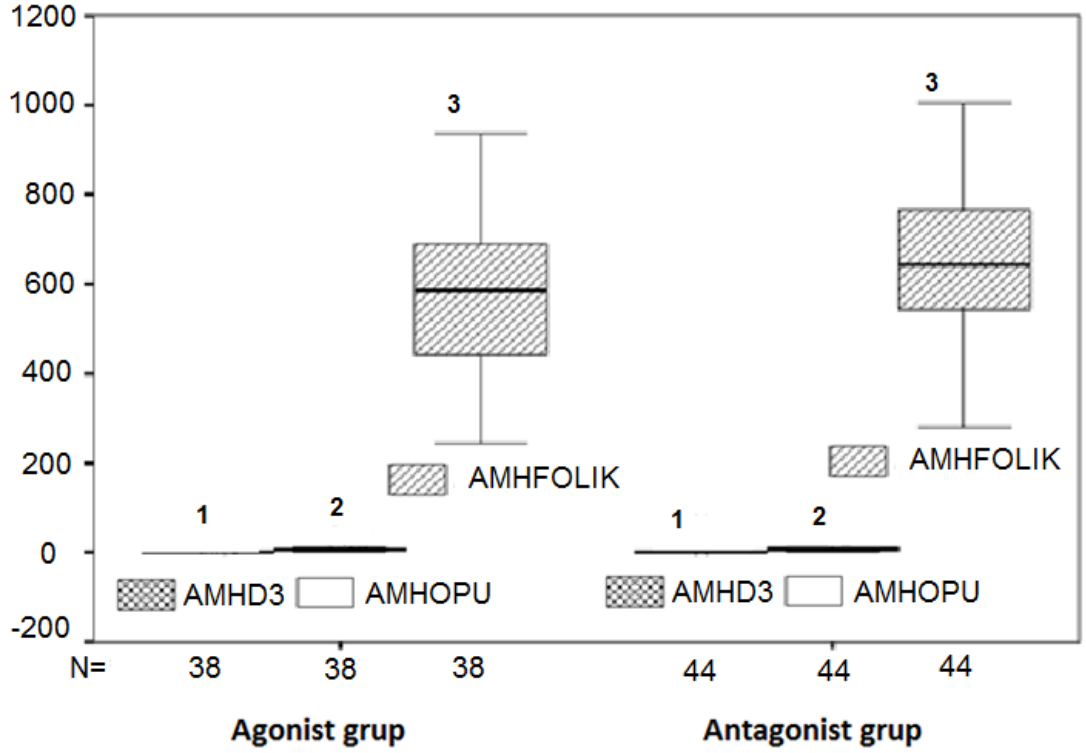
Anti-mülleryan hormon ve BMP-15'in fertilizasyon ve implantasyon üzerine etkisi Tablo-7'de gösterilmiş olup aralarında zayıf bir etkileşim tespit edildi.

Tablo 7. AMH ve BMP-15'in fertilizasyon ve implantasyon üzerine etkisi

Parametre	Parametre	RR	%95 CI	P değeri
FR	FOLİKÜL AMH	0,33	0,000- 0,001	<0,01
FR	OPU AMH	0,15	0,011- 0,004	<0,01
FR	D3 BMP-15	0,35	0,002- 0,011	<0,01
FR	FOLİKÜL BMP-15	0,37	0,000- 0,002	<0,01
ImR	FOLİKÜL AMH	0,48	0,000- 0,000	<0,01
ImR	OPU BMP-15	0,49	0,003- 0,008	<0,01

D3=Menstrüel siklusun 3. günü; OPU= Oosit pik-up; BMP= Kemik morfogenetik protein; AMH=Anti-mülleryan hormon; FR=Fertilizasyon oranı; ImR=İmplantasyon oranı

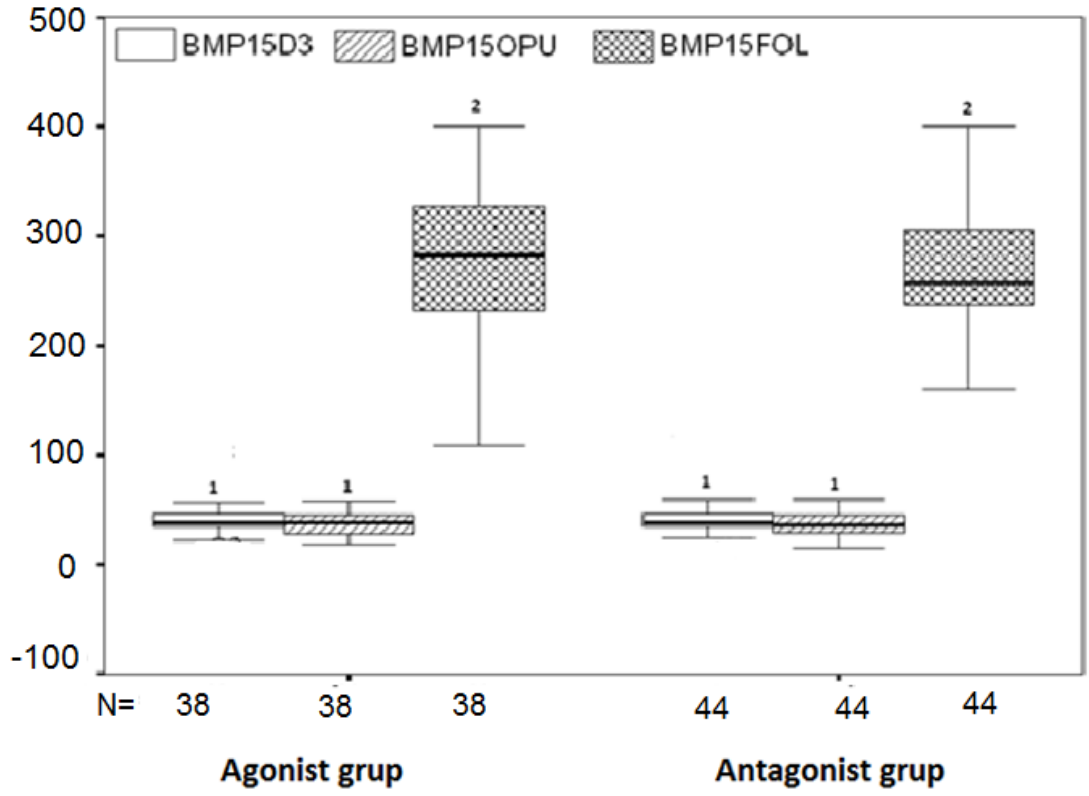
Agonist ve antagonist grup için D3, OPU ve follikül sıvısı AMH düzeyleri Şekil-2'de gösterilmiş olup her iki grubun kendi içindeki düzey artışları istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,017$).



Saplı kutu grafiği üzerindeki farklı rakamlar, ortalamalar arasında anlamlı fark olduğunu gösterir ($p < 0,017$ Wilcoxon Rank testi)

Şekil 2. Adetin 3. günü OPU günü AMH venöz kan düzeyleri ve Follikül sıvısı AMH düzeylerinin karşılaştırılması

D3, OPU ve follikül sıvısı BMP-15 düzeyleri Şekil-3'te gösterildi. D3 ve OPU BMP-15 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ($p > 0,017$). D3 BMP-15 düzeyi ile follikül sıvısı BMP-15 düzeyi arasında ve OPU BMP-15 düzeyi ile follikül sıvısı BMP-15 düzeyleri arasındaki artış Şekil-3'te gösterilmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,017$).



Saplı kutu grafiği üzerindeki farklı rakamlar, ortalamalar arasında anlamlı fark olduğunu gösterir ($p < 0,017$ Wilcoxon Rank testi)

Şekil 3. D3 ve OPU BMP-15 düzeyleri ve follikül sıvısı BMP-15 düzeylerinin karşılaştırılması

4. TARTIŞMA

İnfertilite fertil dönemdeki toplumun %15'ini ilgilendiren emosyonel ve sosyal sorunlar yaratabilen bir durumdur (1). YÜT tedavisi pahalı, zaman gerektiren ve hastalar için stresli bir tedavi şeklidir. Hasta hakkında doğru bilgilenecek, uygun hastada uygun tedaviyi yapmak hastaların maddi ve manevi kaygılarını azaltmak ve başarılı sonuç elde edebilmek için kaçınılmazdır.

Yardımcı üreme tekniklerinde tedavi başarısı, overlerin gonadotropin stimülasyonuna verdiği yanıtla ilişkilidir. Overlerin gonadotropin stimülasyonuna yanıtının az olmasına bağlı olarak, kötü over rezervli olgularda, siklus iptallerinin daha sık, toplanan oosit sayısı ve transfer edilen embriyo sayısının daha az, klinik gebelik oranlarının daha düşük olduğu gözlenmektedir. Kötü over yanıtı, genellikle, artmış yaşla ilişkili olmasına rağmen; genç yaşta da görülebilmektedir. Overyan yanıtın tedaviye başlanmadan ön görülmesi; siklus iptallerinin oranlarını azaltmakta, aynı zamanda hekime uygun tedavi stratejileri geliştirme ve hastaların oosit donasyonu gibi alternatif yöntemlere yöneltilmesine imkan sağlayabilmektedir. Gonadotropin stimülasyonuna verilen yanıt ve klinik gebelik elde edebilme şansını ön görebilmek için günümüze kadar bazal FSH, bazal FSH/LH oranı, bazal inhibin-B, bazal overyan volüm, yaş, bazal AFS, CCCT, GAST, EFORT gibi over rezervinin indirekt göstergesi olan birçok test kullanılmıştır. Oosit seçiminde matürasyonu değerlendirmek için çeşitli belirteçler kullanılmaktadır. Bunlar arasında follikül çapını ölçmek için kullanılan TV USG, serum E₂ konsantrasyonu ve D3'te bakılan serum inhibin B konsantrasyonu da vardır. TV USG ile yaklaşık 2 mm'nin üzerindeki folliküller saptanabilmektedir. İki mm üzerindeki folliküllerin fonksiyonel olarak normal olanları KOH sırasında verilen yüksek doz gonadotropine yanıt vererek preovulatar folliküle kadar büyüyebilirler. Ancak bu kriterler karşılanırsa bile fertilizasyon ve gebelik oranları hala belirgin olarak yükselmemektedir (115). Çalışmalar follikül/oosit maturasyonunu gösteren belirteçleri tayin etmek için yapılmakta ve bu şekilde fertilizasyonun, gebelik oranlarının artırılması hedeflenmektedir. Bu testlerin her birinin kendine ait handikapları mevcuttur ve hiçbiri tek başına yeterli etkinlikte değildir.

Anti-mülleryan hormon; overyan granüloza hücrelerinden, preantral ve küçük antral folliküllerden, pitüiter FSH'nın etkisiyle dominant follikül için seçilebilecek

büyükliğe ve farklılaşmaya ulaşılncaya kadar sentezlenmektedir. İnsanlarda AMH 4-6 mm'den küçük çoğunlukla sonografik olarak ölçülemeyen preantral ve küçük antral follüküllerin granüloza hücrelerinden sentezlenmektedir (116, 117). Herbir follükülden homojen olarak salgılandığından over rezervini göstermek için kullanılabilir bir belirteç olarak kabul edilmiştir. AMH teka hücrelerinden ve atretik follüküllerden sentezlenmemektedir (74, 75). AMH salınımının ekstra-overyan hormonal kontrolü yoktur. Transgenik ratlarda AMH heterozigot (-/+) olan ratlardaki AMH düzeyi, AMH (-/-) ve AMH (+/+) olan ratların AMH düzeyleri arasında saptanmıştır; bu nedenle AMH salınımının sadece mevcut gen aktivitesine bağlı olduğu, diğer hormonal uyarıların salınması üzerine etkisi olmadığı sonucu çıkartılmıştır (118).

Anti-mülleryan hormonlarının hormonal uyarılardan etkilenmemesi overyan rezervin değerlendirilmesinde diğer hormonal parametrelere göre AMH'ya avantaj sağlamaktadır. AMH'nın AFS'ye göre diğer bir avantajı da gözlemciye bağlı olmaması ve dolayısıyla hekimden hekime değişiklik göstermemesidir. AFS özellikle GnRH veya OKS ile baskılanmış hastalarda tam değerlendirilememekte; bu da klinik olarak bazı hastalarda doz ayarlamasını güçleştirmektedir.

Son çalışmalarda preantral, geç pre-antral ve preovulatar follüküllerde AMH mRNA seviyelerinin oositin gelişim evreleriyle paralel olarak düzenlendiği, AMH'nın intra ve inter-follüküler koordinasyonda önemli görevleri olduğu gösterilmiştir (76). AMH sentezini düzenleyen mekanizmalar tam olarak bilinmemekle beraber granüloza hücreleri üzerinde AMH reseptörleri tespit edilmesi overyan fizyolojide rolü olduğunu düşündürmektedir (77). AMH etkilerinin direk primordial hücreler üzerinden olup olmadığını göstermek için yapılan bir çalışmada, AMH bulunmayan rat overini AMH bulunan yapay ortama bıraktıktan iki gün sonra yapılan incelemede büyüyen follükül sayısının %50 azaldığı, AMH'nın primordial oositleri direk olarak etkilediği gözlenmiş ve AMH'nın primordial follükül gelişiminin aktivasyonunu ve preantral follüküllerin büyümesini azalttığı sonucu çıkartılmıştır (80). In vivo ve in vitro çalışmalar AMH eksikliğinde follüküllerin FSH'ya daha duyarlı olduğunu göstermektedir. AMH'dan yoksun farelerde düşük ve yüksek FSH konsantrasyonları ile yapılan çalışmalarda, AMH mevcut farelerle

karşılaştırıldığında, hem sayısal hem de gelişimsel olarak daha iyi yanıt alınmış olduğu gözlenmiştir (81).

Clemente ve ark. (82) ekzojen AMH'nın kültür ortamında granüloza hücrelerinde aromataz aktivitesini ve LH reseptör sayısını azalttığını göstermişlerdir. Bu çalışmalara bakarak AMH'nın overyan follüküllerin FSH'ya verdiği yanıtı belirleyen faktörlerden birisi olduğu sonucu çıkartılmıştır.

Başka bir çalışmada AMH'nın farelerde 1. mayoz bölünmeyi inhibe ettiği gösterilmiştir (83). AMH, insan granüloza-luteal hücrelerin proliferasyonunu bloke etmekte ve follüküler sıvıdaki konsantrasyonu granüloza hücrelerindeki mitoz indeksi ile ters orantı göstermektedir (84, 85). Seifer ve ark. (119) yaptıkları çalışmada, erken follüküler faz serum AMH düzeyleri ile ovulasyon indüksiyonu sonucu elde edilen oosit sayısı arasında ilişki bulmuşlardır. Özellikle yüksek serum AMH düzeylerinde daha çok sayıda oosit, matür oosit elde edilmiştir. Primordial follükül havuzunun hacmi serum AMH düzeylerini yansıtır. AMH serum düzeyinin İVF sırasında yapılan KOH sonrasında elde edilecek oosit sayısının tahmininde yol gösterici olduğu bulunmuştur. Rooij ve ark. (120) yaptıkları çalışmada İVF tedavisi sırasındaki overyan cevap ve AMH düzeylerini araştırmışlardır. Over cevabı, dolayısıyla elde edilen oosit sayısı ile AMH arasında kuvvetli bir ilişki olduğunu bulmuşlardır. AFS primordial folikül hacmi ile ilişkilidir, bunun da over rezervini yansıttığı kabul edilir. İVF tedavisinde başlangıçtaki AMH düzeyleri ve sonuçtaki over cevabı arasında güçlü bir ilişki vardır. AMH over rezervini gösteren ümit verici bir prediktördür. Çalışmamızda antagonist grupta D3 ve OPU günü AMH kan düzeyleri agonist gruptan daha yüksektir ancak bu yükseklik anlamlı değildir. Her iki grupta D3, OPU günü venöz kan AMH ve follükül sıvısı AMH düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir. Antagonist grupta follükül sıvısı AMH düzeyi agonist gruptan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Antral follükül sayısının ve toplanan oosit sayısının agonist grupta anlamlı olarak yüksek olmasından yola çıkarsak antagonist grupta agonist gruptan daha yüksek D3 AMH, OPU günü AMH düzeyleri AMH'nın follükülde primordial-primer ve preantral-antral geçişinde inhibitör etkisine bağlı olarak daha az sayıda antral follükül gelişimine ve oosit toplanmasına neden olmuş olabilir. Fertilizasyon oranı ile D3 AMH, OPU AMH arasındaki anlamlı negatif korelasyon da antral follükül sayısı, toplam oosit sayısı,

oosit kalitesi ve maturasyonu üzerindeki olumsuz etkisine bağılı olabilir. Ancak antral follikül sayısının ve toplanan oosit sayısının az olmasının nedeni antagonist grubun yaş ortalamasının agonist gruptan daha yüksek olmasına da bağılı olabilir.

Adetin üçüncü gününde saptanan AMH seviyeleri yaşla beraber düşmektedir. De Vet ve ark. (91) yaptığı çalışmada 1,1-7 yıl boyunca takip edilen olgularda AMH seviyelerinin ortalama %38 düştüğünü buna karşın aynı sürede antral follikül sayısı, bazal FSH düzeyi ve inhibin B düzeylerinde değişiklik olmadığını saptamışlardır. Over rezervini gösteren diğer belirteçlere oranla AMH'nın yaşa bağılı oosit/follikül rezervini daha iyi gösterdiği düşünülmektedir ve yaş arttıkça diğer parametrelerde değişiklik olmadan ilk olarak AMH düzeyleri azalmaktadır (92). Ancak bizim çalışmamızda her iki grupta OPU günü AMH düzeyleri D3 günü AMH düzeylerine göre artmış olup antagonist grupta yaşın anlamlı olarak yüksek olmasına rağmen D3 AMH ve OPU AMH kan seviyeleri anlamlı olmaksızın agonist gruptan daha yüksek bulunmuştur. Follikül sıvısı AMH seviyesi ile yaş arasında pozitif anlamlı korelasyon bulunmuştur. Bu sonuç çalışma popülasyonunun küçüklüğünden ileri gelebilir.

Anti-mülleryan hormon düzeyleri KOH sırasında azalmaktadır (88, 93). Bunun nedeninin FSH'nın AMH sekresyonuna olumsuz etkisi olduğu düşünülmektedir. Baarends ve ark. (75) tarafından ratlarda FSH'nın AMH ve AMHR 2 ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir. Alternatif olarak suprafizyolojik E₂ seviyelerinin overde AMH ve AMHR 2 mRNA sentezini azaltmasının da AMH seviyelerinin azalmasına neden olduğu düşünülmektedir. Yine başka bir çalışmada KOH sırasında AMH seviyeleri küçük AFS ile korelasyon göstermekte ve multiple folliküler maturasyon sonrası küçük antral follikül sayısında azalmaya bağılı olarak ve daha büyük folliküllerden oldukça az salgılanması nedeniyle azalmakta olduğu sonucuna ulaşılmıştır (81). Bizim çalışmamızda aksine KOH uygulanan iki grup içinde D3 AMH, OPU AMH ve follikül AMH düzeylerinin ikili karşılaştırılması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ve pozitif yönde korelasyon tespit edildi. Gruplar arası istatistiksel değerlendirmede ise antagonist grupta D3 AMH ve OPU AMH seviyeleri agonist grup seviyelerinden istatistiksel anlamlı olmaksızın yüksek gözlenirken, follikül sıvısı AMH düzeyi ise agonist grup seviyelerinden istatistiksel olarak yüksek bulundu. Bu yükseklik çalışma popülasyonunun ortalama AFS'nin

yüksek olması ve hiperstimülasyon sonrası çok sayıda follikül gelişmesinden ileri geliyor olabilir.

Cupisti ve ark. (121) folliküldeki AMH düzeyinin oositin maturasyonu ve gelişim potansiyeli üzerinde ters bir etkisinin olduğunu iddia etmiştir. Bizim çalışmamızda antagonist grupta kan ve follikül sıvısı AMH seviyelerinin yüksek olması, kan AMH düzeyleri ile fertilizasyon oranları arasında negatif korelasyon olması ve toplanan oosit sayısının antagonist grupta anlamlı olarak daha az olması AFS, toplam oosit sayısı ve oositin gelişim potansiyeli ve oosit maturasyonu üzerinde AMH'nın olumsuz etkisini desteklemektedir. Ancak antagonist grupta AFS'nin ve toplam oosit sayısının az olması daha yüksek yaşın sonucu da olabilir.

Takahashi ve ark. (115) follikülün AMH düzeyi arttıkça fertilize olma yeteneğinin arttığını öne sürmüştür, normoovulatuvar hastalarda fertilize olan yumurtaların AMH düzeylerini, fertilize olmayan hastalarınkinin yaklaşık 3 katı olarak bulmuşlardır. Ancak Mashlach ve ark. (122) da fertilizasyonu öngören olgun follikül oranının follikül AMH düzeyi ile ilgisinin olmadığını göstermiştir. Başka bir çalışmada artmış follikül AMH düzeyinin oosit kalitesi ve final maturasyon üzerine zararlı etkileri gösterilmiştir (123). Bizim çalışmamızda ise fertilizasyon oranları ile D3 AMH ve OPU AMH düzeyleri arasında ters negatif korelasyon izledik. Bu da yüksek AMH seviyesinin oosit kalitesi ve maturasyon üzerine olan zararlı etkisinden ileri geliyor olabilir. Birçok araştırmada olduğu gibi yapılan bir araştırmada da follikül sıvısı AMH düzeylerinin gebelik oranlarını etkilemediği gösterilmiştir (115, 124-129). Toplanan total oosit sayısı ve fertilize oosit sayısının, ortalama embriyo transfer sayısını ve gebelik oranlarını indirekt olarak etkilediği düşünülmektedir (130). Daha fazla sayıda fertilize oosit varlığı ile daha yüksek kalitede embriyoların oluşma şansının da artacağı beklenmektedir. Nitekim KOH'un da amacı budur. Çalışmaların çoğunda gruplar arasında total oosit sayısı açısından fark izlenmezken (130-132), Ludwig'in (133) metaanalizinde antagonist grubunda 2,6 oosit daha az oosit toplandığı belirtilmektedir ($p<0,05$). Yine Albano ve ark. (134) çok merkezli çalışmasında da antagonist grubunda anlamlı düzeyde az sayıda oosit elde edildiği görülmüştür (6 vs 4,1). Bizim çalışmamızda toplanan ortalama oosit sayısı, antagonist grubunda anlamlı olarak az idi ve bu durum AMH seviyelerinin

yüksekliğinden ileri gelebilir. Ancak bu durum antagonist grupta yaşın anlamlı olarak yüksek olmasına bağlı antral follikül sayısındaki azalmadan da ileri gelebilir.

Çalışmamızda her iki grupta da E₂ düzeylerinde stimülasyonun başlangıcından hCG gününe kadar progresif lineer bir artış elde izlendi. Çalışmamızda HCG günü E₂ seviyelerinde anlamlı derecede agonist grup lehine yükseklik mevcut idi (p<0,05). Literatürde bu fark bazı çalışmalarda antagonist grup lehine anlamlı düzeyde bulunmuştur (6, 132, 133). Buna karşın, Xavier ve ark. (131) çalışmasında bizim çalışmamızda olduğu gibi kişisel gonadotropin dozu ile başlanmış ve antagonist esnek rejimi kullanılmış ve gruplar arasında eşit miktarda gonadotropin dozu kullanılmış, ancak bizim çalışmamızdan farklı olarak hCG günü E₂ değerleri arasında anlamlı fark izlenmemiştir. Çalışmalardaki bu farklı sonuçlar nedeni ile hCG günü E₂ düzeylerindeki farkın anlamlılığını tedavi düzeninin ve kullanılan gonadotropin dozunun etkileyip etkilemediği konusunda çıkarımda bulunmak henüz olası görülmemektedir. HCG günü E₂ seviyesinin daha az olmasının bir nedeni olarak küçük follikül sayısındaki azlık fikri ortaya atılmıştır (134). Bizim çalışmamızda antral follikül sayısı agonist grupta anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. E₂ düzeyinin agonist grupta anlamlı olarak yüksek olması follikül sayılarının E₂ yüksekliğinde etkili olduğunu göstermektedir. Tek doz 3 mg cetorelixle, uzun protokolün karşılaştırıldığı bir çalışmada, antagonist protokolde, folliküler sıvı E₂ konsantrasyonunun daha düşük olduğu (572 vs 873 pg/mL), bunun muhtemelen antagonistlerin over hücrelerine olan direkt etkisinden ve granüloza hücre aromataz aktivitesindeki etkiden kaynaklanabileceği görüşü ileri sürülmüştür (6). Bu durumun endometriyal reseptiviteyi olumlu yönde etkileyebileceği ve diğer parametreler açısından (fertilizasyon oranı, implantasyon oranı ve gebelik oranları gibi) gruplar arasında fark olmamasının folliküler sağlık için klasik indeks olan E₂ konsantrasyonunun geçerli olmayabileceği fikri savunulmuştur (6). Buna karşit olarak, buserelin ile uzun protokol uygulanmış vakalarla yapılan bir çalışmada östrojenden zengin foliküllerden elde edilen oositlerle daha başarılı fertilizasyon ve gebelik oluşturulabileceği, östrojenin oosit matürasyonu ve başarılı embriyogenez için önemli rol oynadığı bildirilmiştir (135). Bizim çalışmamızda da gruplar arasında matür oosit sayısı, fertilize oosit sayısı, ET günü grade 1 embriyo sayısı, ET günü

ortalama embriyo skoru, fertilizasyon, embriyo gelişim ve implantasyon oranları benzer gözlenmiş olup, bu sonuç ilk görüşe daha uygun düşmektedir.

Almanya'da 116 merkezin katıldığı randomize olmayan, gözlemsel çalışmada antagonistlerin nispeten kötü sonuç beklentisi olan hastalara kullanıldığı, hastalara <35 yaş, tubal infertilite, ilk tedavi siklusu gibi kısıtlayıcı kriterler kullanıldığında gebelik oranlarının antagonist ve agonist grupta hemen hemen eşit olduğu görülmüştür (agonist: %37,8 vs antagonist: %36,7) (136). Ludwig'in retrospektif ve randomize prospektif çalışmaları değerlendirdiği metaanalizinde ve European Cetorelix Çalışma Grubu'nun yayınladığı çok merkezli çalışmada gebelik oranlarının antagonist grubunda daha düşük olduğu, ancak farkın anlamlı olmadığı sonucuna varılmış ve multidoz antagonist kullanımına farklı yaklaşımlar önerilmiştir (133). Agonist uzun protokolü ile antagonist multiple doz esnek rejiminin karşılaştırıldığı Lautradis ve ark. (130) 2004 yılındaki çalışmasında ise, gebelik oranları açısından antagonist lehine fark izlenmemiştir (%24,1 vs %18,5). Bizim protokollerimizde de tedaviyi optimize etmek amacı ile antagonistler multiple doz esnek rejim halinde kullanılmıştır. Bizim çalışmamızda ise kullanılan sınırlayıcı kriterlerle hasta homojenizasyonu sağlandığında antagonist grubunda hafifçe daha yüksek gebelik oranı elde edilmekle beraber, bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı yönünde sonuç alınmıştır (transfer başına gebelik oranı agonist grupta %33, antagonist grupta %51 ve siklus başına gebelik oranı agonist grupta %29, antagonist grupta %48). Yine bizim tedavi protokollerimizde gonadotropinler hastanın over rezervine göre farklı dozlarda başlatılmış ve doz, over cevabına göre ayarlanmıştır. Benzer şekilde kişisel gonadotropin dozu ile başlanan ve esnek rejimde antagonistlerin agonist uzun protokolü ile karşılaştırıldığı çalışmaların sonuçlarına bakıldığında, gebelik açısından tedavi protokolleri arasında diğer çalışmalardan farklı sonuç alınmamıştır (transfer başı klinik gebelik oranı agonist grubunda %20, antagonist grubunda %17) (131, 132). Bizim çalışmamızda da her iki grupta transfer başına gebelik oranları benzer bulunmuştur (transfer başına klinik gebelik oranı agonist grubunda %24, antagonist grubunda %32 idi).

Bizim çalışmamızda OPU AMH düzeyi ile Hcg günü P4 düzeyi arasında anlamlı pozitif korelasyon bulundu. AMH'nın oosit matürasyonu ve fertilizasyon oranı üzerindeki olumsuz etkisi göz önünde bulundurulursa P4 düzeyi yüksek olan

hastalarda prematür luteinizasyon riskinin artması, yüksek AMH düzeyinin prematür luteinizasyona neden olabileceği ve oosit kalitesini olumsuz etkileyebileceği düşünülebilir.

Primordial folliküllerin primer folliküle aktive olmaları siklik bir hadisedir, menapoza kadar devam eder ve bu aşama hormon bağımsızdır (17). Bu aktivasyonda TGF- β ailesinin bazı üyeleri rol almaktadır. Overyan stroma ve teka hücrelerinden salınan BMP-4 ve BMP-7 ile oosit kaynaklı büyüme farklılaşma faktörü (GDF-9) bu olayda rol oynamaktadır (18-22). GDF-9 geni olmayan fare infertil olup primer aşamadan ileri follikül gelişimi izlenmezken, GDF-9'un primordial follikülden primer folliküle geçişteki etkileri tartışmalıdır (20, 21).

TGF- β üyelerinin etkileri açısından türler arasında da farklılıklar olduğu belirtilmektedir. Örneğin oosit kaynaklı BMP-6 ve BMP-15 (GDF-9B) genleri olmayan farelerde normal follikül gelişimi ve fertilitate izlenirken, BMP-15 mutasyonu insan ve koyunda prematür overyan yetmezlik ile karakterizedir (109, 110).

Primordial-primer geçişinde olduğu gibi preantral-antral follikül gelişiminde de aktivinler, BMP-4, BMP-7, GDF-9 ve BMP-15 rol almaktadır. Oosit kaynaklı bu büyüme faktörü (BMP-15) FSH'dan bağımsız olarak granüloza hücrelerinin proliferasyonundan sorumludur (111). Gonadotropin bağımlılığının olmadığı erken follikül büyümesi döneminde follikül büyümesini BMP-15 sağlayabilmektedir. BMP-15 ilginç olarak FSH reseptör ekspresyonunu inhibe edebilmektedir. BMP-15 FSH reseptörünü baskılayarak görevini yerine getirirken, BMP-6 ise FSH reseptörünün adenilat siklaz aktivitesini inhibe eder (23, 111). Folistatin, BMP-15'in bu etkilerini antagonize etmektedir. Folistatin ekspresyonu ise en fazla dominant folikülde mevcuttur. Dolayısıyla folistatin dominant follikül seçimi esnasında follikülde yeterince FSH reseptörlerinin bulunmasını sağlamaktadır (112). Bizim çalışmamızda her iki grupta OPU günü BMP-15 düzeyi, D3 BMP-15 düzeyinden istatistiksel anlamlı olmamasına rağmen daha düşük bulunmuştur. Bunun nedeni BMP-15'in gonadotropin bağımsız aşamada granüloza hücre proliferasyonunda ve primordial-primer follikül geçişi aşamasında görev almasına bağlı olarak; D3 düzeyi OPU günü düzeyinden yüksek; dominant follikül seçimi aşamasında ise OPU düzeyi folistatinin inhibe edici etkisine bağlı olarak düşük yada artmamış tespit edilmiş olabilir. Çalışmamızda ayrıca gruplar içinde follikül sıvısı BMP-15 düzeyleri, D3

BMP-15 ve OPU BMP-15 düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek idi. BMP-15 OPU düzeyi fertilizasyon oranı ve follikül sıvısı BMP-15 düzeyi ile anlamlı negatif korelasyon gösterdi. Agonist grupta anlamlı olmamakla beraber BMP-15 düzeylerinin antagonist gruptan yüksek olması ve fertilizasyon oranlarının yine anlamlı olmaksızın agonist grupta daha düşük olması yüksek BMP-15 düzeyinin dominant follikül seçiminden OPU gününe kadar olan KOH süresinde dominant follikül seçimi ve oosit kalitesi üzerinde yapacağı olumsuz etkiye bağlı olarak fertilizasyon oranının düşmesine neden olabileceği sonucu çıkarılabilir. Granüloza hücre proliferasyonu ve follikül büyümesi esnasında prematür lüteinizasyonun önlenmesi önemlidir. Bu bağlamda oosit kaynaklı faktörler BMP-6, BMP-15 ve GDF-9 gonadotropin ile olan progesteron sentezini baskılayarak prematür lüteinizasyonu inhibe ederler (112). Çalışmamızda D3 BMP-15 düzeyi ile Hcg P4 arasında pozitif anlamlı korelasyon tespit edilmiştir; bunun nedeni prematür lüteinizasyonu engelleme mekanizması olabilir. Ayrıca Hcg günü endometriyal kalınlık ile D3 BMP-15 düzeyi arasında pozitif anlamlı korelasyon tespit edildi. Bu durum BMP-15'in TGF- β ailesine ait doku gelişimi ve homeostazını da içeren birçok hücre ve doku fonksiyonunda kilit düzenleyici bir sitokin olmasına bağlı olarak endometriyal kalınlığın artışına olan etkisinden kaynaklanabilir.

Sonuç olarak: İVF tedavisinde overlerin gonadotropin stimülasyonuna yanıtının az olmasına bağlı olarak, kötü over rezervli olgularda, siklus iptallerinin daha sık, toplanan oosit sayısı ve transfer edilen embriyo sayısının daha az, klinik gebelik oranlarının daha düşük olduğu gözlenmektedir. Tedavilerin maliyeti, yan etkileri, hasta açısından zorlukları göz önüne alındığında uygun hasta seçimi ve uygun prognoz belirlenmesinin oldukça önemli olduğu görülmektedir. Overyan yanıtın tedaviye başlanmadan ön görülmesi; siklus iptallerinin oranlarını azaltmakta, aynı zamanda hekime uygun tedavi stratejileri geliştirme ve hastaların oosit donasyonu gibi alternatif yöntemlere yöneltilmesine imkan sağlayabilmektedir. Çalışmalar follikül/oosit maturasyonunu arttıran belirteçleri tayin etmek için yapılmakta ve bu şekilde fertilizasyonun, gebelik oranlarının arttırılması hedeflenmektedir. Son çalışmalarda preantral, geç pre-antral ve preovuluar folliküllerde AMH mRNA seviyelerinin oositin gelişim evreleriyle paralel olarak düzenlendiği, AMH'nin intra ve inter-folliküler koordinasyonda önemli görevleri

olduğu gösterilmiştir. BMP-15 primordial-primer follikül gelişim aşamasında, preantral-antral follikül geçiş aşamasında (hormon bağımsız) ve gonadotropin ile olan P4 sentezini baskılayarak prematür lüteinizasyonu inhibe etmede görev aldığı gösterilmiştir. Günümüzde bu sitokinlerin periferik venöz kan ve follikül sıvısındaki profilleri üzerine henüz fikir birliği oluşmamıştır.

Bizim alışmamızda çeşitli nedenlerden dolayı İVF tedavisine alınan 82 hastada; iki gruba ayrılarak D3 ve OPU günü alınan periferik venöz kan örneğinde ve follikül sıvısındaki BMP-15 ve AMH seviyelerinin overyan yanıtın prediksyonunda yeri ve agonist protokol ve antagonist protokol uygulanan hastalarda bu hormon düzeylerinin İVF sonuçlarını öngörmede kullanılabilirlikleri araştırıldı. Gruplar arasında D3 BMP-15 ve OPU BMP-15, follikül BMP-15, D3 AMH, OPU AMH düzeyleri benzer bulundu ve bu hormon seviyelerinde anlamlı bir farklılık saptanmadı. Follikül sıvısı AMH düzeyleri ise istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu. AMH ve BMP-15 düzeyleri ile fertilizasyon oranları (FR) arasında negatif anlamlı korelasyon olması bu iki peptidin toplanan oosit sayısı, oosit matürasyonu, fertilizasyon ve gebelik oranlarında negatif etkilerinin olabileğini düşündürdü. Bu konu ile ilgili daha fazla hastanın araştırmaya dahil edildiği yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

5.KAYNAKLAR

1. Speroff L, Glass NH, Kase RG. Clinical Gynaecologic Endocrinology and Infertility. 6 th edition. 1999: 1013-1097.
2. Barbieri RL. Female infertility. Strauss FJ, Barbieri RL (editors), Reproductive endocrinology. Pensylvania: Elsevier Inc. 5th Ed, 2004: 633-668.
3. Elder K, Barker DJ, Ribes JA. Infections, Infertility and Assisted Reproduction. Cambrige University Press, 2005.
4. Steptoe PC, Edwards RG, Birth after the reimplantation of a human embriyo. Lancet 1978; 2: 366.
5. Tuarnaye H. Gamete source and manupulation. Vayana E, Rowe PS, Griffin PD (editors). Current practices and controversies in assisted reproduction: report of a WHO meeting. Geneva: WHO, 2002: 83-101.
6. Garcia-Velasco JA, Isaza V, Vidal C, Landazábal A, Remohí J, Simón C, Pellicer A. Human ovarian steroid secretion in vivo: Effects of GnRH agonist versus antagonist (cetrotorelix). Human Reproduction 2001; 16: 2533-2539.
7. Shapiro DB. An overview of GnRH antagonists in infertility treatments. Introduction. Fertil Steril 2003; 80: 1-7.
8. Olivennes F, Cunha-Filho JS, Fanchin R, Bouchard P, Frydman R. The use of GnRH antagonists in ovarian hyperstimulation. Human reproduction Update 2002; 8: 279-290.
9. Hugues JN. Ovarian stimulation for assisted reproductive technologies. Vayana E, Rowe PS, Griffin PD (editors). Current practices and controversies in assisted reproduction: report of a WHO meeting. Geneva: WHO, 2002: 102-125.

10. Weinstein M, Wood AJ, Chang MC. Age patterns in fecundability. Gray R, Leridon H, Spira A (editors). *Biomedical and Demographic Determinants of Reproduction*. Clarendon Press, Oxford, 1993; 209–220.
11. Abma JC, Chandra A, Mosher WD, Peterson LS, Piccinino LJ. Fertility, family planning, and women's health: New data from the 1995 National Survey of Family Growth. *Vital Health Stat* 1997; 23: 1–114.
12. Spira A. The decline of fecundity with age. *Raturitas* 1988; 1: 15–22.
13. Pellicer A, Lightman A, Diamond MP, Russell JB, De Cherney AH. Outcome of in vitro fertilization in women with low response to ovarian stimulation. *Fertil Steril* 1987; 47: 812–815.
14. Laufer N, Navot D. Human in vitro fertilization. AH De Cherney (editor), *Reproductive Failure*, 1st Ed. New York: Churchill Livingstone, 1986: 219–246.
15. Lekamge DN, Barry M, Kolo M, Lane M, Gilchrist R, Kelton P. Anti-mullerian hormone as a predictor of IVF Outcome. *Reprod Biomed Online* 2007; 14: 602-610.
16. Dube JL, Wang P, Elvin J, Lyons KM, Celeste AJ, Matzuk MM. The bone morphogenetic protein 15 gene is X-linked and expressed in oocytes. *Mol Endocrinol* 1998; 12: 1809-1817.
17. Oktem O, Oktay K. The ovary: Anatomy and function throughout human life. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1127: 1-9.
18. Lee WS, Otsuka F, Moore RK, Shimasaki S. Effect of bone morphogenetic protein-7 on folliculogenesis and ovulation in the rat. *Biol Reprod* 2001; 65: 994-999.
19. Nilsson EE and Skinner MK. Bone morphogenetic protein-4 acts as an ovarian follicle survival factor and promotes primordial follicle development. *Biol Reprod* 2003; 69: 1265-1272.

20. Dong J, Albertini DF, Nishimori K, Kumar TR, Lu N, Matzuk MM. Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature* 1996; 383: 531-535.
21. Carabatsos MJ, Elvin J, Matzuk MM, Albertini DF. Characterization of oocyte and follicle development in growth differentiation factor-9-deficient mice. *Dev Biol* 1998; 204: 373-384.
22. Vitt UA, McGee EA, Hayashi M, Hsueh AJ. In vivo treatment with GDF-9 stimulates primordial and primary follicle progression and theca cell marker CYP17 in ovaries of immature rats. *Endocrinology* 2000; 141: 3814-3820.
23. Shimasaki S, Moore RK, Otsuka F, Erickson GF. The bone morphogenetic protein system in mammalian reproduction. *Endocr Rev* 2004; 25: 72-101.
24. Forti G, Krausz C. Evaluation and treatment of the infertile couple. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 4177-4188.
25. Kahraman S, Yakın K. Ovulasyon indüksiyonu. İstanbul Memorial Hastanesi Yardımcı Üreme Teknikleri ve Reprodüktif Endokrinoloji Merkezi, 2000.
26. Scott RT, Opsahl MS, Leonardi MR, Neall GS, Illions EH, Navot D. Life table analysis of pregnancy rates in a general infertility population relative to ovarian reserve and patient age. *Hum Reprod* 1995; 10: 1706–1710.
27. Templeton A, Morris JK, Parslow W. Factors that affect outcome of invitro fertilization treatment. *Lancet* 1996; 348: 1402–1406.
28. Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, Nelson JF. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: Implications for forecasting menopause. *Hum Reprod* 1992; 7: 1342–1346.
29. Bukman A, Heineman MJ. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility. *Hum Reprod Update* 2001; 7: 581–590.

30. Chuang CC, Chen CD, Chao KH, Chen SU, Ho HN, Yang YS. Age is a better predictor of pregnancy potential than basal follicle-stimulating hormone levels in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2003; 79: 63–68.
31. Lass A, Croucher C, Duffy S, Dawson K, Margara R, Winston. One thousand initiated cycles of in vitro fertilization in women or 5 40 years of age. *Fertil Steril* 1998; 70: 1030–1034.
32. Van Montfrans JM, Hoek A, van Hooff MH, de Koning CH, Tonch N, Lambalk CB. Predictive value of basal follicle-stimulating hormone concentrations in a general subfertility population. *Fertil Steril* 2000; 74: 97–103.
33. Creus M, Peñarrubia J, Fábregues F, Vidal E, Carmona F, Casamitjana R, et al. Day 3 serum Inhibin B and FSH and age as predictors of assisted reproduction treatment outcome. *Hum Reprod* 2000; 15: 2341–2346.
34. Toner JP, Philput CB, Jones GS, Muasher SJ. Bazal follicle stimulating hormone level is a better predictor of in vitro fertilization performance than age. *Fertil Steril* 1991; 55: 784–791.
35. Bancsi LF, Broekmans FJ, Mol BW, Habbema JD, te Velde ER. Performance of basal follicle stimulating hormone in the prediction of poor ovarian response and failure to become pregnant after in vitro fertilization: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2003; 79: 1091–1100.
36. Perez MM, Gromoll J, Behre HM, Gassner C, Nieschlag E, Simoni M. Ovarian response to follicle-stimulating hormone (FSH) stimulation depends on the FSH receptor genotype. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3365–3369.
37. Sudo S, Kudo M, Wada S, Sato O, Hsueh AJ, Fujimoto S. Genetic and functional analyses of polymorphisms in the human FSH receptor gene. *Mol Hum Reprod* 2002; 8: 893–899.

38. Bukulmez O, Arici A. Assessment of ovarian reserve. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2004; 16: 231–237.
39. Scott RT, Hofmann GE. Prognostic assessment of ovarian reserve. *Fertil Steril* 1995; 63: 1-11.
40. Lambalk CB, de Koning CH. Interpretation of elevated FSH in the regular menstrual cycle. *Maturitas* 1998; 30: 215–220.
41. Barroso G, Oehninger S, Monzo A, Kolm P, Gibbons WE, Muasher SJ. High FSH/ LH ratio and low LH levels in basal cycle day 3: Impact on follicular development and IVF outcome. *J Assist Reprod Genet* 2001; 18: 499–505.
42. Mukherjee T, Copperman AB, Lapinski R, Sandler B, Bustillo M, Grunfeld L. An elevated day three follicle-stimulating hormone: luteinizing hormone ratio (FSH: LH) in the presence of a normal day 3 FSH predicts a poor response to controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril* 1996; 65: 588–593.
43. Smotrich DB, Widra EA, Gindoff PR, Levy MJ, Hall JL, Stillman RJ. Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1995; 64: 1136-1140.
44. Buyalos RP, Daneshmand S, Brzechffa PR. Bazal estradiol and follicle-stimulating hormone predict fecundity in women of advanced reproductive age undergoing ovulation induction therapy. *Fertil Steril* 1997; 68: 272-277.
45. Licciardi FL, Liu HC, Rosenwaks Z. Day 3 estradiol serum concentrations as prognosticators of ovarian stimulation response and pregnancy outcome in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1995; 64: 991–994.
46. Tomas C, Nuojua-Huttunen S, Martikainen H. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1997; 12: 220–223.

47. Scheffer GJ, Broekmans FJ, Dorland M, Habbema JD, Looman CW, te Velde ER. Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility. *Fertil Steril* 1999; 72: 845–851.
48. Frattarelli JL, Levi AJ, Miller BT, Segars JH. A prospective assessment of the predictive value of basal antral follicles in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril* 2003; 80: 350–355.
49. Hansen KR, Morris JL, Thyer AC, Soules MR. Reproductive aging and variability in the ovarian antral follicle count: application in the clinical setting. *Fertil Steril* 2003; 80: 577–583.
50. Bancsi LF, Broekmans FJ, Looman CW, Habbema JD, te Velde ER. Impact of repeated antral follicle counts on the prediction of poor ovarian response in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2004; 81: 35–41.
51. Durmusoglu F, Elter K, Yoruk P, Erenus M. Combining cycle day 7 follicle count with the basal antral follicle count improves the prediction of ovarian response. *Fertil Steril* 2004; 81: 1073–1078.
52. Chang MY, Chiang CH, Hsieh TT, Soong YK, Hsu KH. Use of the antral follicle count to predict the outcome of assisted reproductive technologies. *Fertil Steril* 1998; 69: 505–510.
53. Bancsi LF, Broekmans FJ, Eijkemans MJ, de Jong FH, Habbema JD, te Velde ER. Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: A prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertil Steril* 2002; 77: 328–336.
54. Popovic-Todorovic B, Loft A, Lindhard A, Bangsboll S, Andersson AM, Andersson AN. A prospective study of predictive factors of ovarian response in 'standart' IVF/ICSI patients treated with recombinant FSH. A suggestion for a recombinant FSH dosage normogram. *Human Reproduction* 2003; 18: 781-787.

55. Lass A, Skull J, McVeigh E, Margara R, Winston RM. Measurement of ovarian volume by transvaginal sonography before ovulation induction with human menopausal gonadotrophin for in-vitro fertilization can predict poor response. *Hum Reprod* 1997; 12: 294–297.
56. Syrop CH, Dawson JD, Husman KJ, Sparks AE, Van Voorhis BJ. Ovarian volume may predict assisted reproductive outcomes better than follicle stimulating hormone concentration on day 3. *Hum Reprod* 1999; 14: 1752–1756.
57. Sharara FI, McClamrock HD. The effect of aging on ovarian volume measurements in infertile women. *Obstet Gynecol* 1999; 94: 57–60.
58. Tepper R, Zalel Y, Markov S, Cohen I, Beyth Y. Ovarian volume in postmenopausal women: suggestions to an ovarian size nomogram for menopausal age. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1995; 74: 208–211.
59. Ng EH, Yeung WS, Fong DY, Ho PC. Effects of age on hormonal and ultrasound markers of ovarian reserve in Chinese women with proven fertility. *Hum Reprod* 2003; 18: 2169–2174.
60. Engmann L, Sladkevicius P, Agrawal R, Bekir JS, Campbell S, Tan SL. Value of ovarian stromal blood flow velocity measurement after pituitary suppression in the prediction of ovarian responsiveness and outcome of in vitro fertilization treatment. *Fertil Steril* 1999; 71: 22–29.
61. Zaidi J, Barber J, Kyei-Mensah A, Bekir J, Campbell S, Tan SL. Relationship of ovarian stromal blood flow at the baseline ultrasound scan to subsequent follicular response in an in vitro fertilization program. *Obstet Gynecol* 1996; 88: 779–784.
62. Pan HA, Cheng YC, Li CH, Wu MH, Chang FM. Ovarian stromal flow intensity decreases by age: A three-dimensional power doppler ultrasonographic study. *Ultrasound Med Biol* 2002; 28: 425–430.

63. Lambalk CB, de Koning CH, Flett A, Van Kasteren Y, Gosden R, Homburg R Assessment of ovarian reserve. Ovarian biopsy is not a valid method for the prediction of ovarian reserve. *Hum Reprod* 2004; 19: 1055–1059.
64. *Infertility and Assisted Reproduction*. © Cambridge University Press 2008.
65. Şeftalioğlu A. İnsan Embriyolojisi, 3.Baskı İstanbul: Meteksan Basım Yayın, 2003.
66. Fortune JE. Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol Reprod* 1994; 50: 225-232.
67. Follicular fluid and serum levels of İnhibin A and pregnancy-associated plasma protein A in patients undergoing IVF. *Fertil Steril* 2009; 91: 1739–1744.
68. Leroy JL, Vanholder T, Delanghe JR, Opsomer G, Van Soom A, Bols PE, et al. Metabolic changes in follicular fluid of the dominant follicule in high-yield dairy cows early post partum. *Theriogenology* 2004, 62: 1131-1143.
69. Cate RL, Mattaliano RJ, Hession C, Tizard R, Farber NM, Cheung A, et al. Isolation of the bovine and human genes for müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells. *Cell* 1986; 45: 685–698.
70. Rey R, Lukas-Croisier C, Lasala C, Bedecarras P. AMH (MIS); what we know already about the gene, the protein and its regulation. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2003; 15: 21–31.
71. Teixeira J, Maheswaran S, Donahoe, PK. Müllerian inhibiting substance: an instructive developmental hormone with diagnostic and possible therapeutic applications. *Endocrine Reviews* 2001; 22: 657–674.
72. Knebelmann B, Boussin L, Guerrier D, Legeai L, Kahn A, Josso N, et al. Anti-müllerian hormone Bruxelles: a nonsense mutation associated with the persistent müllerian duct syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 3767–3771.

73. Behringer RR, Finegold MJ, Cate RL. Müllerian inhibiting substance function during mammalian sexual development. *Cell* 1994; 79: 415–425.
74. Rajpert- De Meyts E, Jorgensen N, Graem N, Müller J, Cate RL, Skakkebaek NE. Expression of anti-müllerian hormone during normal and pathological gonadal development: Association with differentiation of sertoli and granulosa cells. *J Clin Endoc Metabol* 1999; 84: 3836–3844.
75. Baarends WM, Uilenbroek JT, Kramer P, Hoogerbrugge JW, Van Leeuwen EC, Themmen AP, et al. Anti-müllerian hormone and anti-müllerian hormone type II receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle, and gonadotropin-induced follicle growth. *Endocrinology* 1995; 136: 4951–4962.
76. Salmon NA, Handyside AH, Joyce IM. Oocyte regulation of anti-müllerian hormone expression in granulosa cells during ovarian follicle development in mice. *Developmental Biology* 2004; 266: 201–208.
77. Josso N, di Clemente N, Gouedard L. Anti-müllerian hormone and its receptors. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 179: 25–32.
78. Imbeaud S, Carre-Eusebe D, Rey R, Belville C, Josso N, Picard JY. Molecular genetics of the persistent müllerian duct syndrome: a study of 19 families. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 125–131.
79. Ingraham HA, Hirokawa Y, Roberts LM, Mellon SH, McGee E, Nachtigal MW, et al. Autocrine and paracrine müllerian inhibiting substance hormone signaling in reproduction. *Recent Prog Horm Res* 2000; 55: 53–67.
80. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Ingraham HA, Nachtigal MW, et al. Anti-müllerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology* 2002; 143: 1076–1084.
81. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Kumar TR, Matzuk MM, et al. Anti-müllerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology* 2001; 142: 4891–4899.

82. di Clemente N, Goxe B, Rémy JJ, Cate RL, Josso N, Vigier B, et al. Inhibitory effect of AMH upon aromatase activity and LH receptors of granulosa cells of rat and porcine immature ovaries. *Endocrine* 1994; 2: 553–558.
83. Tsafiriri A, Picard JY, Josso N. Immunopurified anti-müllerian hormone does not inhibit spontaneous resumption of meiosis in vitro of rat oocytes. *Biol Reprod* 1988; 38: 481–485.
84. Kim JH, Seibel MM, MacLaughlin DT, Donahoe PK, Ransil BJ, Hametz PA, et al. The inhibitory effects of müllerian-inhibiting substance on epidermal growth factor induced proliferation and progesterone production of human granulosa-luteal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 911–917.
85. Seifer DB, MacLaughlin DT, Penzias AS, Behrman HR, Asmundson L, Donahoe PK, et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist-induced differences in granulosa cell cycle kinetics are associated with alterations in follicular fluid müllerian-inhibiting substance and androgen content. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76: 711–714.
86. Lee MM, Donahoe PK, Hasegawa T, Silverman B, Crist GB, Best S, et al. Müllerian inhibiting substance in humans: Normal levels from infancy to adulthood. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 571–576.
87. Cook CL, Siow Y, Taylor S, Fallat ME. Serum müllerian inhibiting substance levels during normal menstrual cycles. *FertilSteril* 2000; 73: 859–861.
88. La Marca A, Malmusi S, Giulini S, Tamaro LF, Orvieto R, Levratti P, et al. Anti-müllerian hormone plasma levels in spontaneous menstrual cycle and during treatment with FSH to induce ovulation. *Human Reproduction* 2004; 19: 2738–2741.
89. Long WQ, Ranchin V, Pautier P, Belville C, Denizot P, Cailla H, et al. Detection of minimal levels of serum anti-müllerian hormone during follow-up of patients with ovarian granulosa cell tumor by means of a highly

sensitive enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 540–544.

90. La Marca A, De Leo V, Giulini S, Orvieto R, Malmusi S, Giannella L, et al. Anti-müllerian hormone in premenopausal women and after spontaneous or surgically induced menopause. *J Soc Gynecol Investig* 2005; 12: 545–548.
91. de Vet A, Loven JS, de Jong FH, Themmen AP, Fauser BC. Anti-müllerian hormone serum levels: A putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril* 2002; 77: 357–362.
92. Van Rooij IA, Tonkelaar I, Broekmans FJ, Looman CW, Schefferde GJ, Jong FH. Anti-müllerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition. *Menopause* 2004; 11: 601–606.
93. Fanchin R, Schonauer LM, Righini C, Frydman N, Frydman R, Taieb J. Serum anti-müllerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod* 2003; 18: 328–332.
94. Fanchin R, Schonauer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum Inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod* 2003; 18: 323–327.
95. Richardson SJ, Nelson JF. Follicular depletion during the menopausal transition. *Ann N Y Acad Sci* 1990; 592: 13–20.
96. La Marca A, Giulini S, Orvieto R, De Leo V, Volpe A. Anti-müllerian hormone concentrations in maternal serum during pregnancy. *Hum Reprod* 2005; 20: 1569–1572.
97. Fallat ME, Siow Y, Marra M, Cook C, Carrillo A. Müllerian inhibiting substance in follicular fluid and serum: A comparison of patients with tubal factor infertility, polycystic ovary syndrome, and endometriosis. *Fertil Steril* 1997; 67: 962–965.

98. Mulders AG, Laven JS, Eijkemansde MJ, Jong FH, Themmen AP, Fauser BC. Changes in anti-müllerian hormone serum concentrations over time suggest delayed ovarian ageing in normogonadotrophic anovulatory infertility. *Hum Reprod* 2004; 19: 2036–2042.
99. Cook CL, Siow Y, Brenner AG, Fallat ME. Relationship between serum müllerian-inhibiting substance and other reproductive hormones in untreated women with polycystic ovary syndrome and normal women. *Fertil Steril* 2002; 77: 141–146.
100. Pigny P, Jonard S, Robert Y, Dewailly D. Serum anti-müllerian hormone as a surrogate for antral follicle count for definition of the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endoc Metabol* 2006; 91: 941–945.
101. La Marca A, Orvieto R, Giulini S, Jasonni VM, Volpe A, De Leo V. Müllerian-inhibiting substance in women with polycystic ovary syndrome: Relationship with hormonal and metabolic characteristics. *Fertil Steril* 2004; 82: 970–972.
102. Rey RA, Belville C, Nihoul-Fekete C, Michel-Calemard L, Forest MG, Lahlou N, et al. Evaluation of gonadal function in 107 intersex patients by means of serum anti-müllerian hormone measurement. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 627–631.
103. Lane AH, Lee MM, Fuller AF, Jr Kehas DJ, Donahoe PK, MacLaughlin DT. Diagnostic utility of Müllerian inhibiting substance determination in patients with primary and recurrent granulosa cell tumors. *Gynecologic Oncology* 1999; 73: 51–55.
104. Current opinion in orthopaedics. *Türkiye Klinikleri*, 2006; 1: 4.
105. Oktay K, Karlikaya G, Akman O, Ojakian GK, Oktay M. Interaction of extracellular matrix and activin-A in the initiation of follicle growth in the mouse ovary. *Biol Reprod* 2000; 63: 457-461.

106. Eppig JJ. Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction* 2001; 122: 829-838.
107. Skinner MK. Regulation of primordial follicle assembly and development. *Hum Reprod Update* 2005; 11: 461- 471.
108. Oktay K, Briggs D, and Gosden RG. Ontogeny of follicle stimulating hormone receptor gene expression in isolated human ovarian follicles. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3748-3751.
109. Solloway MJ, Dudley AT, Bikoff EK, Lyons KM, Hogan BL, and Robertson EJ. Mice lacking Bmp-6 function. *Dev Genet* 1998; 22: 321-339.
110. Galloway SM, McNatty KP, Cambridge LM, Laitinen MP, Juengel JL, Jokiranta TS, et al. Mutations in an oocyte derived growth factor gene (BMP-15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Nat Genet* 2000; 25: 279-283.
111. Otsuka F, Yao Z, Lee T, Yamamoto S, Erickson GF, Shimasaki S. Bone morphogenetic protein-15. Identification of target cells and biological functions. *J Biol Chem* 2000; 275: 39523-39528.
112. Otsuka F, Moore RK, Iemura S, Ueno N, and Shimasaki S. Follistatin inhibits the function of the oocyte-derived factor BMP-15. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 289: 961-966.
113. Carmina E, Lobo RA. *Reproductive endocrinology*. Strauss FJ, Barbieri RL (editors). Pennsylvania: Elsevier Inc. 5th Ed, 2004: 939-961.
114. Gunalp S, Aktan E, Yucel A (editörler). WHO Laboratuvar El Kitabı: İnsan semeni ve sperm servikal mukus etkileşimi değerlendirilmesi. 4. Baskı, Ankara: Tıp Teknik Yayınevi, 2002: 60-61.
115. Takahashi C, Fujito A, Kazuka M, Sugiyama R, Ito H, Isaka K. Anti-mullerian hormone substance from follicular fluid is positively associated

with success in oocyte fertilization during in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2008; 89: 586–591.

116. Hugues J, Torresani T, Herve F, Martin-Pont B, Tamboise A, Santarelli J. Interest of growth hormone-releasing hormone administration for improvement of ovarian responsiveness to gonadotropins in poor responder women. *Fertil Steril* 1991; 55: 945–951.
117. İbrahim Z, Matson P, Buck P, Lieberman B. The use of biosynthetic human growth hormone to augment ovulation induction in busarelin acetate/human menopausal gonadotropin in women with a poor ovarian response. *Fertil Steril* 1991; 55: 202–204.
118. Scott R, Navot D. Enhancement of ovarian responsiveness with microdoses of gonadotropin-releasing hormone agonists during ovulation induction for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1994; 61: 880–885.
119. David B, Seifer MD, David T, MacLaughlin D, Benjamin P, Christian BA. Early follicular serum mullerian-inhibiting substance levels are associated with ovarian response during assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril* 2002; 77: 468-471.
120. 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* 2002; 17: 3065-3071.
121. Cupisti S, Dittrich R, Mueller A, Strick R, Stiegler E, Binder H, et al. Correlations between anti-müllerian hormone, inhibin B, and activin A in follicular fluid in IVF/ICSI patients for assessing the maturation and developmental potential of oocytes. *Eur J Med Res* 2007; 12: 604–608.
122. Mashiach R, Amit A, Hasson J, Amzalag S, Almog B, Ben-Yosef D, et al. Follicular fluid levels of anti-müllerian hormone as a predictor of oocyte maturation, fertilization rate, and embryonic development in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2010; 93: 2299–2302.

123. Desforbes-Bullet V, Gallo C, Lefebvre C, Pigny P, Dewailly D, Catteau-Jonard S. Increased anti-müllerian hormone and decreased FSH levels in follicular fluid obtained in women with polycystic ovaries at the time of follicle puncture for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2009; 90: 2112-2118.
124. Fanchin R, Mendez Lozano DH, Frydman N, Gougeon A, di Clemente N, Frydman R, et al. Anti-müllerian hormone concentrations in the follicular fluid of the preovulatory follicle are predictive of the implantation potential of the ensuing embryo obtained by in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 1796–1802.
125. Lie Fong S, Baart EB, Martini E, Schipper I, Visser JA, Themmen AP, et al. Anti-müllerian hormone: A marker for oocyte quantity, oocyte quality and embryo quality. *Reprod Biomed Online* 2008; 16: 664–670.
126. Smeenk JM, Sweep FC, Zielhuis GA, Kremer JA, Thomas CM, Braat DD. Anti-müllerian hormone predicts ovarian responsiveness, but not embryo quality or pregnancy, after in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2007; 87: 223–226.
127. Eldar-Geva T, Margalioth EJ, Gal M, Ben-Chetrit A, Algur N, Zylber-Haran E, et al. Serum anti-müllerian hormone levels during controlled ovarian hyperstimulation in women with polycystic ovaries with and without hyperandrogenism. *Hum Reprod* 2005; 20: 1814–1819.
128. Laven JS, Mulders AG, Visser JA, Themmen AP, De Jong FH, Fauser BC. Anti-müllerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 318–323.
129. Peñarrubia J, Fábregues F, Manau D, Creus M, Casals G, Casamitjana R, et al. Basal and stimulation day 5 anti-müllerian hormone serum concentrations as predictors of ovarian response and pregnancy in assisted reproductive technology cycles stimulated with gonadotropin-releasing hormone agonist-gonadotropin treatment. *Hum Reprod* 2005; 20: 915–922.

130. Lautradis D, Stefanidis K, Drakakis P, Milingos S, Antsaklis A, Michales S. A modified gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) antagonist protocol failed to increase clinical pregnancy rates in comparison with the long GnRH protocol. *Fertil Steril* 2004; 82: 1446-1448.
131. Xavier P, Gamboa C, Calejo L. A randomised study of GnRH antagonist (cetorelix) versus agonist (buserelin) for controlled ovarian stimulation: effect on safety and efficacy. *Eur J Obstetrics Gynecol Rep Biol* 2005; 120: 185-189.
132. Del Gadillo JC, Siebzehnrubl E, Dittrich R, et al. Comparison of GnRH agonist and antagonists in unselected IVF/ICSI patients treated with different controlled ovarian hyperstimulation protocols: A matched study. *Eur J Obstetrics Gynecol Rep Biol* 2002; 102: 179-183.
133. Ludwig M, Katalinic A, Diedrich K. Use of GnRH antagonists in ovarian hyperstimulation for assisted reproductive technologies compared to the long protocol. *Arch Gynecol Obstet* 2001; 265: 175-182.
134. Albano C, Felferbaum RE, Smitz J. Ovarian stimulation with HMG: Results of a prospective randomised phase III European study comparing the luteinising hormone releasing hormone (LHRH)-antagonist cetorelix and the LHRH-agonist buserelin. *Human Reproduction* 2000; 15: 526-531.
135. Loutradis D, Drakakis P, Kallianidis K. Oocyte morphology correlates with embryo quality and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1999;72: 240-244.
136. Griesinger G, Felferbaum R, Diedrich K. GnRH antagonists in ovarian hyperstimulation: a treatment regimen of clinician's second choice? Data from the German national IVF registry. *Human Reproduction* 2005; 20: 2373-2375.

6. ÖZGEÇMİŞ

1985 yılı Konya'nın Karapınar ilçesi doğumluyum. 1996 yılında Karapınar Yavuz Selim İlkokulu'ndan mezun olduktan sonra ortaokul ve lise öğrenim hayatıma Karapınar İbrahim Gündüz Anadolu Lisesi, Nevşehir anadolu lisesi ve Mersin Ticaret Sanayi Odası Anadolu lisesinde devam ettim. 2003 yılında Mersin Ticaret Anadolu Lisesinden mezun oldum. 2003 yılında Erciyes Üniversitesi Gevher Nesibe Tıp Fakültesi'nde eğitimime başladım ve 2009 yılında mezun oldum. 2009 yılında kısa bir süre Şırnak ili Cize ilçesinde pratisyen hekim olarak görev yaptım.2010 yılında Fırat Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde asistanlığa başladım ve halen araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.