

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

AÇIKLANAMAYAN İNFERTİLİTE OLGULARINDA IVF
BAŞARISI ÖNCEDEDEN PREDİKTE EDİLEBİLİR Mİ?

Dr. Tuğba İŐIKCI

Kadın Hastalıkları ve Doğum
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR
2012

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

AÇIKLANAMAYAN İNFERTİLİTE OLGULARINDA IVF BAŞARISI
ÖNCEDEDEN PREDİKTE EDİLEBİLİR Mİ?

Dr. Tuğba IŞIKCI

Kadın Hastalıkları ve Doğum
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. Hikmet HASSA

ESKİŞEHİR
2012

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA,

Dr. Tuğba IŞIKCI'ya ait 'Açıklanamayan İnfertilite Olgularında IVF Başarısı Önceden Predikte Edilebilir Mi?' adlı çalışma jürimiz tarafından Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı	Prof.Dr. Hikmet HASSA Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	İmza
Üye	Prof.Dr. A.Başar TEKİN Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	İmza
Üye	Yrd.Doç.Dr.Tufan ÖGE Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	İmza

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun.....Tarih ve.....Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Bekir YAŞAR
Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren sayın hocalarım Prof. Dr. S. Sinan ÖZALP'e, Prof. Dr. A. Başar TEKİN'e, Prof. Dr. Ö. Tarık YALÇIN'a, Prof. Dr. H. Mete TANIR'a, Yrd. Doç. Dr. Tufan ÖGE'ye, Uzm. Dr. Yunus AYDIN'a, tez çalışmamı titizlikle takip eden ve yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım sayın Prof. Dr. Hikmet HASSA'ya ve tezimin tüm istatistiklerinin hazırlanmasında yardımcı olan Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Setenay ÖNER'e yardımları ve destekleri için çok teşekkür ederim.

ÖZET

Işıkçı T. Açıklanamayan İnfertilite Olgularında IVF Başarısı Önceden Edilebilir Mi? Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları Ve Doğum Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2012.

Açıklanamayan infertilite olgularında IVF-ET (İnvitro Fertilizasyon-Embriyo Transferi) sikluslarında serum ve follikül sıvısında oosit kalitesi, embriyo gelişimi ve implantasyonunda önemli bazı belirteçlerin düzeylerinin gebeliği öngörmedeki faydasını araştırmayı amaçladık. Yaptığımız prospektif kohort çalışmada, implantasyon penceresi döneminin belirteçlerinden olan glycodelin ile birlikte oosit kalitesi ve embriyo gelişiminde önemli rolü olduğu bilinen sitokinlerin (VEGF ve IL-1 β) düzeylerini serum ve follikül sıvılarında araştırdık. Ayrıca östrojen reseptör genleri IVF sonucunu etkileyebilecek ve belli infertilite ile ilgili jinekolojik bozukluklar için risk oluşturabilecek çeşitli DNA dizi varyasyonlarını barındırdığı için buna bağlı olarak tüm olgularda östrojen reseptör polimorfizmini araştırdık. Çalışmaya Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Tüp Bebek Merkezine Haziran 2011 ile Mayıs 2012 tarihleri arasında IVF tedavisi için başvuran 40 kişi açıklanamayan infertilite, 40 kişi de diğer nedenli infertilite olgu grubu olmak üzere toplam 80 kişilik infertil olgular katıldı. Bulduğumuz sonuçlarla da gebelik oranlarını karşılaştırdık. Adetin ikinci ve beşinci günleri arası ve yumurta toplama (Oocyte Pick Up=OPU) günü alınan serumlardan ve OPU günü toplanan follikül sıvılarından VEGF, IL- β ve Glycodelin düzeyleri çalışıldı. Ayrıca adet in ikinci ile beşinci günü arasında alınan serumda östrojen reseptör polimorfizmini araştırdık. Çalışılan belirteçlerin düzeyleri ve östrojen reseptör polimorfizmi sonuçları ile açıklanamayan infertil grupta gebelik sonuçları arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Sonuç olarak IVF sikluslarında başarıyı arttırabilecek belirteçleri değerlendirdik. Bu belirteçlerin infertil hastaların değerlendirilmesinde yerini alıp alamayacağına ortaya koyulabilmesi için daha fazla sayıda açıklanamayan infertilite olguları üzerinde çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: IVF-ET, VEGF, IL-1 β , Glycodelin, Östrojen Reseptör Polimorfizmi

ABSTRACT

İşıkçı,T. Can We Predict IVF Success In The Cases Of Unexplained Infertility? Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Thesis on Speciality, Eskişehir, 2012. We aim to investigate the benefit of some important markers in predicting pregnancy of unexplained infertility cases. These markers are important in implantation, oocyte quality, embryonic development of IVF-ET (In vitro fertilization-embryo transfer) cycles. This is a prospective cohort study. We studied glycodelin, an unique marker of implantation with VEGF and IL- 1 β that have an important role in oocyte quality and embryonic development, in serum and follicular fluids. Because of the estrogen receptor genes with the DNA sequence variances, increase the risk of infertility and some gynecological diseases, estrogen receptor gene polimorphism studied too. Eighty women who admitted for IVF therapy between June 2011 and May 2012 in Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Infertility Center, were included to the study. Forty of them have unexplained infertility and the second group have other factors of infertility. Blood samples were obtained between second and fifth day of menses. Follicular fluids were collected on OPU (Oocyte Pick Up) days. VEGF, IL- β and Glycodelin levels were measured in serum and follicular fluids. Estrogen receptor gene polimorphism was studied in serum samples which were obtained between second and fifth day of the menses. According to the results, pregnancy rates were compared in the groups. There is no statistically significant association in unexplained infertility group according to pregnancy results between marker levels and estrogen receptor polimorphism results. We concluded that further studies with large series are needed to reveal the parameters that we studied could be used in evaluation of patients with unexplained infertility.

Key Words: IVF-ET, VEGF, IL-1 β , Glycodelin, Estrogen Receptor Polimorphism

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. İnfertilite Tanımı	3
2.2. İnfertilite Nedenleri	3
2.2.1. Kadına Ait Nedenler	4
2.2.2. Erkek Faktörü	16
2.2.3. Açıklanamayan İnfertilite	19
2.3. İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi	21
2.3.1. Kadın Hastanın Değerlendirilmesi	21
2.3.2. Erkek Hastanın Değerlendirilmesi	24
2.4. Yardımla Üreme Teknikleri	29
2.4.1. Ovulasyon İndüksiyonu	30
2.4.2. Ovulasyon İndüksiyonu + İntrauterin İnseminasyon	30
2.4.3. İn Vitro Fertilizasyon	30
2.4.4. İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu	32
2.4.5. Testis Biyopsisi	33
2.5. Yardımla Üreme Teknikleri Başarısını Belirleyen Faktörler	35
2.5.1. Over Rezerv Tayini	36
2.5.2. Over Gelişim Potansiyeline Etkili Follikül Sıvısı Belirteçleri	43
2.5.3. Endometrial Reseptivite	44
2.5.4. Overde IL-1 Sistemi	45
2.5.5. İmplantasyonun Moleküler Belirteçleri	46

	Sayfa
2.6. Kontrollü Ovaryen Hiperstimülasyon	47
2.7. Yardımla Üreme Teknikleri Siklusunda Tedavi Protokolü	55
2.7.1. Ovulasyonun Tetiklenmesi	55
2.7.2. Luteal Faz Desteği	56
2.7.3. Tedavide Monitörizasyon	56
2.8. IVF’de Ultrasonografi	58
2.8.1. Ovaryen Değerlendirme	58
2.9. Doppler Ultrasonografi	60
2.9.1. Doppler Teorisi	60
2.9.2. Doppler İndeksleri	61
2.9.3. Renkli Doppler Sonografi	62
2.9.4. IVF’de Doppler İncelemelerinin Yeri	62
2.10. Kadınlarda Östrojen Hormonunun İşlevi	63
2.10.1. Östrojen Üretimi	64
2.10.2. Östrojenlerin Etki Mekanizması	64
2.10.3. Östrojen Reseptör Proteini Alfanın Yapısı	65
2.10.4. Östrojen Reseptör Geni	66
2.10.5. Östrojen Reseptör Gen Polimorfizmleri	67
2.11. İmplantasyon Fizyolojisi	70
2.11.1. Apozisyon Ve Adezyon	71
2.11.2. İnvazyon	71
2.12. Yardımla Üreme Teknikleri Siklusları ve İmplantasyon	72
3.GEREÇ VE YÖNTEM	74
4.BULGULAR	82
5.TARTIŞMA	124
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	146
KAYNAKLAR	148

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AF	Aktivasyon işlevi
AFC	Antral follikül sayısı
AFS	Amerikan fertilité komitesi
ALT	Alanin aminotransferaz
AMA	Tiroid antimikrozomal antikor
AMH	Antimüllerian hormon
APA	Antifosfolipid antikor
Ark.	Arkadaşları
ASA	Antisperm antikor
ASRM	American Society for Reproductive Medicine
AST	Aspartat transaminaz
ATA	Organ spesifik antitiroid antikor
BMI	Beden kitle indeksi
CSF	Koloni stimüle edici faktör
DES	Dietilstilbestrol
DNA	Deoksiribonükleik asid
dNTP	Deoksiribonükleozid trifosfat
EDTA	Etilendiamintetraasetikasit
EK	Endometrium kalınlığı
ESHRE	European Society of Human Reproduction and Embriyology
ET	Embriyo transferi
FDA	Food and Drug Administration
FSH	Follikül stimüle edici hormon
GIFT	Gamet intrafallopian transfer
GnRH	Gonadotropin serbestleştirici hormon
GnRH _a	Gonadotropin serbestleştirici hormon agonisti
hCG	İnsan koryonik gonadotropini
hMG	İnsan menopozal gonadotropini
HOS	Hipo-ozmotik şişme

HSG	Histerosalpingografi
LH	Luteinizan hormon
LIF	Lösemi inhibitör faktör
LS	Laparoskopi
LT	Laparotomi
ICSI	İntrasitoplazmik sperm injeksiyonu
Ig	İmmünglobulin
IL	İnterlökin
IU	İnternational Unit
IUI	İntrauterin inseminasyon
IVF	İn-vitro fertilizasyon
KOH	Kontrollü ovaryen hiperstimülasyon
KS	Klomifen sitrat
MAR	Mikst aglutinasyon reaksiyonu
MESA	Microsurgical epididymal sperm aspiration
MIS	Müllerian inhibe edici substans
mRNA	Messenger ribonükleik asid
NIH	National İnstitute of Health
NO	Nitrik oksit
NOA	Non-obstrüktif azoospermi
OA	Obstrüktif azoospermi
OMI	Oosit maturasyon inhibitörü
OI	Ovulasyon indüksiyonu
OPU	Oosit pick-up
OV	Over volümü
ÖR	Östrojen reseptörü
ÖR α	Östrojen reseptörü alfa
ÖR β	Östrojen reseptörü beta
P	Progesteron
PAEP	Progestagen ilişkili endometrial protein
PAI-1	Plazminojen aktivatör inhibitörü-1
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu

PESA	Perkutan epididimal sperm aspirasyonu
pFSH	Saf follikül stimüle edici hormon
pGnRH	Pulsatil gonadotropin serbestleştirici hormon
PID	Pelvik inflamatuvar hastalık
PKOS	Polikistik over sendromu
PKT	Postkoital test
PRL	Prolaktin
PZT	Piezoelectric transducer
recFSH	Rekombinant follikül stimüle edici hormon
r-hCG	Rekombinant insan koryonik gonadotropin
r-hLH	Rekombinant insan luteinizan hormon
RFLP	Restriction fragment length polymorphism
RNA	Ribonükleik asid
SCO	Sertoli Cell Only
SNP	Single nucleotide polymorphism
SUZI	Sub-zonal sperm insemination
TBE	Tris-Borik asit-EDTA
TESA	Testikuler sperm aspirasyonu
TESE	Testikuler sperm ekstraksiyonu
TGF- β	Transforming growth factor beta
TMS	Toptam motil sperm sayısı
TNF	Tümör nekroz edici faktör
TRUSG	Transrektal ultrasonografi
TSH	Tiroid stimüle edici hormon
TVUSG	Transvajinal ultrasonografi
UAPI	Uterin arter pulsatilite indeksi
uFSH	Üriner follikül stimüle edici hormon
u-hCG	Üriner insan koryonik gonadotropin
USG	Ultrasonografi
UV	Ultraviyole
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü

XO	Turner sendromu
YÜT	Yardımla üreme teknikleri
ZCT	Zamanlanmış cinsel temas
ZIFT	Zigot intrafallopian transfer
ZIF-1	Zona binding inhibitory factor-1
A	Adenin
A/G	Adenin/Guanin
C	Sitozin
C ₁₈	18 karbonlu
cm ³	Santimetre küp
°C	Santigrad derece
dk	Dakika
E ₁	Östron
E ₂	Östradiol
E ₃	Östriol
fT3	Serbest triiyodotronin
fT4	Serbest tiroksin
G	Gauge
g	Gravite
gr	Gram
H ₂ O	Su
Kb	Kilobayt
kDA	Kilodalton
MII	Metafaz II
m ²	Metrekare
mcg	mikrogram
mg	Miligram
mm	Milimetre
ml	Mililitre
MgCl ₂	Magnezyum klorür
mm Hg	Milimetre civa
mM	Milimol

μM	Mikromol
μl	Mikrolitre
ng/ml	Nanogram/mililitre
O_2	Oksijen
pg/ml	Pikogram / mililitre
PI	Pulsatilite indeksi
RI	Rezistans indeksi
S/D	Sistol/Diyastol
Sn	Saniye
T	Timin
Vmax	Maksimum hız
%	Yüzde
α	Alfa
β	Beta

TABLOLAR

	Sayfa
2.1. Klasik semen analizi	26
2.2. Dutch Society of Obstetrics and Gynecology: IVF-ICSI endikasyonları	32
2.3. ICSI endikasyonları	33
3.1. ÖR1'de rs2234693 ve rs9340799 polimorfizmlerini içeren bölgenin PZT tepkime karışımı	80
3.2. ÖR2'de rs1256049 polimorfizmlerini içeren bölgenin PZT tepkime karışımı	81
4.1. Seksen olgu içinde gebe kalan ve kalamayan grupta demografik özellikler ve over rezervleri açısından genel karşılaştırma	90
4.2. Seksen olguda AMH değerlerinin ilişkili faktörlerle korelasyonu	91
4.3. Diğer faktörler adı altında (kontrol grubu) ve açıklanamayan infertil hastalardan gebe kalanların ortalama yaş, BMI, ikinci ile beşinci günleri arası ortalama FSH-E ₂ -LH-AMH ve İnhibin B değerleri ile antral follikül sayıları, over volümleri ve endometrium kalınlıkları açısından karşılaştırılması	92
4.4. Diğer faktörler adı altında (kontrol grubu) ve açıklanamayan infertil hastalardan gebe kalamayanların ortalama yaş, BMI, ikinci ile beşinci günler arası ortalama FSH-E ₂ -LH-AMH ve İnhibin B değerleri ile antral follikül sayıları, over volümleri ve endometrium kalınlıkları açısından karşılaştırılması	94
4.5. Açıklanamayan infertil grup ve diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalamayanlarda antral follikül, toplanan oosit ve matür oosit sayısı ilişkisi	95
4.6. Diğer faktörleri içeren grupta gebe kalanlar ve kalamayanların serum ve follikül sıvısındaki sitokin düzeyleri ve birbiriyle ilişkileri	96
4.7. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalanlar ve kalamayanların serum ve follikül sıvısındaki sitokin düzeyleri ve birbiriyle ilişkileri	98
4.8. Açıklanamayan ve diğer faktörleri içeren infertil olgular arasında serum VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri	99
4.9. Açıklanamayan infertilitesi olan grubun gebeleri ile diğer faktörlere sahip kontrol grubunun gebeleri arasında VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri	99
4.10. Açıklanamayan infertilitesi olan grupta gebelik oluşmayanlar ile diğer faktörlere sahip kontrol grubunun gebelik oluşmayan olgularında arasında VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri	100

	Sayfa
4.11. Açıklanamayan ve diğer faktörleri içeren infertil olgular arasında follikül sıvılarında VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri	102
4.12. Açıklanamayan infertilitesi olan grubun gebeleri ile diğer faktörlere sahip kontrol grubunun gebeleri arasında OPU günü serum ve follikül sıvısı VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri	102
4.13. Açıklanamayan infertilitesi olan grupta gebelik oluşmayan olgular ile diğer faktörlere sahip kontrol grubunun gebelik oluşmayan olguları arasında OPU günü serum ve follikül sıvısı VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri	103
4.14. Seksen kişilik çalışma grubunda toplam gebe kalanlar ile kalamayanlar arasında serum ve follikül sıvısındaki VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri ve birbiriyle ilişkileri	104
4.15. Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebelik oluşunlar ve oluşmayanlarda hCG günü EK ve UAPI değerleri	104
4.16. Açıklanamayan infertil grupta gebelik oluşunlar ve oluşmayanlarda hCG günü EK ve UAPI değerleri	105
4.17. GnRH agonisti kullanan grupta gebe kalanlar ve kalamayanlar arasında gün 2-5 ve OPU günü serum ve follikül sıvısında VEGF, IL 1 β ve Glycodelin düzeylerinin karşılaştırılması	105
4.18. GnRH antagonisti kullanan grupta gebe kalanlar ve kalamayanlar arasında gün 2-5 ve OPU günü serum ve follikül sıvısında VEGF, IL 1 β ve Glycodelin düzeylerinin karşılaştırılması	106
4.19. Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalanlar arasında GnRH agonisti ve antagonisti kullananlarda serum VEGF, IL 1 β ve Glycodelin düzeyleri	107
4.20. Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalanlar arasında GnRH agonisti ve antagonisti kullananlarda OPU günü serum ve follikül sıvılarında VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri	108
4.21. Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalamayanlar arasında GnRH agonisti ve antagonisti kullananlarda serum VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri	109
4.22. Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalamayanlar arasında OPU günü serum ve follikül sıvılarında VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri	110
4.23. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalanlar arasında GnRH agonist ve antagonisti kullananlarda serum VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri	111

	Sayfa
4.24. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalanlar arasında OPU günü serum ve follikül sıvılarında VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri	111
4.25. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalamayanlar arasında GnRH agonisti ve antagonisti kullananlarda serum VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri	112
4.26. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalamayanlar arasında OPU günü serum ve follikül sıvılarında VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri	113
4.27. Diğer faktörleri içeren infertil ve açıklanamayan infertil olgularda gonadotropin dozu ve süresi	114
4.28. Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalanlarda PvuII polimorfizmi	116
4.29. Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalamayanlarda PvuII polimorfizmi	117
4.30. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalanlarda PvuII polimorfizmi	118
4.31. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalamayanlarda PvuII polimorfizmi	120
4.32. Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalamayanlarda XbaI polimorfizmi	122
4.33. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalanlarda XbaI polimorfizmi	123
4.34. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalamayanlarda XbaI polimorfizmi	124
4.35. Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalamayanlarda RsaI polimorfizmi	126
4.36. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalamayanlarda RsaI polimorfizmi	127

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Menstrüel siklustaki hormonal değişiklikler	5
2.2. Uterin anomalilerin AFC'nin 1988 sınıflandırması	14
2.3. Normal HSG görüntüsü	24
2.4. Uterin arter pulsatilite indeksinin ölçümü	64
2.5. İnsan östrojen reseptör α (ÖR α) proteininin işlevsel bölgeleri. AF-1 Aktivasyon işlevi 1, AF-2, Aktivasyon işlevi 2	66
2.6. İnsan östrojen reseptör 1 geni intron ve ekson bölgeleri	68
2.7. İnsan östrojen reseptör 1 geni 1. intronunda yer alan PvuII (c.454-397T>C) ve XbaI (c.454-351A>G) polimorfizmlerinin yerleşimi	70
3.1. ÖR1'de rs2234693 polimorfizminin belirlenmesi için PZT ürünlerinin PvuII restriksiyon enzimi ile kesimi	85
3.2. ÖR1'de rs2234693 polimorfizminin belirlenmesi için PZT ürünlerinin XbaI restriksiyon enzimi ile kesimi	86
3.3. ÖR2'de rs1256049 polimorfizminin belirlenmesi için PZT ürünlerinin RsaI restriksiyon enzimi ile kesimi	87
4.1. Çalışmaya dahil edilen 80 olgunun infertilite tipi ve sayısı	88
4.2. Spermiogram sonuçları	89

1.GİRİŞ

İnfertilite, korunmasız cinsel ilişkiye rağmen bir yıl sürecinde gebe kalınamaması olarak tanımlanmaktadır. Bu durum üreme yaş grubundaki çiftlerin %10-15'ini etkilemektedir. Fekundabilite, tek menstrüel siklusta gebe kalabilme olasılığıdır (normal çiftlerin %25'i). Fekundite ise tek menstrüel siklusta canlı doğum elde edilebilme yeteneği olarak tanımlanmaktadır. İnfertilite sıklığı ve nedenleri toplumdan topluma değişkenlik gösterir. Sağlıklı bir çiftin bir ayda gebe kalma şansı yaklaşık % 25'dir. Yine sağlıklı çiftlerde gebeliğin oluşmadığı siklus sayısı ne kadar artar ise fekundabilite oranları da ters orantılı olarak azalmaktadır. Otuz bir yaş üstünde yaş artışı ile fekundabilite oranları azalmaktadır (1,2).

İnfertilitenin en sık sebepleri, ovulatuvar bozukluk, tubal ve peritoneal faktör ve erkek faktörleridir, uterin patoloji genellikle seyrek görülmektedir ve geri kalanı ise nedeni açıklanamayan infertilitedir. Her birisinin sıklığı yaşla birlikte değişmektedir. Yapılan bir çalışmada genç kadınlarda ovulasyon bozuklukları daha sık bulunurken, tubal ve peritoneal patoloji genç ve yaşlılarda eşit sıklıkta bulunmuştur. Erkek faktörü ve açıklanamayan infertilite yaşlı çiftlerde daha sık saptanmıştır (3).

Son yirmi yılda infertilite konusunda 3 önemli gelişme olmuştur. Bunlardan birincisi in vitro fertilizasyon (IVF) ve yardımla üreme teknikleri (YÜT)'nin uygulanmasıyla başarılı tedavi olanaklarının artması ve temel üreme yöntemleri alanındaki çalışmalarda ilerleme sağlanabilmesidir. Yardımla üreme teknikleri overlerden direkt olarak oositlerin toplanmasını içeren tüm teknikleri ifade etmektedir. İkincisi toplum demografilerindeki değişimler biyolojik olarak daha az fertil olan ileri yaş kadınların gebelik isteğinin artışı olmuştur. Üçüncüsü ise YÜT'de gelişmeler ve yaşa bağlı fatalitenin azalması, medyanın ilgisi, fertilite ve modern tedavi yöntemleri hakkında toplumun duyarlılığı artmıştır (1).

Sonuç olarak infertil çiftler günümüzde medikal öneri, değerlendirme ve tedavi için daha şanslıdır.

Temel infertilite değerlendirmesi şunları içerir:

- Semen analizi

- Ovulasyon tespiti için testler (Midluteal progesteron (P) ölçümü-luteinizan hormon (LH) ölçümü)
- Over rezerv testleri
- Transvajinal ultrasonografi (TVUSG)
- Histerosalpingografi (HSG) (1,2)

Ancak oosit kalitesini gösterebilecek, implantasyon oranını tahmin edebilecek IVF başarısını predikte edebilecek daha ileri belirteçlerin araştırılmasına ihtiyaç vardır. Bunun için çalışmamıza serumda ve follikül sıvısında çalışılabilen yeni belirteçler ekledik.

Çalışmamızın amacı açıklanamayan infertilite tanısı ile ve YÜT programına alınan olgularda IVF başarısını predikte edebilecek belirteçlerin varlığını araştırmaktır. Çalışılan belirteçler olgu grubumuzla diğer faktörleri (erkek faktör, tubal faktör, ağır pelvik yapışıklık, ovulatuvar faktör) içeren infertil grup arasında karşılaştırma yapılarak değerlendirilmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. İnfertilite Tanımı

İnfertilite, çiftlerin bir yıl sürecinde korunmaksızın düzenli cinsel ilişkide (haftada en az iki gün) bulunmasına rağmen gebe kalamamasıdır. Üreme çağındaki çiftlerin % 10-15'inde infertiliteye rastlanır. İnfertilitenin sıklığı ve nedenleri bir toplumdan diğerine farklılık gösterir. Çiftlerin % 30-40'ında erkek, % 40-50'sinde ise kadın infertiliteden sorumludur. %10-15 çiftte ise günümüzdeki mevcut standart tanılmal testler ile açıklanamayan infertilite mevcuttur (1,2).

Son 20 yılda infertilite alanında çarpıcı gelişmeler ve değişiklikler olmuştur. Bunlardan birisi başarılı tedavi olasılığı ve üreme üzerinde temel çalışma olanaklarını arttıran YÜT'ün gelişmesi, diğeri ise YÜT hakkında medya tarafından bilgilendirilen çiftlerin sayısındaki artış ve buna paralel olarak yardım arayışı içinde olan çiftlerin başvurularındaki artıştır (1).

Diğeri bir neden de 35 yaş üzerinde olup infertilite konusunda yardım arayışı içinde olan kadınların sayısındaki artıştır. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'inde her beş kadından biri ilk çocuğuna 35 yaşından sonra sahip olmaktadır ki bu daha öncesine göre önemli bir değişikliktir. Bu artış, daha geniş bir evlenme yaş aralığından ve kadınların iş hayatına bağlı olarak gebeliklerini geciktirmelerinden kaynaklanmaktadır (1).

2.2. İnfertilite Nedenleri

İnfertilitenin en sık sebepleri, ovulatuvar bozukluk, tubal ve peritoneal patoloji ve erkek faktörleridir. Uterin patoloji genellikle seyrek görülmektedir ve geri kalanı ise nedeni açıklanamayan infertilitedir. Her birisinin sıklığı yaşla birlikte değişmektedir. Yapılan bir çalışmada genç kadınlarda ovulasyon bozuklukları daha sık bulunurken, tubal ve peritoneal patoloji genç ve yaşlılarda eşit sıklıkta bulunmuştur. Erkek faktörü ve açıklanamayan infertilite yaşlı çiftlerde daha sık saptanmıştır (1,3).

İnfertilite nedenleri:

1. Kadına ait nedenler (%40-45)
 - Ovulatuvar (%30-40)

Tubal/Peritoneal Faktör (%20-30)

Servikal ve İmmünolojik Faktörler (%1-2)

Diğer

2. Erkeğe ait nedenler (%30-40)

3. Açıklanamayan (%10-15)

2.2.1. Kadına Ait Nedenler

Ovulatuvar Bozukluklar

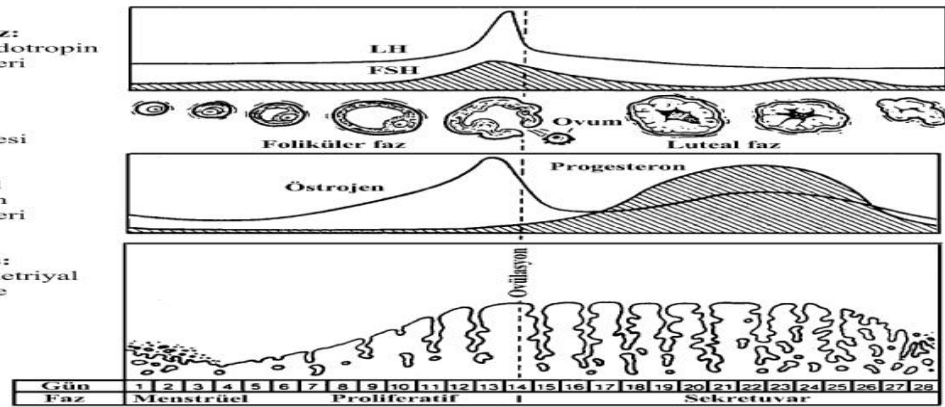
Kadına bağlı infertilitenin % 30-40'ını oluşturur. Anovulasyon, amenore ve adet düzensizlikleriyle kendini gösterir. İnfertil hastalarda ovulasyonun olup olmadığı mutlaka tespit edilmelidir. Ovulasyon, hipotalamus, hipofiz ve over aksının düzenli çalışmasıyla sağlanır. Bu aksın herhangi bir aşamasındaki bozukluk sonucu anovulasyon oluşabilir. Anovulasyon tanısı koyulur ise ayırıcı tanıda hipotalamo-hipofizer bozukluklar, Polikistik Over Sendromu (PKOS), anoreksiya nervosa, prematür over yetmezliği, hipotiroidizm gibi hastalıklar düşünülmelidir. Anovulasyonun tipine göre tedavi protokolleri değişmektedir (3).

Ovulasyonun tespitinde çeşitli yöntemler kullanılabilir:

a) Öykü: 21-35 günde bir düzenli adet görmek ve adet öncesi göğüslerde şişkinlik, hassasiyet, dismenore gibi premenstrüel ve menstrüel semptomların varlığı muhtemel ovulasyonun belirtileridir (1).

b) LH monitörizasyonu: Ovulasyon LH yükselmeye başladıktan 34-36 saat, LH pikinden 10-12 saat sonra gerçekleşir. Bu nedenle LH yükselmesinin tespiti ile ovulasyonun varlığı ortaya konabilir (4).

Menstrüel siklustaki hormonal değişiklikler şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Menstrüel siklustaki hormonal değişiklikler

c) Bazal vücut ısı ölçümü: Siklusun ilk gününden itibaren her sabah aynı saatte, yataktan kalkmadan vücut ısısının ölçülerek bazal vücut ısı kartına işlenmesi yöntemiyle yapılır. Normal vücut ısı $36,5^{\circ}\text{C}$ civarında olup preovulatuvar dönemde bu düzeydedir. Ovulasyondan sonra progesteron hormonu artar. Progesteronun termojenik etkisi sonucu vücut ısısında $0,2-0,3^{\circ}\text{C}$ artış izlenir (1,5).

d) Midluteal serum progesteron ölçümü: Ovulasyon sonrası korpus luteumun oluşmasıyla birlikte luteinize olan granüloza hücrelerinden progesteron salgılanır. Bu nedenle serum progesteron düzeyinin yükselmesi ovulasyonun indirekt bir bulgusudur. Progesteron ölçümü sekresyonun pik yaptığı midluteal dönemde yapılmalıdır. Serum progesteronunun 3 ng/ml 'nin üstünde olması ovulasyonun göstergesidir. Luteal faz yetmezliği tanısında ise ovulasyondan sonraki 5-9. günler arasında 3 kez progesteron ölçümü yapılır. Üç ölçümün toplamı 30 ng/ml ya da tek ölçümde 10 ng/ml ise luteal faz yetmezliği yoktur (1,5).

e) Endometrial biyopsi: Geç luteal dönemde, genellikle beklenen menstrüasyondan 2-3 gün önce alınır. Proliferatif endometriyumun tespit edilmesi anovulasyonu gösterir. Siklus gününe göre 2 gün veya daha fazla gecikme luteal faz yetmezliğini düşündürür (1,5).

f) Ultrasonografik monitörizasyon: Seri ultrasonografik takip ile dominant follikül gelişimi ve ovulasyondan sonra follikülün gerilemesi izlenerek ovulasyon olup olmadığı saptanabilir. Menstrüasyonun 3. günü TVUSG ile overler ve overlerde antral foliküller değerlendirilmelidir. Siklusun 5-7. günü seçilen dominant follikül

ovulasyona kadar 1-3 mm/gün büyüme gösterir. Ovulasyon genellikle follikül çapı 21-23 mm olduğunda gerçekleşir (1,6).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) anovulasyon-oligomenoreli hastaları 7 gruba ayırmıştır (7):

Grup 1: Hipotalamo-Hipofizer yetmezlik: Bu kadınlarda endojen östrojen sekresyonu yoktur. Prolaktin (PRL) seviyeleri normaldir. Follikül stimüle edici hormon (FSH) normal veya düşük olabilir. Hipotalamo-hipofizier bölgede yer kaplayan lezyon yoktur.

Grup 2: Hipotalamo-hipofizer disfonksiyon: Bu gruptaki kadınlarda menstrüel siklusta çeşitli bozukluklar vardır. Örneğin, luteal faz yetmezliği, anovulatuvar sikluslar veya endojen östrojen sekresyonunun mevcut ve PRL'nin normal olduğu amenore gibi durumlar bu gruba girer.

Grup 3: Ovaryen yetmezlik: Endojen östrojen sekresyonu olmayan, FSH seviyeleri yüksek PRL seviyeleri normal olan kadınlar bu gruba girerler.

Grup 4: Konjenital veya edinsel genital yol bozuklukları: Endometriumun mevcut olduğu ancak estrojen verilmesi ile çekilme kanaması sağlanamayan amenoreik kadınlar bu gruba girerler.

Grup 5: Hipotalamo-hipofizer bölgede yer kaplayan lezyonu olan hiperprolaktinematik infertil kadınlar: Bu grupta hipofiz lezyonu olan ve hiperprolaktinemisi mevcut amenoreik veya anovulatuvar kadınlar yer almaktadır.

Grup 6: Hipotalamohipofizer bölgede yer kaplayan lezyonu olmayan hiperprolaktinematik infertil kadınlar

Grup 7: Hipotalamohipofizer bölgede yer kaplayan lezyonu olan normoprolaktinematik infertil kadınlar

Hipogonadotropik Hipogonadizm

Hipogonadotropik hipogonadizm'de hipotalamus yeterli miktarda Gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH) sekrete edemez veya yetersiz üretim veya yetersiz pitüiter gonadotropin salınımı ile beraber olan pitüiter bir bozukluk vardır. Öyküde aşırı kilo kaybı ve malnütrisyon sorgulanmalıdır. Hipogonadotropik hipogonadizm fizyolojik gecikme, Kallmann sendromu, santral sinir sistemi tümörleri ve hipotalamik/pitüiter disfonksiyon durumlarında görülebilir. Fizyolojik

gecikme, fizyolojik ve konstitüsyonel puberte gecikmesi en sık izlenen formudur. Laboratuvar bulgularında FSH, LH <5 mIU/ml, östradiol (E₂) < 40pg/ml, progesteron çekilme kanaması negatiftir. Vajinal ultrasonografide atrofik endometrium saptanır. Tedavide over stimulasyonu için FSH+LH aktivitesindeki insan menopozal gonadotrophini (hMG) uygulamaları yapılmalıdır (8).

Polikistik Over Sendromu

PKOS, doğurganlık çağındaki kadınlarda en sık görülen endokrin bozukluk olup genel prevalans oranı %5'tir (8). İlk kez 1935 yılında Stein Leventhal tarafından, yedi hastadan oluşan bir seride polikistik overler ve amenore birlikteliği şeklinde rapor edilmiştir (9).

1990 yılından itibaren "National Institute of Health" (NIH), PKOS tanısının biyokimyasal, klinik hiperandrojenizm ve kronik oligomenoreye göre konulması gerektiğini bildirmiştir. "European Society of Human Reproduction and Embryology" (ESHRE) ve "American Society for Reproductive Medicine" (ASRM) Rotterdam 2003 Mayıs ayında önceki kriterlere ek olarak over sonografisini de tanı maddeleri arasına eklemiştir (10, 11).

Rotterdam 2003 Kriterleri (3 maddeden 2'si tanı koydurur)

- Menstrüel irregularite (anovulasyon veya oligo-ovulasyona bağlı)
- Klinik veya biokimyasal hiperandrojenizm
- Ultrasonografi (USG)'de polikistik over görünümü

■ Overde 2-9 mm çapında ≥ 12 follikül ve/veya artmış ovaryen volüm

PKOS genellikle peripubertal dönemden itibaren başlayan menstrüel düzensizlikler (oligo-amenore, disfonksiyonel uterin kanaması), hiperandrojenizm bulguları (hirsütizm, akne, ciltte yağlanma, androjenik alopesi) ve infertilite ile karşımıza çıkar. PKOS'da obezite sıklığı % 40-50 olarak bildirilmektedir (12). Klinik bulguların PKOS düşündürdüğü olgularda tanı biyokimyasal ve ultrasonografik bulgularla desteklenmelidir. LH düzeylerinde ve LH/FSH oranında artış olabilir. Yaklaşık %50 olguda hiperinsülinemi ve insülin direnci saptanabilir (1, 13). Ultrasonografik görüntüleme 2-9 mm çaplı, 12 veya daha fazla folikül olması ve/veya artmış over volümü (>10ml) polikistik over olarak tanımlanır (10, 11). Bu bulguların tek overde olması yeterlidir. PKOS'nin etyopatogenezi net olarak

bilinmediği için günümüzde mevcut tedavi seçenekleri de genellikle semptomatiktir. Bu anlamda, tedavi hedefleri hiperandrojenizmin kontrol edilmesi, menstrüel disfonksiyonun düzeltilmesi ve fertilitenin sağlanması şeklinde sıralanabilir.

Hipergonadotropik Hipogonadizm

FSH ve takiben LH yüksekliği ve E₂ düşüklüğü ile seyreden olgu grubudur. Olgularda ilk değişimin gözleendiği hormon FSH'dır. Kırk yaş altında prematür over yetersizliği (POY) %1 olguda karşılaştığımız hipergonadotropik hipogonadizm tablosudur. Otuz yaşın altındaki olgularda karyotip değerlendirmeleri gerçek patolojinin belirlenmesi açısından önem taşır (8).

Tubo-Peritoneal İnfertilite Nedenleri

Tuba ve peritoneal faktörler kadın infertilitesinin % 30-35'den sorumludur (1). Tubal pasajı değerlendirmede kullanılan en yaygın yöntem olan HSG siklusun 6-10. günleri arasında yapılır. HSG'nin tubal tıkanıklığı saptamada sensitivitesi %80'lerde iken spesifisitesi %90'a yakındır. HSG'de bilateral tubal patoloji saptanmışsa ileri tetkik gerekir. Tubal ve peritoneal patolojilerin tanısında en iyi tetkik laparoskopidir. Tubal faktörlerin tedavisi cerrahidir. YÜT'deki başarı oranlarının giderek artmasıyla tubal faktör infertilitesinde cerrahi yaklaşım endikasyonları giderek azalmaktadır (1, 5).

Tubo-peritoneal infertiliteye sebep olabilecek patolojileri şu şekilde sıralayabiliriz (5).

1. Pelvik adezyonlar
2. Pelvik inflamatuvar hastalık
3. Pelvik operasyonlar
4. Ekstragenital orjinli enfeksiyonlar
5. Genital tüberküloz
6. Endometriosis
7. Tubal nedenler
 - Tubal polipler (sadece tubal infertiliteye neden olur)
 - Hidrosalpenks

Pelvik Adezyonlar

İnfertilite ile adezyonlar arasındaki ilişki uzun süredir bilinmektedir. Günümüzde halen adezyon oluşumunu önleyen ideal bir teknik bulunmamaktadır. Adezyon oluşumu azaltılabilmekte ancak tamamen önlenememektedir. Bu sebeplerden adezyon tedavisi veya adheziyolizis infertilite cerrahisinde önemli yer tutmaktadır. Adezyon, organ yüzeylerini anormal olarak birleştiren, içinde vaskülarizasyonunda olabileceği fibröz doku olarak tanımlanmaktadır. Adezyonun etyolojisinde peritona hasar vererek inflamasyona yol açan enfeksiyon, kimyasal irritasyon, cerrahi, endometriosis, radyasyon gibi değişik faktörler vardır (14).

Pelvik adezyonların tanısı ve sınıflaması: Pelvik adezyonların tanısında pelvik muayene, HSG ve USG bilgi verebilmektedir. HSG’de geç çekilen filmlerde kontrast maddenin peritondaki lokülasyonu peritubal adezyonları düşündürmelidir (14). Fimbriadaki patolojilerin önemini vurgulayan ve az etkilenen adnekselere göre prognozun belirtildiği bir sınıflamadır. Bu sınıflamada ince, film gibi olan adezyonlarla kalın adezyonların ayrı ayrı belirtilmesi gerekmekte ancak koheziv adezyonlar ayrıca belirtilmemektedir (15). Ancak bu sınıflamada endotubal patolojiler ve adezyonlar gözönüne alınmamıştır. Son yıllarda reproduktif prognozu belirlemede endotubal durumun önemli bir yeri olduğu anlaşılmıştır. Bu çalışmalarda endotuba, Puttemans’ın daha önce bildirdiği sınıflamasına göre salpingoskopi ile değerlendirilmiştir.

Puttemans sınıflamasında:

Grade 1: normal mukozal katlantılar için,

Grade 2: ana katlantıların ayrı ayrı gözlenebildiği ancak düzleştiği durumlar için,

Grade 3: mukozal katlantılar arasındaki fokal adezyonlar için,

Grade 4: mukozal katlantılar arasındaki yoğun ve yaygın adezyonlar için,

Grade 5: mukozal katlantı paterninin tamamen kaybolduğu durumlar için kullanılmaktadır.

Sonuç olarak AFS sınıflaması ile pelvik adezyonların değerlendirilmesinin prognozu belirlemede yeterli olmadığı ve endotubal sağlık durumunun daha değerli olduğu anlaşılmaktadır (16, 17).

Pelvik İnflamatuvar Hastalık

Vajen mukozası, vajen pH'sı ve de biyolojik yapısı ile içindeki bakterisid ve bakteriostatik enzimler nedeniyle servikal mukus, yukarı genital organları bakterilere karşı korumaktadır. Bu sistem bozulmadığı sürece iç genital organlarda enfeksiyon meydana gelmesi pek mümkün değildir. Kadında bu koruyucu sistem östrojenlerin en az olduğu ve buna bağlı olarak da servikal mukusun hemen hemen hiç olmadığı menstrüasyon esnasında son derece zayıftır. Bu dönemde olabilecek bir koitus durumunda, partnerdeki olası genital hastalık, kolaylıkla kadına geçecek ve tubal kaynaklı infertiliteye neden olacaktır.

Buna ek olarak doğum, düşük, küretaj gibi obstetrik girişimler veya premenstrüel probe küretaj, HSG ve intrauterin uygulamalar esnasında steril çalışılmadığında iç genital organların ve dolayısıyla tubaların enfekte olması her zaman mümkündür. Bir pelvik inflamatuvar hastalık atağı sonrası bile infertilite riski oldukça yüksektir. Bir çalışmada bir PID atağı sonrası tubal infertilite insidansı %12, iki atak sonrası %23 ve üç atak sonrası %54 olarak bulunmuştur (1,5).

Pelvik Operasyonlar

Pelvik cerrahi girişiminde mikrocerrahi kurallarına uyulmadığı takdirde tubal infertiliteye neden olunur. Myomektomi, kistektomi, wedge rezeksiyon, metroplasti, dış gebelik operasyonu ve son seneler de sıkça uygulanan cerrahi laparoskopik girişimlerden sonra, tubaları etkileyen peritubaovaryel yapışıklıklar ve tubal infertilite olabilir. İnfertilite cerrahisinde dikkat edilecek noktalar şunlardır:

Girişimlerde tubal infertiliteye neden olmamak için dikkatli olunmalı ve atravmatik çalışılmalıdır. Fiziksel travmadan kaçınmak için gereksiz girişimlerden sakınılmalıdır.

Kimyasal travma özellikle eldiven üzerindeki pudralardan olmaktadır. Bu pudralar genital organlar üzerine bulaşırsa postoperatif olarak ciddi yapışıklıklar meydana gelir. Bu nedenle operasyon başlamadan önce tüm ekibin ve özellikle operatörün eldiven üzerindeki pudrayı temizlemesi gerekir (18).

Ekstragenital Kökenli Enfeksiyonlar

Burada apendisit perforasyonu akla gelmelidir. Buna ilave olarak divertikülit veya başta mesane enfeksiyonu olmak üzere üriner sistem enfeksiyonlarının iç genital

organlara geçmesi sonucu peritubaovaryen yapışıklıklar ve tubal infertilite olabilir (1,8).

Endometriosis

Klinik olarak progresif bir hastalık olan endometriosis, endometrial dokunun, gland ve stroma olarak, uterus kavitesinin dışında yerleşmesine denir. En sık implantasyon yerleri pelvik organlar ve periton olmakla birlikte farklı doku ve organlarda da gözlenebilir. Endometriosisin fekunditeyi gerçekten etkileyip etkilemediği ve eğer etkiliyorsa bunu hangi mekanizmalarla yaptığı henüz netliğe kavuşmamıştır. Son yıllarda elde edilen bulgular göstermektedir ki endometriosis ile ilişkili infertilitede esas olarak dört faktörün rolü vardır. Bunlar bozulmuş follükülogenez, azalmış fertilizasyon, immünolojik faktörler ve implantasyon defektleridir (19, 20).

Endometriosis tubada ya tuba lümenini tam olarak tıkayarak ya da tuba mukozasında tahribat, fibröz doku artışı nedeniyle tuba lümenini daraltarak tubal infertiliteye neden olabilir. Prevelansın infertilite nedeniyle laparoskopi yapılan populasyonda % 30-70 arasında, pelvik ağrı nedeniyle yapılan laparoskopide ise % 4,5-82 arasında değiştiği bildirilmektedir (21). Doğal sikluslarda endometriosisin azalmış fertilizasyon oranları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (22).

Subfertilitesi, dismenore, dispareni ve kronik ağrısı olan kadınlarda endometriosisden şüphelenilmelidir. Yine de endometriosis asemptomatik olabilir. Şiddetli pelvik ağrı derin infiltrate endometriosis ile uyumludur. Endometriosis ve infertilite ilişkili biyolojik mekanizmalar şöyle sıralanabilir: 1) Bozulmuş pelvik anatomi 2) Bozulmuş hormonal ve hücrel immünite yanıtları 3) Endokrin ve ovulatuvar bozukluklar 4) Bozulmuş peritoneal fonksiyonlar 5) İmplantasyon bozukluğu (7).

Günümüzde endometriosis ile ilişkili infertilitede cerrahi tedavi ve özellikle de laparoskopik cerrahi yaklaşım çok büyük önem kazanmıştır. Overler ve fallopian tüpler sıklıkla endometriosisden etkilenirler ve sonuçta tubaovaryen ilişki bozulup ovumun tutulması ve transportu olumsuz etkilenir. Metaanalizler de göstermektedir ki endometriosis ile ilişkili infertilitede cerrahi tedavi medikal tedaviye üstündür (23, 24). Minimal endometriosis (Evre-1, skor: 1-5) ve hafif endometriosis (Evre-2, skor:

6-15) olgularında endometriosis infertilite ilişkisi tartışmalarla gitmekte ve farklı nedenler sorumlu tutulmaktadır. İleri evre endometriosis Evre-3: Orta, (skor 16-40) ve Evre-4: Ağır(skor>40) olgularında pelvik yapıyı mekanik olarak bozan ya da distorsiyone eden adezyonlar, fimbriyal distorsiyon, tubal daralma ya da oklüzyon (proksimal/distal tubal obstruksiyon) tuboovaryen motiliteyi ve “oosit pick-up” (OPU)’ı bloke ediyorsa subfertilite ile bağlantılıdır (25).

Geleneksel olarak endometriosis kaynaklı infertilite sorunu olan hastalara yaklaşım prensiplerini bekleme tedavisi, tıbbi tedavi ya da ciddi vakalarda cerrahi oluşturur. Medikal tedavilerle ilgili yapılan randomize çalışmaların fertilite ile ilişkili sonuçları metaanalizlerle değerlendirilmiştir. Tüm bu çalışmaların sonuçları göstermektedir ki bu ilaçlardan hiçbirinin diğer bir ilaca ya da plaseboya üstünlüğü bulunmamaktadır (26, 27). Endometriosis konusunda tam bir görüş birliğine varılmamış olmakla beraber değişik çalışmalar tarafından siklus başına gebelik oranlarının % 22-47 arasında olduğu bildirilmektedir (28).

Intrasitoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI) öncesi endometriomaların aspirasyonu kullanılan gonadotropin miktarını, 17 mm üzerinde follikül ve elde edilen metafaz II (MII) oosit sayıları ile implantasyon ve gebelik oranlarını etkilememektedir (29). IVF öncesi endometrioma için laparoskopik kistektomi uygulamaları da siklus başına elde edilen embriyo sayısını, fertilizasyon, implantasyon, gebelik ve düşük oranlarını etkilememekte, dolayısıyla semptomatik olmayan hastalarda cerrahi komplikasyon riski ve maliyetin düşük olması nedeniyle doğrudan kontrollü over hiperstimülasyona geçilmesi önerilmektedir (30).

Tubal Nedenler

Tubal Polipler: Jinekolojik literatürde tubokornual ya da kornual polipler olarak da belirtilmiştir. Genel popülasyonda HSG çekilenlerin % 2-3’ünde rastlanmaktadır. İnfertil kadınlarda büyük polipler daha çok oligoovulasyon /anovulasyon ile ilişkili bulunurken, endometriosis ise hem küçük hem de büyük poliplerle ilişkili bulunmuştur (31).

Hidrosalpenks: Hidrosalpenks yunanca bir kelime olup tubaların sıvı ile dolması anlamına gelmektedir ve fimbriyal ucun tıkanması sonucu distal kısmın sıvı ile distansiyonuna denmektedir. Fimbriyal obstrüksiyonun sebebi sıklıkla pelvik

inflamatuvar hastalık, apendiksin inflamasyonu veya endometriosisdir (32). İnfertilite, PID, endometriosis bulguları ile başvuran veya pelvik cerrahi geçirmiş hastalarda hidrosalpenks düşünülmelidir. Bu grup hastalarda tanı sıklığı % 10 ile % 30 arasında değişmektedir (32). Tanı sıklıkla HSG ile konur. USG ile de tanı konulabilir. Hidrosalpenkslerin yarısından daha azı USG’de saptanabilecek kadar büyüktür. Tanı laparoskopi (LS) veya laparotomi (LT) sırasında da konabilir. LS tanı için değerlidir. Hidrosalpenks varlığında IVF sonuçları daha düşük olmaktadır (16, 33). Retrospektif sonuçların incelendiği bir metaanalizde gebelik oranlarının % 50 azaldığı, spontan düşük oranının ise 2 kat arttığı gösterilmiştir (16).

Servikal Ve İmmünolojik İnfertilite

Çiftlerin % 1-2’sinde infertilite nedeni olarak görülür (1,2). Servikal mukusun yapısı sperm geçişini etkiler. Östrojen mukus üretimini artırırken progesteronu baskılar. Ovulasyona yakın servikal mukus miktarı artar, sulu, alkali yapıda ve hücreden fakir olur. Bu dönemde servikal mukusun, elastikiyeti, uzama özelliği artmıştır. Bu özellik Spinnbarkeit testi ile değerlendirilir. Ayrıca mukusun kalitesini gösteren ve östrojen etkisini yansıtan Fern testi pozitiftir. Servikal faktörün, infertilite üzerine etkisini değerlendiren klasik yöntem postkoital test (PKT)’dir. Test 3-4 günlük cinsel perhiz sonrası yapılan koitustan sonra, servikal kanaldan alınan, servikal mukus ve spermelerin incelenmesidir. Postkoital ilk 24 saat içinde yeterli bir inceleme yapılabilmekle birlikte, idealinin 4-6 saat olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Normalde 0,1 ml’den fazla miktarda açık renkli, süne derecesi (Spinbarkeit testi) >8cm ve içerisinde lökosit sayısı <5 hpf olmalıdır. Her büyük büyütme alanında en az 2 adet motil sperm içermelidir. Mikroskopta hareketli spermelerin görülmesi testin pozitif olduğunu gösterir. Mikroskopta canlı spermelerin izlenmemesi ise testin negatif olduğunu gösterir. Bu durumda spermelerin ya mukusa penetrasyonu yoktur ya da mukus içinde ölmektedir. PKT ucuz ve kolay yapılabilen bir tetkik olmakla birlikte, testin yapılışında ve değerlendirilmesinde, kabul edilmiş bir standardizasyon yoktur. Yapılan çalışmalarda prognostik değerinin de düşük olduğu gösterilmiştir (34).

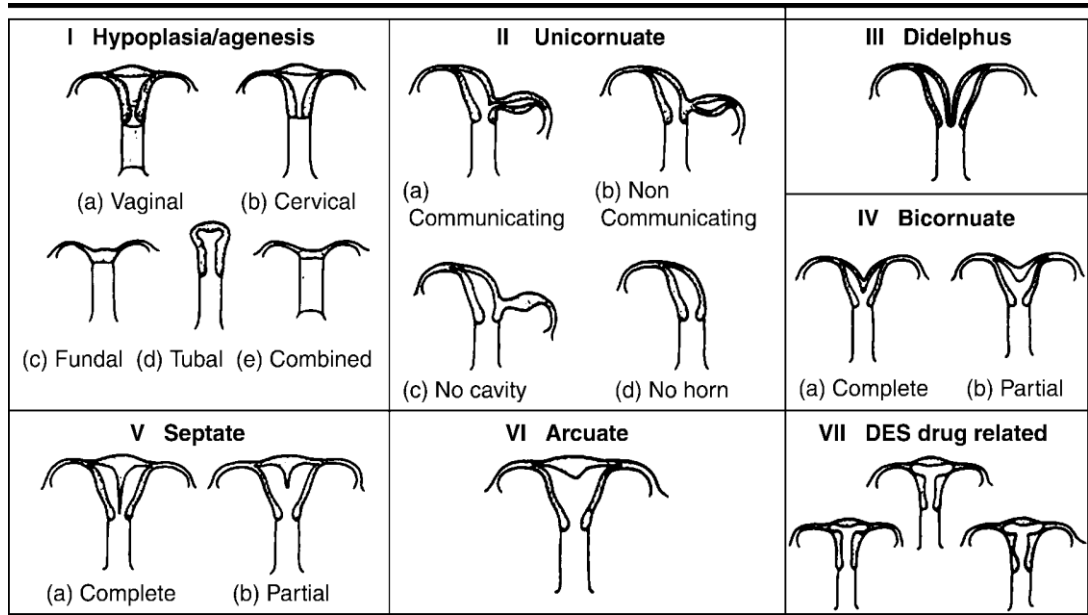
İnfertil kadınlarda otoantikör oranı fertil kadınlardan çok daha fazla bulunmuştur (% 15-45’e karşın % 1-4) (35). Antifosfolipid antikörlerin (APA)

(özellikle antikardiyolipin antikor ve lupus antikoagulan) varlığı infertilite ve IVF başarısızlıkları arasında ilişki kurulmasına neden olmuştur. IVF için olgu seçiminde öykülerinde tekrarlayan IVF başarısızlıkları bulunan olgularda APA, organ spesifik antitiroid antikor (ATA) ve tiroid antimikrozomal antikor (AMA) kontrollerinin faydası hatırlanmalıdır (8).

Diğer Nedenler

Konjenital Uterin Nedenler: Konjenital uterin anomalilerde genellikle ilk ve ikinci trimesterde gebelik kaybı meydana gelmekle birlikte blastokistin implante olduğu bölgede anomali mevcutsa implantasyonu da etkileyebilir.

Uterin anomaliler AFC'nin 1988 sınıflandırmasına göre şu şekildedir ve şekil 2.2.'de belirtilmiştir (15).



Şekil 2.2. Uterin anomalilerin AFC'nin 1988 sınıflandırması

Sınıf I Müllerian Anomaliler (Müllerian Agenesis): Klas I müllerian anomaliler uterus, serviks ve/veya vajenin tek başına, kombine disgenezi veya agenezisini içerir.

Sınıf II Müllerian Anomaliler (Unikornuat Uterus): Klas II müllerian anomaliler unikornuat uterus olgularını içerir.

Sınıf III Müllerian Anomaliler (Uterus Didelfis): Klas III müllerian anomaliler spekulum muayenesinde iki hemiserviks görülmesiyle kolayca tanınabilirler ve olguların çoğunda longitudinal vajinal septum saptanır.

Sınıf IV Müllerian Anomaliler (Bikornuat Uterus): Klas IV müllerian anomaliler komplet ve parsiyel uterus bikornus olguları olmak üzere iki grupta incelenirler. Uterus bikornus olgularını septat uterus olgularından tek başına HSG ile ayırt etmek mümkün değildir.

Sınıf V Müllerian Anomaliler (Septat Uterus): En sık görülen ve infertiliteye sebep olan konjenital uterin malformasyon uterin septumdur. Bu olgularda gebelik kayıp oranları oldukça fazladır. Uterin septumu olan ve tekrarlayan spontan abortusu olan kadınlarda cerrahi tedavi yapılmalıdır. Histeroskopik septum insizyonunun spontan abortus oranlarını azalttığı tespit edilmiştir (36).

Sınıf VI Müllerian Anomaliler (Arkuat Uterus): Klas VI müllerian anomaliler arkuat uterus olgularını kapsar. Genellikle klinik ve reproduktif sorun oluşturmazlar.

Sınıf VII Müllerian Anomaliler (Diethylstilbestrol (DES) ile ilişkili anomaliler): Klas VII müllerian anomaliler intrauterin DES maruziyetine bağlı oluşan konjenital anomalilerdir. Bunların % 70'inde HSG'de malformasyona rastlanmıştır. En sık T şeklinde uterus görülür (37). DES e maruz kalmış T şeklinde ya da hipoplastik uterusda cerrahi tedavi önerilmez. Bu kadınların IVF tedavi sonuçları genellikle kötüdür. İmplantasyon oranları oldukça düşüktür (38).

Edinsel Nedenler: Uterusun edinsel anomalileri leiomyomlar, endometrial polipler ve intrauterin yapışıklıklardır. Leiomyomların infertilite ile ilişkisi net olarak ortaya koyulamamakla birlikte uterin kontraktiliteye ve komşuluğundaki implantasyon alanında vasküler ve moleküler değişikliğe sebep olarak infertiliteye neden olabileceği düşünülmektedir (39).

Endometrial polip, prevalansı % 3-5 olarak bilinse de infertilitesi olan kadınlarda asemptomatik endometrial polip görülme sıklığının % 10'lara kadar çıkabileceği bildirilmiştir (40). İnterauterin yapışıklıklar (Ashermann Sendromu)'ın en önemli nedeni kavitenin küretajı ve intrauterin enfeksiyonlardır (tüberküloz, schistosomia, mikobakteriler gibi). İnterauterin yapışıklıklar embriyo implantasyonunu engelleyebilirler. Kavitedeki yapışıklığın yaygınlığına bağlı olarak

adet düzensizlikleri, amenore ve spontan düşüklere neden olabilir. Tedavide histeroskopik rezeksiyon optimal yaklaşımdır. Cerrahi sonrası sonuçlar yüz güldürücüdür. Hafif ve orta derecede intrauterin adezyonları olan 52 hastada, adezyolizis sonrası % 90 gebelik oranı tespit edilmiş ve bu gebeliklerin % 85'i canlı doğumla sonuçlanmıştır (41).

İmplantasyon, embriyo ve endometrium arasında oluşan etkileşim aracılığıyla gerçekleşmektedir. Bu etkileşimi sağlayan büyüme faktörleri, adezyon ve adezyonu engelleyici faktörler, prostaglandinler, sitokinler, extraselüler matriks proteinlerini ve immünolojik faktörleri kapsayan komplike bir sistemdir. Bu sistemde meydana gelen herhangi bir aksaklık implantasyonu engellemektedir. Transfer edilen iyi kalitede bir blastokist de dahi implantasyon olasılığının halen %25-30 oranında olması implantasyon konusunda aydınlatılması gereken daha çok şeyin var olduğunu göstermektedir (42).

2.2.2. Erkek Faktörü

Bir yıl içerisinde korunma olmaksızın yapılan normal cinsel ilişkiye rağmen gebe kalmayan çiftlerin oranı yaklaşık % 15 kadardır. Erkeğin bu durumdaki oranı saf olarak yaklaşık % 20 iken, kadın eş ile beraber ve açıklanamayan grup da içine alındığında bu oran % 50'lere varmaktadır (1,5).

Reproduktif yaştaki erkeklerin % 6'sında infertilite problemi ortaya çıkmaktadır. Bu olguların yaklaşık % 90'ında da bozulmuş spermatogenez vardır. Normalde fertil bir erkekte günde 120 milyon adet sperm yapılmaktadır (43). WHO tarafından 7273 evli infertil çift üzerinde infertilite nedenine göre yapılan bir çalışmada % 41 oranında kadın, % 24 oranında erkek, % 24 kadın ile erkek beraber ve % 11'inde de bir neden gösterilememiştir (44). Buradan da anlaşılacağı gibi evli infertil çiftlerin % 48'inde mutlaka erkek faktörü için içine girmektedir.

WHO'nun infertil çiftlerin standardize edilmiş araştırma ve tanısı ile ilgili el kitabında erkek faktörünün etiyolojik grupları şu şekilde verilmektedir (44):

- 1) Seksüel /ejakülatuar disfonksiyon
- 2) İmmünolojik nedenler
- 3) Neden belirlenememiş grup
- 4) İzole seminal plazma anormallikleri

- 5) İatrojenik nedenler
- 6) Sistemik nedenler
- 7) Konjenital anomaliler
- 8) Edinsel testiküler hasar
- 9) Varikosel
- 10) Aksesuar bezlerin enfeksiyonu
- 11) Endokrin nedenler
- 12) İdiopatik oligozoospermi, astenozoospermi, teratozoospermi, azoospermi
- 13) Obstrüktif kriptozoospermi, azoospermi

Erkek infertilitesindeki etyolojik gruplar pretestiküler, testiküler ve posttestiküler olarak sınıflandırılmaktadır.

Pretestiküler Nedenler: Primer spermatogenezin etkilendiği patolojilerdir. Testisin kendisini ilgilendiren patoloji yoktur. En sık endokrin nedenlere bağlı olur. Bu patolojiler aşağıda belirtilmiştir.

- 1) Kromozomal
 - a) Klinefelter Sendromu
- 2) Hormonal
 - a) Hipogonadotropik Hipogonadizm
 - b) Hiperprolaktinemi
- 3) Koital nedenler
 - a) Eretil disfonksiyon
 - b) Endokrin / Nöral
 - i) Diabetik nöropati
 - ii) Parapleji
 - iii) İlaç nedenli
 - c) Ejakulatuvar Yetersizlik
 - i) Psikoseksüel
 - ii) Genito-üriner cerrahi
 - iii) Nöral
 - iv) İlaç nedenli

Testiküler Nedenler: Primer spermatogenezin etkilendiği, bizzat testisin kendisini ilgilendiren patolojilerdir. Bu patolojiler aşağıda belirtilmiştir.

1. Konjenital
 - a)Kriptoorşitizm
 - b)İmmotil Silia Sendromu (Kartagener Sendromu)
2. Enfeksiyon-Orşit
3. Vasküler
 - a)Torsyon
 - b)Varikosel
4. Anti spermatojenik ajanlar
 - a)Kemoterapötikler
 - b)İlaçlar
 - c)Radyasyon
 - d)Isı
5. İmmünolojik
6. İdiopatik

Posttestiküler Nedenler: Posttestiküler nedenler ejakülasyon disfonksiyonu veya obstrüksiyon bozukluğundan kaynaklanabilir. Posttestiküler nedenler aşağıda belirtilmiştir.

- 1) Obstrüktif
 - a)Epididimal
 - i) Konjenital
 - ii) Enfeksiyon
 - b)Vazal
 - i) Konjenital
 - ii) Akkiz
- 2) Epididimal geçişe bağlı (Astenozoospermi)
- 3) Aksesuar bez enfeksiyonları
- 4) İmmünolojik

Tedavi planlanması açasından diğer bir sınıflama şeklinde ise erkek 3 ana gruba ayrılarak incelenmektedir (45).

- 1) Tedavi edilemez steril grup: % 12
 - a) Primer seminifer tübül yetmezliği % 11,9
 - b) Total teratozoospermi % 0,1
- 2) Olası tedavi edilebilir grup: % 13
 - a) Obstrüksiyon % 6
 - b) Sperm otoimmünitesi % 6
 - c) Gonadotropin yetmezliği % 0,5
 - d) Koital nedenler % 0,2
 - e) Reversibl toksik etkiler % 0,1
- 3) Tedavi edilemez subfertil grup: % 75
 - a) Oligospermi < 1 milyon/ml % 9
 - i) 1-5 milyon/ml % 8
 - ii) 5-70 milyon/ml % 18
 - b) Astenospermi ve teratospermi % 40
 - c) Normospermi % <1

Erkek infertilitesinin klinik geliş şekillerine göre de 5 ana grupta sınıflandırılmaktadır (45).

TİP 1- Mekanik infertilite (%0,3-7): Yetersiz koitus söz konusudur. Bu durum anatomik, erektil veya ejakülatuar bozukluklar nedeniyle olabilir.

TİP 2- Azoospermi (%0,9-16): Ejakulatta sperm olmaması halidir. İnfertil erkeklerde % 10-15 oranında gözlenir. Primer veya sekonder testiküler yetmezlik durumlarında (non-obstrüktif tip) veya genital trakt obstrüksiyonlarında ortaya çıkar (obstrüktif tip).

TİP 3- İmmünolojik infertilite (%3,4-25): sperm fonksiyonu antikor bağlanması ile bozulmuştur. Sperm sayısının normal olduğu izole hareket bozuklukları, sperm aglütinasyonu ya da anormal PKT varlığında antisperm antikor (ASA) değerlendirilmesi yapılmalıdır.

TİP 4- Anormal semen kalitesi: 3 ana parametre olan sayı, hareket ve morfolojide ya tek tek ya da 2'li / 3'lü kombinasyonlar şeklinde bozukluk vardır.

TİP 5- Sperm disfonksiyonu: 3 ana parametre olan sayı, hareket ve morfolojide bir bozukluk yoktur fakat spermiler fertilizasyon olayını

gerçekleştirememektedir. Sayılan bütün bu nedenlere yönelik eğer yerine koyulabilecek bir tedavi yöntemi varsa bu uygulanabilir. Fakat nedeni belirlenemeyen ve % 30 yüksek orandaki bir populasyon için bu güne kadar ampirik tedavi yöntemlerine başvurulmuştur.

Bu tedavilere örnek olarak, gonadotropinler, antiöstrojenler, aromataz inhibitörleri, androjenler, testesteron rebound tedavisi, antibiyotikler, antiinflamatuvar ajanlar, çeşitli vitaminler, kallikreinler, kaptopril ve tiroksin hormonu verilebilir. Saf FSH tedavisinin IVF’te fertilizasyon oranlarını arttırdığı belirtilmiştir (46).

2.2.3. Açıklanamayan İnfertilite

Açıklanamayan infertilite tanısı, infertilite araştırmasındaki tüm standart elemanların (semen analizi, ovulasyonun objektif kanıtları, uterin kavite ve bilateral tubal açıklık) normal çıkması sonrası konulmaktadır. İnsidansı, infertil populasyonda tanı kriterlerine bağlı olarak %15-30 oranında değişmektedir (47).

Temel inceleme arasında 1992 AFC 99 ve 1996 ESHRE 100 pratik yaklaşım önerilerine göre semen analizi ile yeterli sperm üretiminin, çeşitli teknikler ile (HSG ve/veya histeroskopi ve LS) endometrial kavitenin durumu ve tubal patensin gösterilmesi ve 21. gün serum progesteron veya endometrial biyopsi ile ovulasyonun tespitinin yeterli olduğu düşünülmektedir (48). Ancak rutin tetkikler arasında sayılması önerilmeyen PKT veya antisperm antikor (ASA) varlığının tespiti ve laparoskopi seçilmiş vakalarda çalışılabilmektedir (49). Birçok otör normal sonuçların uzamış infertilite süresi durumunda sperm analizlerinin tekrar edilmesini düşünmektedir. Ancak en az iki normal analiz sonrasında açıklanamayan infertilite tanısının sağlıklı olacağı vurgulanmıştır. Son yıllarda laparoskopinin açıklanamayan infertilite vakalarında yaklaşımda yeri tartışmalı hale gelmiştir (47). Bu teknikle yaklaşım maliyeti artmakta ve vakaların sadece % 25’inde patoloji tespit edilmektedir. Hafif ve orta derecede endometriosis veya peritoneal adezyon ön tanıda düşünülmediği vakalar dışında yaklaşım maliyeti açısından laparoskopi önerilmesi akılcı bir yaklaşım değildir (50).

Açıklanamayan infertilite’de olası etyolojiler aşağıda belirtilmiştir (2,5):

- 1) Antagonist servikal sekresyonlar
- 2) Erken embriyonel implantasyonda defektif endometrial reseptivite

- 3) Anormal tubal siliyal aktivite
- 4) Defektif OPU mekanizması
- 5) Luteinize unrüptüre follikül sendromu
- 6) Ek hormonal anomaliler (örnek: Luteal faz defekti)
- 7) Bozulmuş oosit ve/veya sperm fertilizasyon kapasitesi
- 8) Minimal veya orta düzeyde endometriosis
- 9) İmmünolojik faktörler
- 10) Bozulmuş peritoneal makrofaj aktivitesi
- 11) Bozulmuş peritoneal sıvı antioksidan fonksiyonu

IVF tedavisi söz konusu olduğunda tedavinin başarısını, kadının yaşı, önceki gebelikleri, mevcut FSH düzeyi, infertilitenin süresi ve tedavi esnasında elde edilen transfere uygun yumurta ve embriyoların sayısı belirler (51). IVF günümüzde açıklanamayan infertilite tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak siklus başına beklenen canlı doğum oranları % 13 ile % 28 arasında değişmektedir (52).

Açıklanamayan infertilite vakalarında altta yatan bir diğer sebep de fertilizasyon başarısızlıklarıdır. Fishel ve ark. özellikle yüksek fertilizasyon oranları ile embriyo sayısını ve gebelik oranlarını maksimize eden yöntem olarak ICSI'yi açıklanamayan infertilite vakalarında ilk tercih olarak göstermektedir (53).

Sonuç olarak günümüzde eldeki bilgiler ışığında açıklanamayan infertilite tedavi yaklaşımında genç (<35 yaş) ve kısa infertilite süresi (<2 yıl) olan grup haricinde bekle-gör tedavisinin uygulanması önerilmemektedir. Ancak çiftlere her konuda bilgi ve destek vermek en önemli konudur. Maliyet/etkinlik göz önüne alındığında canlı gebelik için kullanılan prosedürlerin ucuz ve kolaydan ileri tedavi tekniklerine doğru planlanması mantıklı görünmektedir (7).

Açıklanamayan İnfertilitede Tedavi: Tedaviler ampiriktir ve belirli zamanda karşılaşılan sperm ve yumurta sayısını arttırmaya yöneliktir. Önerilen tedavi yöntemleri, Bekle-gör, yaşam tarzı değişiklikleri, zamanlanmış cinsel temas (ZCT), ovaryen stimülasyon, intrauterin inseminasyon (IUI), KOH ile birlikte IUI ya da intraservikal inseminasyon veya fallopian sperm perfüzyonu ile ileri teknikler olan IVF, Gamete intrafallopian transfer (GIFT) veya ICSI tekniklerini içermektedir (47).

Gonadotropin ve IUI ile 3 siklus tedaviden sonra fekundabilite azalmaktadır. Bu durumda çiftlere ek siklus süperovulasyon ve IUI yerine YÜT önermek daha uygun olacaktır. YÜT sikluslarındaki gözlemler çiftlerdeki açıklanamayan infertilitenin nedenleri hakkında bilgi sahibi olabilmemize yardımcı olacaktır. 2003 yılında ABD’de YÜT sonuçlarını bildiren raporda açıklanamayan infertilitesi olanlarda siklus başına canlı doğum oranının %30 olduğu bildirilmiştir (7).

Bazıları için açıklanamayan infertilitesi olan çiftlerde IVF ilk seçenek olarak önerilirken diğerleri için son tedavi seçeneği olarak sunulmaktadır. Değerlendirme dikkatli yapılmalıdır ve tedavi planlanmadan önce çiftlerin yaşı, infertilite süresi ve daha önceki gebelikleri göz önüne alınmalıdır.

2.3. İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi

2.3.1. Kadın Hastanın Değerlendirilmesi

Öykü Ve Fizik Muayene: Kadın infertilitesinin araştırılmasında öykü ve fizik muayene çok önemlidir.

Öyküde dikkat edilmesi gereken konular şunlardır (1):

- 1) Gravida, parite, gebelik sonuçları ve ilişkili komplikasyonlar
- 2) Siklus uzunluğu ve özellikleri, dismenore varlığı ve şiddeti
- 3) Yaş
- 4) İnfertilite süresi
- 5) İlave sorumlu olabilecek medikal faktörler
- 6) Koitus sıklığı
- 7) Koitus ile ilgili alışkanlıkları
- 8) Geçirmiş olduğu hastalıklar
- 9) Geçirmiş olduğu operasyonlar (özellikle pelvik operasyonlar)
- 10) Sigara, alkol veya diğer madde kullanımları
- 11) Tiroid hastalık semptomları, pelvik veya abdominal ağrı, galaktore, hirsütizm ve disparoni

Fizik ve jinekolojik muayene aşağıdaki esaslara göre yapılmalıdır (1):

1. Kilo ve beden kitle indeksi (BMI)
2. Tiroidde büyüme, nodül, hassasiyet
3. Memede sekresyon ve özellikleri

4. Artmış androjen bulguları
5. Pelvik veya abdominal hassasiyet, organ büyümesi veya kitle
6. Vajinal veya servikal anormallik, sekresyonlar veya akıntı
7. Adneksler veya cul-de-sac'da kitle hassasiyet veya nodülerite

Laboratuvar

İnfertil hastanın değerlendirilmesinde laboratuvar önemli yere sahiptir. Menstrüel siklusun 3. günü bazal serum FSH ve E₂ seviyelerinin tüm infertil hastalarda değerlendirilmesi gerekmektedir. FSH ölçümünün, olguların ovulasyon indüksiyonuna vereceği cevabın değerlendirilmesinde etkili, gebelik elde etme oranlarıyla iyi bir uyum gösteren, over rezervini en iyi şekilde ortaya koyan test olduğu kabul edilmektedir. FSH değerleri <15 mIU/ml olan olgularda gebelik oranlarının, 15- 24,9 mIU/mL olan olgulara göre 2 kat, 25 mIU/ml olan olgulara göre 6 kat fazla olduğu bildirilmiştir (55). Bazal E₂ seviyelerinin <40 ng/ml olması beklenir. Yüksek E₂ seviyelerinin (>80ng/ml) tespit edilmesinin, elde edilen oosit sayısında ve gebelik oranlarında azalma ile birlikte olduğunu göstermektedir (56). E₂ ve FSH dışında infertil hastalarda LH, PRL ve tiroid fonksiyon testleri de değerlendirilir.

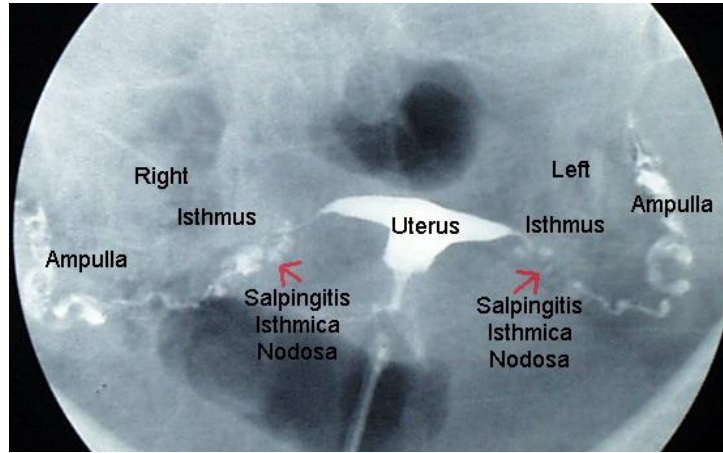
Ultrasonografi

Bütün jinekolojik hastaların değerlendirilmesinde olduğu gibi infertil hastaların da ilk değerlendirilmesinde TVUSG önemli bir tanı aracıdır. Noninvaziv ve kolay uygulanabilir olması avantajlarıdır. Uterin kavite ve endometriumun değerlendirilmesinde, vakaların % 70'inde transabdominal USG'ye göre daha fazla bilgi verir. USG ile Müllerian sisteme ait konjenital anomaliler, intramural ve submüköz myomlar, endometrial polipler, endometriomalar veya dermoid kistler görülebilir (57).

Histerosalpingografi

HSG, uterin kavitenin boyutu ve şekli hakkında bilgi vermektedir. Menstrüel kanamadan 2 -5 gün sonra yapılarak, erken gebelik riskini elimine etmek gerekir. % 1 enfeksiyon komplikasyonu mevcuttur. Serviksten girilerek uterus içine radyopak bir maddenin verilmesi şeklinde yapılır. Opak madde buradan fallop tüplerine geçer. Fluoroskopi altında görüntüler kaydedilir (1).

İnfertilite araştırmasında erken dönem çekilecek HSG ile uterin anomaliler ve intrauterin lezyonlar, intramural oklüzyonlar ve/veya intramural lezyonlar (tubal açıklık korunmuş olsa dahi), distal tubal oklüzyon ve bu olgularda gebelik açısından prognostik önemi olan intratübül mukozal katlantılar değerlendirilebilir. Proksimal ve distal tubal tıkanıklık bulunup bulunmadığını açık biçimde gösterir. Ayrıca endometrial polipler, fibroidler, septum varlığı ve diğer anomaliler gibi uterusun yapısal patolojileri hakkında da fikir verir. İyi yapılırsa uterus ve tubaların motilitesini de ortaya koyabilir. Tanısal faydasının yanında tedavi edici etkisi de bulunmaktadır (57).



Şekil 2.3. Normal HSG görüntüsü

Laparoskopi

İnfertilitenin babası olarak kabul edilen Fransız Palmer 1940 yılında laparoskopiyi uygulama alanına sokmuştur. Tubal ve peritoneal hastalıkların tanısında “altın standart” laparoskopidir (1,2,5). Laparoskopi sırasında bütün pelvik organlar, subseröz ve intramural myomlar, peritubal ve periovaryen adezyonlar ve endometriosis olup olmadığı görülür. HSG’deki anormal bulguların doğruluğunun saptanması için laparoskopi uygulanmalıdır. Laparoskopi sırasında metilen mavisi veya indigo karmen gibi bir boya maddesi serviksten verilip, fimbrial geçişine bakılarak tubal açıklık değerlendirilir. Ayrıca gelişmiş optik ve büyütme sistemi ile operatif cihazlar yardımıyla tubal obstruksiyon, pelvik adezyon ve endometriosis tanısı konulup aynı anda tedavi edilebilir. Klasik infertilite araştırmasında kadında

önerilen en son tetkik laparoskopi ile endometriosisin ve diğer pelvik patolojilerin araştırılmasıdır (1,57).

Histeroskopi

Histeroskopi fertiliteye olumsuz etkisi olan intrauterin patolojilerin tanı ve tedavisinde kesin sonuç veren bir yöntemdir. Kadında histeroskopi genellikle ileri evre bir tetkik yöntemi olarak kabul edilmektedir. HSG ve sonohisterografiden daha detaylı bilgi verir. Bu tekniklerle gözden kaçırılmış intrauterin patolojiler saptanabilir. Eğer HSG veya bir patoloji görülmüş ise tanısall ve operatif histeroskopi yapılabilir. Histeroskopi ile intraservikal ve intrauterin lezyonlar değerlendirilir ve aynı seansta cerrahi işlem uygulanabilir (1,57).

Sonohisterografi

Tubal açıklığı değerlendiren bir başka yöntem ise sonohisterografidir. Uterus kavitesini değerlendirmede faydalıdır fakat tubaların durumu hakkında değeri sınırlıdır (1).

2.3.2. Erkek Hastanın Değerlendirilmesi

Hastanın öyküsü ayrıntılı olarak alınmalıdır. İnfertilite öyküsü, cinsel yaşam öyküsü, çocukluk çağı hastalıkları ve gelişim öyküsü, enfeksiyonlar, geçirilmiş operasyonlar, gonadal toksinlere maruziyet, sistemik hastalıklar, kullanılan ilaçlar ve aile öyküsü alınmalıdır. Erkek infertilitesi değerlendirilirken tıbbi ve üreme öyküsü, bir ürolog ya da bu konuda uzman kişi tarafından yapılmış fizik muayene ve en azından iki semen analizi gereklidir. Sonuca göre infertilitenin etyolojisine göre ek testler istenebilir. Bu testleri, ek semen analizi, endokrin değerlendirme, postejakulatuar idrar analizi, ultrasonografi, semen ve spermle ilgili özel testler ve genetik tarama olarak sayabiliriz (1,2,5).

Öykü Ve Fizik Muayene

Genel fizik muayene değerlendirmenin önemli bir bileşenidir. Burada cinsel organlarla ilgili şu özelliklere dikkat edilmelidir (1).

- 1) Penis muayenesi, üretral meatusun yeri
- 2) Testislerin palpasyonu ve büyüklükleri
- 3) Vas deferenslerin ve epididimislerin varlığı ve yapısı
- 4) Varikosel varlığı

- 5) Vücut yapısı, kıl dağılımı ve meme gelişimi gibi sekonder seks karakterleri
6) Dijital rektal muayene

Tanımsal Testler

İnfertil çiftlerin % 48'inde erkeğe bağlı bir faktörün olması erkek fertilizasyon potansiyelinin araştırılmasını bir ön koşul olarak beraberinde getirmektedir (1). İnsan sperminin fertilizasyon kabiliyeti ile ilgili yalnızca son on yıl içerisinde bile birçok test tanımlanmıştır. Bunların çoğu deneysel olarak kullanılmış ve rutindeki yerini alamamıştır. Bu bölümde erkek infertilitesinde rutinde kullanılan testlerden söz edilecektir.

Klasik Semen Analizi

Erkek fertilizasyon potansiyelinin araştırılmasındaki ilk adım en az 4 hafta ara ile uygun yapılmış 2 semen analizi olmalıdır. Bu konu WHO tarafından bir kitap halinde hazırlanmış ve dünyada en çok kullanılan referans kitap haline gelmiştir (Tablo 2.1.) (58).

Tablo 2.1. Klasik semen analizi

Görünüm: Homojen, gri-opak
Viskozite: <2 cm
Likefaksiyon süresi: <60 dk
Volüm: >2 ml
Ph: 7,2-8,0
Sperm sayısı: >20 milyon/ml
Total sperm sayısı: >40 milyon/ml
Total motilite: >% 50
(a)Hızlı ileri hareket: >% 25
Morfoloji: >% 30 WHO kriteri (>%14 Kruger strict kriteri)
Vitalite >% 75
Beyaz küre: <1 milyon/ml

İmmüno bead test: Motil spermatozoların % 50'den azı immün taneciklere bağlı

MAR (Mixed Agglutination Reaction) Testi: Motil spermatozooların % 50'den azında partiküller yapışık

Bioasseyleler

Hemizona indeks: >% 35

HOS (Hipo-ozmotik şişme) Test >% 60

Sperm Penetrasyon Assay: >% 10

Diğer testler

Glukozidaz (nötral): >20 Mu

Çinko (total): >2,4 mmol

Sitrik asit (total): >52 mmol

Asit fosfotaz (total): >200 U

Fruktoz (total): >13 mmol

Bazı semen değişkenleri için terminoloji şu şekildedir (58):

- **Normozoospermi:** Referans değerlerle tanımlanan normal ejakülat
- **Oligozoospermi:** Referans değerden düşük sperm konsantrasyonu
- **Astenozoospermi:** Hareketlilik için referans değerden daha düşük değer
- **Teratozoospermi:** Morfoloji için referans değerden daha düşük değer
- **Oligoastenoteratozoospermi:** Her üç değişkenin de bozukluğuna işaret eder (sadece iki ön ekin kombinasyonu da kullanılabilir)
- **Azoospermi:** Ejakülatta hiç spermatozoa bulunmaması
- **Aspermi:** Hiç ejakülat elde edilememesi

Semen analizinin en önemli kısmını ise mikroskopik inceleme oluşturmaktadır. Bunun için kullanılacak yöntem ve alet çok iyi seçilmelidir. Mikroskopik incelemede sperm sayısı, hareketliliği, yuvarlak hücre sayısı, aglütinasyonun varsaderecelendirilmesi, morfoloji ve yuvarlak hücrelerin sınıflandırılması incelenir. Spermin sayısı, hemositometre kullanılıyorsa seyreltilerek, Makler sayım aleti kullanılıyorsa seyreltilmeden değerlendirilir. Güvenilir bir değerlendirme için ideal olan 100 karedeki spermleri saymaktır. Kullanılan alete bağımlı olarak, tek karedeki ortalama sperm sayısı temel alınıp

sayım milyon/ml olarak ifade edilir. WHO hareketliliği 4 sınıfta değerlendirilmektedir:

- a) Hızlı doğrusal progresif hareket
- b) Yavaş doğrusal ya da doğrusal olmayan hareket
- c) Progresif olmayan hareketlilik
- d) Hareketsiz

Her ne kadar hareketlilik kabaca dört grupta inceleniyorsa da, özellikle YÜT’de kullanılacak tanı kriterleri doğrultusunda modifikasyon gerekliliği duyulmuş ve hareketli olan spermeler iki sınıfta değerlendirilmiştir. Buna göre hareketlilik yavaş, tembel ya da hareketin belirgin bir morfolojik defekt ile sınırlandığı durumlar olarak tanımlanmış ve progresif hareket, hızlı ve doğrusal hareket olarak tanımlanmıştır (58).

Kruger ve arkadaşları tarafından ‘Strict’ kriterleri ile morfoloji değerlendirilmesinin tanımlanmasıyla bu parametre giderek artan bir önem kazanmıştır. Bu yöntem ilk kez 1986 yılında yayınlanmış ve 1990 yılında Menkveld ve arkadaşları tarafından modifiye edilmiştir. Kısa süre içerisinde rutin incelemede yerini alan bu yöntemin WHO kriterlerine göre morfoloji değerlendirilmesi yöntemine olan üstünlüğü de gösterilmiştir. Kruger’e göre morfoloji % 4 den az, % 4-14 ve % 14 den fazla olarak sınıflandırılmaktadır. Normal morfoloji % 4’den az olduğunda IVF ile her oosit başına fertilizasyon oranı % 7,6 iken, % 14’den büyük olanlarda oran % 63,9’a yükselmektedir (58, 59).

Endokrin Değerlendirme

Normal semen analizi olan kişilerde genelde hipotalamus-hipofiz-testis aksında bir bozukluk yoktur. Her erkeğe rutin endokrin değerlendirme gerekli değildir. Minimum hormonal değerlendirme için, serum FSH ve testosteron düzeylerinin ölçülmesi yeterlidir. Hormonal düzey ile altta yatan patolojiyi öngörmek mümkün olabilir. Belirgin FSH yüksekliği ve 5 milyon/ml altında sperm sayısı varlığı testiküler yetmezliğin bir göstergesidir. FSH, LH ve testosteron düzeylerinde düşüklük olması kazanılmış hipogonadotropik hipogonadizmi düşündürür. Bu, prolaktinomaya veya nonfonksiyone bir hipofiz tümörüne bağlı olabilir (1,5).

Post-ejakulatuar İdrar Analizi

Ejakulat volümü 1 ml'nin altında veya hiç ejakulat yok ise retrograd ejakulasyon, ejakulatuar kanal obstrüksiyonu, hipogonadizm veya bilateral konjenital vas deferens agenezisi ayırıcı tanıda düşünülmelidir. Hipogonadizm ve bilateral konjenital vas deferens agenezisi tanısı ekarte ediliyorsa retrograd ejakulasyon tanısını koymak için post-ejakulatuar idrar analizi yapılmalıdır. Ancak ejakulatuın uygun şekilde ve uygun sürede alınmış olmasından emin olunmalıdır. Post-ejakulatuar idrar analizinde sperm görülmesi aspermili veya azospermili bir hastada retrograd ejakulasyon tanısını koydurur. Ancak henüz idrarda en az kaç sperm görülmesi gerektiği konusunda tam bir fikir birliği yoktur. Genel kabul her sahada 5-10 sperm görülmesi yeterlidir (60).

Ultrasonografi

Transrektal USG, post-ejakulatuar idrar analizinde sperm görülmeyen, serum testosteronu normal olan, fizik muayenesinde palpe edilebilen iki taraflı vas deferensleri bulunan düşük ejakulat volumlü bir hastada yapılmalıdır. Normal seminal keselerin ön arka çapları 1,5 cm'den azdır. Seminal veziküllerde ve ejakulatuar kanallarda dilatasyon komplet veya parsiyel obstrüksiyonu düşündürür. Palpasyonun çok kesin bilgi vermediği testiküler kitle veya subklinik varikosel varlığını ortaya koymak için skrotal ultrasonografi yapılmalıdır (60).

Özel Semen Ve Sperm Testleri

Bu testler, infertil erkeğin rutin değerlendirilmesi esnasında kullanılmazlar. Ancak küçük bir hasta grubunda, açıklanamayan infertiliteye katkıda bulunan erkek faktörünün araştırılmasında ve YÜT teknolojisi gibi bir tedavi yönteminin seçilmesinde yardımcı yöntemlerdir.

Semende lökosit artışı sperm fonksiyonları ve motilitesinde bozucu etkiye sahiptir. Direkt mikroskopide hem lökositler hem de immatür germ hücreleri yuvarlak hücre olarak görülürler. Bazı laboratuarlarda tüm yuvarlak hücreler yanlış olarak lökosit olarak adlandırılırlar. Klinisyen bu iki hücre tipinin iyi ayrılmış olmasından emin olmalıdır. Ayırım için sitolojik boyamalar ve immünohistokimyasal yöntemler kullanılır. Gerçek piyospermili (1 milyon/ml'den fazla lökosit varlığı) hastalar genital enfeksiyon veya inflamasyon açısından değerlendirilmelidir (60).

Anti-sperm antikor (ASA) testleri: Normalde testis ile kan arasında bir bariyer vardır ve bu bariyer spermlerin immün sisteme maruz kalmasını önler. Sperm üretimi puberte sonrası başladığı için daha önce oluşmuş olan immün sistem spermleri tanımaz ve yabancı olarak değerlendirir. ASA oluşumu için risk faktörleri, duktal obstrüksiyon, önceki genital enfeksiyonlar, testiküler travma, önceden yapılmış vazo-vazostomi veya vazo-epididimostomidir. ASA testleri, sperm sayısı normal, sperm aglütinasyonu veya bozuk post-koital testi olan izole astenospermili kişilerde yapılmalıdır. Eğer kişiye ICSI planlanıyorsa ASA ölçümü gerekli değildir (60).

Genetik

Erkek infertilitesinin % 40'nın nedeni bilinmemekle birlikte, genetik faktörler bu nedenler arasında önemli bir yer tutmaktadır. Sayısal ve yapısal kromozomal düzensizliklerine, sebebi bilinmeyen oligozoospermik ve azoospermik olgularda sık rastlandığı bilinmektedir (60).

2.4. Yardımla Üreme Teknikleri

YÜT, infertilite sorununu çözmeye yönelik olarak geliştirilen birçok tekniği içerir. Hastanın yaşı, infertilitenin etyolojisi ve süresi gibi birçok faktör göz önüne alınarak çifte çözüm olabilecek ve ekonomik olarak da çift ve uygulamayı yapacak olan ekip için en avantajlı tekniğin seçilerek uygulanmasında yarar vardır. Bu yöntemlerden ilk geliştirilen ve en yaygın olarak kullanılanı IVF'tir (7).

IVF-ET (Embriyo Transferi): Çeşitli ajanlarla ovulasyon indüksiyonunu takiben oositlerin toplanması, laboratuarda fertilizasyonunu takiben oluşan embriyonun uterusu transservikal yerleştirilmesi işlemidir (2,61,62).

GIFT (Gamet Intrafallopian Transfer) : Bu yöntemde toplanan oositler ve spermler biraraya getirilip laparoskopik olarak tuba uterinanın ampuller bölgesine transfer edilir. Uygulama esnasında genel anestezi verilmesi, fertilizasyon ve embriyo gelişiminin vitro izlenmemesi ve ektopik gebelik riski fazla olmasından dolayı bu yöntem fazla kullanılmamıştır (2,63,64).

ZIFT (Zigot Intrafallopian Transfer) : Bu teknikte zigot tuba uterinalara transfer edilir (2,61).

Şiddetli erkek infertilitesinde ve konvansiyonel IVF uygulamalarında sonuç alınamayan durumlarda kullanılmak üzere mikromanüplasyon teknikleri şunlardır :

PDZ: Spermin oosite ulaşabilmesi için zona pellicudada spermin geçebileceği bir açıklık oluşturulduktan sonra oositin insemine edilmesidir.

SUZI (Sub-Zonal İnseminasyon) : Spermlerin zona pellicuda bariyerini aşarak direkt olarak perivitellin aralığa bırakılmasıdır.

ICSI: Tek bir spermin çok ince bir pipet yardımıyla oosit sitoplazmasına enjekte edilmesidir (65).

2.4.1. Ovulasyon İndüksiyonu

Oİ anovulasyonun tedavisinde ilk basamaktır. İnfertilite nedenleri arasında % 30-40 oranında ortaya çıkan ovulatuvar disfonksiyonun tedavisinde kullanılır. İnfertil kadınlarda Oİ ile normal populasyon oranlarına yakın bir ovulasyon oranı elde edilmektedir. Ovulasyon indüksiyonunda amaç 16-18 mm folikül elde etmektir. Ovulasyon indüksiyonunda klomifen sitrat, tamoksifen, aromataz inhibitörleri, gonadotrop hormonlar, hMG, uFSH (Üriner follikül stimüle edici hormon), recFSH (recombinant follikül stimüle edici hormon) ve LH kullanılan ajanlardandır (66).

2.4.2. Ovulasyon İndüksiyonu + İntrauterin İnseminasyon

Oİ tedavisi verilir. Tedavi esnasında USG ile monitörizasyon yapılır. Follikül büyüklüğü 18-20 mm'yi bulduğunda hCG yapılarak ovulasyon sağlanır. Hastanın eşinden alınan sperm hücreleri seminal plazmadan ayrılıp stimüle edildikten sonra uterus içine verilerek IUI yapılır (66).

2.4.3. IVF

IVF, oositlerin overlerden toplanıp, ekstrakorporal olarak fertilize edilip oluşan embriyonun uterus içerisine yerleştirildiği bir yardımla üreme tekniğidir. IVF teknikleri kullanılarak daha fazla sayıda hareketli spermin oositlerle küçük kültür ortamlarında birlikte enkübe olmaları sağlanır ve böylece dölleme şansı artmış olur.

Endikasyonlar, tubal faktör, endometriosis, erkek faktörü, açıklanamayan infertilite, immünolojik infertilite olarak sınıflanabilir. IVF uygulamalarında başarıyı etkileyen major faktörlerden birisi olan yaş, özellikle 35'in üzerinde olduğu zaman, negatif yönde etkileyici bir parametre olabilmektedir. Özellikle ovaryan cevabın azalması, gelişen follikül sayısının ve elde edilen oosit sayısının yeterli ve uygun

kalitede olmaması, 40 yaş altında 3'den fazla follikülü olanlarda canlı doğum oranlarının % 32'lerden 40 yaş üzerinde 3'den az follikülü olanlarda % 4'lere düşmesine neden olmaktadır (67). Son yıllarda infertiliteye yönelik tedavilerde IVF ve YÜT'de ciddi yenilikler ve ilerlemeler olmuştur. IVF uygulamaları ciddi tubal hasar, ileri erkek faktörü gibi başka yolla tedavi edilemeyecek mutlak endikasyonları yanında diğer tedavilerin başarısız olduğu multifaktöriyel infertilite durumlarında da kullanılmaktadır. YÜT ile, prematür over yetmezliği veya ileri yaşta over rezervinin tükendiği durumlarda oosit bağıışı ile çiftlere çocuk sahibi olma imkanı sunulmaktadır (68).

Dutch Society of Obstetrics an Gynecology, IVF-ICSI endikasyonları konusunda guideline yayınlamıştır (Tablo 2.2.) (69).

Tablo 2.2. Dutch Society of Obstetrics and Gynecology: IVF-ICSI endikasyonları

<p>TUBAL PATOLOJİ</p> <p>Tubal cerrahi gerçekçi bir alternatif değilse</p> <p>Tubal oklüzyon olmadan fonksiyon bozukluğu olması veya tubal cerrahiden sonra 2 yıl veya daha fazla zaman geçmesine rağmen gebelik oluşmamışsa</p> <p>Kadın yaşı ileri ise daha kısa bir zaman sonra da IVF-ICSI yapılabilir.</p>
<p>AÇIKLANAMAYAN İNFERTİLİTE</p> <p>3 yılı aşkın infertilite varsa, kadın yaşı 36'dan fazla ise IVF-ICSI uygulanabilir.</p>
<p>ERKEK FAKTÖRÜ</p> <p>Total motil sperm sayısı (TMS)<1 milyon ise ICSI</p> <p>TMS>1 ve <10 milyon ise, 2 yılı aşkın infertilite varlığında IVF yapılabilir.</p> <p>TMS>10 milyon ise açıklanamayan infertilite gibi tedavi edilir.</p>
<p>ENDOMETRİOZİS</p> <p>Hafif-orta olgular açıklanamayan infertilite gibi tedavi edilir.</p> <p>Ciddi olgular tubal patoloji gibi tedavi edilir.</p>
<p>SERVİKAL FAKTÖR-İMMÜNOLOJİK İNFERTİLİTE</p> <p>2 yılı aşkın infertilite olgularında IVF uygulanabilir. Bayan yaşı 36'nın üzerinde ise daha erken IVF'e gidilmelidir.</p>
<p>HORMONAL BOZUKLUKLAR</p> <p>Anovulatuvar siklusu olanlarda 12 siklus ovulasyon indüksiyonu denenmiş ama başarısız olunmuşsa IVF uygulanabilir.</p>

2.4.4. İntrasitoplazmik Sperm İnjesiyonu

Tek bir spermın çok ince bir pipet yardımıyla oosit sitoplazmasına enjekte edilmesi olarak tanımlanan ICSI yönteminin yardımcı üreme tekniklerine katılması önemli bir başarı olmuştur. Erkek faktörü infertilitesinde önemli bir dönem başlamış, embriyologların oosit ve sperm ile daha yakından çalışması sağlanmıştır. Bununla beraber IVF yapılmasına karşın fertilizasyon başarısızlığına bağlı olarak gebelik elde edilemeyen önemli sayıda hastalarda fertilizasyonu sağlamak için çeşitli mikromanüplasyon teknikleri geliştirilmiştir. ICSI endikasyonları Tablo 2.3.'de görülmektedir (69).

Tablo 2.3 ICSI endikasyonları

<ol style="list-style-type: none"> 1. Şiddetli oligo-asteno-teratozoospermi 2. Geçirilmiş başarısız IVF öyküsü 3. Antisperm antikorlar 4. Ejakulatuvar disfonksiyonlar (elektroejekülasyon, retrograd ejakülasyon) 5. Bilateral vas deferenslerin konjenital yokluğu 6. Bilateral ejakulatuvar duktus obstrüksiyonu 7. Young sendromu 8. Testiküler yetmezlik nedeniyle (matürasyon arresti, germ hücre aplazisi) azospermi 9. Başarısız vazo-vazostomi ve vazo-epididimostomi sonrası 10. Ejakulatta nekrozoospermi 11. Fibröz nedeniyle epididimal sperm toplanamaması 12. Globozoospermi (ICSI'de bile başarı oldukça düşük) 13. İmmotil silia sendromu (yarısı Kartegener Sendromu: situs inversus,bronşektazi,kronik sinüzit)

2.4.5. Testis Biyopsisi

Ejakülatta sperm yokluğu olarak tanımlanan azospermi, tüm erkeklerin % 1'inde, infertil erkeklerin ise % 10-15'inde görülür. Son 10 yıla kadar azospermik

olguların çocuk sahibi olmasından söz etmek olanaksızken IVF ve ICSI, testiküler sperm varlığında infertil erkeklere baba olma şansı tanımaktadır. İlk kez 1993'te perkütan sperm aspirasyonu tanısız amaçlı olarak kullanılmıştır (70). Non-obstrüktif azoospermili (NOA) olgularda, testiste sperm matür ya da immatür halde bulunabilir. Dolayısıyla bu olgularda 'Testicular Sperm Extraction' (TESE) veya 'Testicular Sperm Aspiration' (TESA) işlemine başvurulur. Obstrüktif azoospermide ise 'Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration' (MESA) veya 'Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration' (PESA) yöntemi ile sperm elde edilir. Testis biyopsisi cerrahi bir girişim olduğundan ancak diğer yöntemler ile tanı konulamayan infertil erkeklerde diagnostik amaçlı uygulanmıştır.

Literatür bulguları, azoospermik vakaların az bir kısmının obstrüksiyona bağlı olduğunu göstermektedir. Batı toplumlarında obstrüktif infertilitenin önemli bir kısmı vazektomi sonrası meydana geldiği ve bu oranın bir çalışmada % 30 olduğu bildirilmiştir (70). Türkiyede vazektominin uygulama alanının kısıtlı olmasından dolayı, azoospermik erkeklerin büyük bir kısmını NOA vakaları oluşturmaktadır. NOA vakalarının histopatolojik değerlendirilmesinde Levin'in tanımlamaları esas alınmaktadır (71):

1) Normal spermatogenez: Normal testis yapısı gözlenir. Kanser veya karsinoma in situ bulgusu yoktur. Bütün seminifer tübül kesitlerinde spermatogenez aktivitesi izlenir.

2) Hipospermatogenez: Bu paternde tüm germ hücreleri bulunur ancak sayısal olarak azdır. Bunun sonucunda ejakülatta az sperm bulunabilir.

3) Germ hücre aplazisi / Sertoli Cell Only (SCO) Sendromu: Germ hücrelerine hiç rastlanılmayan bu durum SCO Sendromudur.

4) Maturasyon duraklaması (arrest): Sperm hücresi matürasyonu bir çok basamakta duraksamaya maruz kalabilir ve arrest paternleri oluşur. Erken evrelerde mayoz bölünmeyle, geç evrelerde spermatogenez regülasyonu ile ilgili sorunlar olabilir.

5) Diğer paternler: Seminifer tübüllerinin skar ya da sklerotik dokuyla tamamen veya kısmen yer değiştirmesi ile karakterizedir. FSH'nın yüksek olması testiküler spermatogenez bozukluğunun bir kanıtı olarak kabul edilir ve bu vakalarda

bile testis içinden spermatozoa bulunması bölgesel spermatogenezin olabilmesi ile açıklanmaktadır

Mikroskopik TESE işleminin ameliyat mikroskobu yardımı ile yapılması durumunda testis içindeki fokal spermatogenez odakları daha kolay tespit edilmekte (mikroskopik testis eksplorasyonu) ve körlemesine testis dokusu örneği alınması yerine çapı kalın tübüllerin toplanması ile spermatozoa elde edilme olasılığı daha yüksek olmakta bu oran NOA vakalarında % 60 yaklaşmaktadır (72).

Tanısal Testis Biyopsisi Yöntemleri (71)

1) Açık biyopsi tekniği: Genellikle lokal anestezi altında basit bir gözkapağı retraktörü yardımıyla, pencere tekniği uygulanarak küçük bir insizyondan yaklaşık 50 mg ağırlığında testis dokusu çıkarılır.

2) Perkutan “Tru-Cut” tekniği: Lokal anestezi altında Vim-Silverman veya Tru-Cut iğneleriyle testise girerek histolojik inceleme için doku elde edilir.

3) İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi tekniği: Spermatogenez aktivitesini değerlendirmek açısından kolay ve güvenilir bir yöntem olmakla beraber seminifer tübül ve intersitisyel dokunun değerlendirilmesinde yetersiz kalmaktadır.

4) Testisin haritalanması: Testiste sperm üretiminin fokal olabileceği gerçeğinden yola çıkılmıştır. Testiste ne kadar çok alandan biyopsi alınırsa sperm bulma şansı o kadar yüksektir.

Tedavi Amaçlı Testis Biyopsisi Yöntemleri (71)

1) TESA yöntemi: Obstrüktif azoospermide sperm elde etme şansı yüksektir. Planlanan aspirasyon noktaları işaretlenip, aspirasyon işlemi yapılır.

2) Konvansiyonel TESE yöntemi: NOA özellikle testiküler yetmezlikli olgularda tercih edilmelidir. Genel yada lokal anestezi altında skrotal kesi ile testis ve epididimincelenir. Yaklaşık 50 mg ağırlığında testis dokusu çıkarılır. Alınan testis dokusunda sperm saptanırsa aynı yerden 2 kat doku daha alınarak işleme son verilir.

3) Mikrodiseksiyon TESE Yöntemi: Schlegel ve arkadaşları, ilk kez 1998’de tanımladıkları yöntemine göre ameliyat mikroskobu ile 8-15 büyütme altında testis ekvatoryal eksende subtunikal testiküler damarlara hasar vermeden yapılan 3-4 cm’lik kesi ile açılır. 1-5 gr ağırlığında testis dokusu çıkarılır.

2.5. YÜT Başarısını Belirleyen Faktörler

Primordial folliküllerin yaşla birlikte programlı hücre ölümü sonucu kaybı over rezervini düşürür. Özellikle 37 yaşın üzerinde follikül kaybı hız kazanır ve bu hızlı kayıp menopoza kadar devam eder (73). Birçok çalışmada tek başına yaş faktörünün over rezervini öngörmeye en etkili faktör olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda kronolojik yaş, embriyo implantasyonu ve abortus oranlarını belirlemede iyi bir prediktördür (73-76).

Bazal serum FSH düzeyi over rezervini öngörmeye bağımsız değişkenlerdendir. 20 IU/ml üzerinde bazal serum FSH düzeyleri varlığında gebelik olasılığı çok düşük bulunmuş ve 25 IU/ml üzerinde ise devam eden gebelik olasılığının bulunmadığı rapor edilmiştir. FSH ölçümü over rezervinin kalitatif değerlendirilmesinde daha efektif bulunmuştur. Kontrollü ovaryen hiperstimülasyon (KOH) yanıtında bir başka etken bazal serum E₂ düzeyidir. 20 pg/ml altında ve 80 pg/ml üzerinde siklus iptal oranları yüksek olmakla birlikte gebelik olasılığını öngörmeye etkili bulunmamıştır. FSH ölçümü ile birlikte değerlendirilmesi daha sensitiftir (1,7,8). Genel olarak FSH ve antral follikül sayısı (AFC) ovaryan rezervi yaştan daha iyi predikte ederken, kronolojik yaş embriyo implantasyonu olasılığını öngörmeye daha etkili bulunmuştur (76).

Antimüllerian Hormon (AMH) seviyeleri ile AFC ve toplanan oosit sayısı arasında belirgin korelasyon rapor edilmiştir. Aynı zamanda düşük AMH seviyesi kötü ovaryan cevaba işaret etmektedir. Folliküler sıvıdaki AMH düzeyi fertilize oositlerde fertilize olmayanlara göre 3 kat daha fazladır (77). Ayrıca indüksiyon siklusunda endometrial kalınlık ve değişim paternlerinin de gebeliği öngörmeye etkili olabileceği bildirilmiştir. Stimülasyonun 6. gününde artmış endometrial kalınlık ve hCG günü endometrial kalınlığın IVF başarısında iyi bir prognostik faktör olabileceği bildirilmiştir (78).

2.5.1. Over Rezervi Tayini

Overlerin Fizyolojik Sorumluluğu: Oogenezis, oogoninin matür ovum gelişinceye kadar geçirdiği evreleri içerir. Bu maturasyon doğumdan önce başlayıp puberteye kadar tamamlanamaz. Tüm oogoniyalar doğum öncesinde primer oosit haline gelir. Primer oositler 1. mayotik bölünmeye doğumdan önce başlar fakat

profazın tamamlanması puberte sonuna kadar olmaz. Primer oosit profazın diploten evresinde, pubertede seksüel matüriteye ulaşınca ve reproduktif sikluslar başlayınca kadar, yıllarca kalır. Primer oositi saran folliküller hücrelerin mayozu durduran oosit maturasyon inhibitörü (OMI) olarak adlandırılan bir maddeyi salgıladıklarına inanılır. Birinci mayotik bölünmede bu kadar uzun süre kalma artan yaşla daha sık görülen nondisjunction gibi mayotik hatalardan sorumlu olabilir. Primer oositin uzamış mayotik bölünmesinin radyasyon vs. gibi çevresel faktörlerden etkilenebileceği mümkün görünmektedir. Doğumdan sonra artık başka primer oosit yapılamaz. Halbuki erkeklerde puberteden sonra primer spermatositler sürekli yapılabilmektedir. Puberteye kadar sessiz kalan primer oositler puberte ile uykudan uyanarak gelişmelerine devam ederler. Ovulasyondan kısa bir süre önce primer oosit 1. mayoz bölünmesini tamamlar, 1. polar cisim atılır, sekonder oosit oluşur. Ovulasyonda sekonder oositin nükleusu 2. mayotik bölünmeye başlar ve metafaza kadar ilerler ve durur. Eğer sekonder oosite bir sperm girerse 2. mayotik bölünmede tamamlanır, 2. polar cisim atılır, oosit matür ovum haline gelir. Yenidoğanda overlerde 2 milyon primer oosit vardır. Çocukluk döneminde çoğu geriler pubertede yaklaşık 300.000-400.000 tanesi kalır. Reproduktif periyotta yaklaşık 400 tanesi sekonder oosit haline gelir ve ovulasyonla atılır (79).

Yetersiz follikül gelişimi, oosit kalitesinin kötü olması olarak adlandırılan ovaryen rezerv azalması ve bunun tespit edilerek hastaların yönlendirilmesi büyük önem kazanmaktadır. Azalmış over rezervi ve buna bağlı azalan reproduktif potansiyelin başlangıç zamanı çok değişken olabilir. Bazı kadınlar 30 yaşına doğru over rezervleri azalarak reproduktif potansiyelini kaybederken, bazıları 50'li yaşlarda gebe kalıp çocuk doğurabilmektedir. Bu kadınların hiçbirinde de menstrüel sikluslarında bir sapma olmayabilir. O zaman geleneksel yöntemlerle over rezervini saptamak her zaman doğru olmaz. Artan yaşla beraber over rezervlerinde bir azalma olduğu aşikardır. Gebe kalamama oranı 25 yaşın altında %6 iken, 36-40 yaşlarında %43'dur. Yaşla over rezervi azalması arasında bir ilişki olmasına rağmen sadece yaşa bakarak hastaya tedavi sonucu hakkında bilgi vermek ve tedaviyi yönlendirmek yanlış olur (1,2,5).

Gonadotropinlere Cevap: Yaş ilerledikçe overlerdeki folliküllerin sayısında azalma ve hızlı kayıpları söz konusudur. Over rezervlerinin azaldığı durumlarda gonadotropinlerle stimülasyonda follikül kümelerinin aktivitelerinin düşük olacağı düşünülmektedir. Norfolk grubu iyi standardize edilmiş bir gonadotropin stimülasyon programına cevaba göre görünüşte normal kadınları prognostik kategorilere ayırmıştır. Kötü cevabı olanlar (düşük E₂ seviyeleri olanlar) daha az follikül geliştirmişler, bunlardan elde edilen az miktardaki oositlerin kaliteleri bozuk bulunmuş dolayısıyla gebelik oranlarında düşük olarak tespit edilmiştir. Overin kendisinden kaynaklanan bu cevap durumu doz arttırılsa bile düzeltilememiştir. Gonadotropinlerle stimülasyona overlerin verdiği yanıt over rezervini iyi bir şekilde yansıtmaktadır. Fakat prognostik bilgilenme, tedavi sonrası retrospektif olarak elde edilebilmekte ayrıca invaziv, pahalı ve nadir de olsa ciddi yan etkilere sahip bir yöntem olduğunda tarama yöntemi olarak kullanımı kısıtlanmaktadır. Daha basit, güveni daha az invazif bir tarama yöntemi daha iyi klinik değere sahip olacaktır (7).

GnRHa (Gonadotropin Serbestleştirici Hormon Agonisti) **Uyarı Testi:** 1 mg GnRH-A uygulaması sonrasında 2. gün seviyelerine göre 2 kat artan E₂ düzeyi tespit edildiğinde olgulardan daha fazla oosit toplanabildiği, gebelik oranlarının da arttığı belirtilmiştir (79).

Bazal FSH Seviyesi: Bazal FSH ile gebelik oranlarını ilk araştıranlardan Muasher ve ark. bazal gonadotropin tayininin stimülasyon kalitesi için iyi fakat gebelik oranları için iyi olmayan prediktif değere sahip olduğunu vurgulamışlardır. Fakat bu çalışma az sayıda olgu ile yapılmıştır (80). Scott ve ark. 758 IVF siklusunda yaptıkları geniş çalışma sonucunda bazal FSH'i yüksek olanlarda, gebelik oranını düşük bulmuşlardır. Devam eden gebeliklerin hepsinde de FSH 15 mIU/ml altında idi, gebelik oranını FSH 25 mIU/ml üzerinde olan olgularda %5'lere düşmekteydi. FSH 15-24.5 mIU/ml arasında olan grup orta grup olarak isimlendirildiğinde, devam eden gebelik oranları düşük, orta ve yüksek FSH gruplarında sırasıyla %17, %9.3, %3.6 olarak bulunmuştur (55). Gebelik oranlarının düşmesi azalmış over rezervi dolayısıyla daha az follikül gelişmesi daha az oosit oluşması ve daha az embriyo elde edilmesi nedeniyledir. Yaşın önemli bir prediktif değeri tespit edilememiştir. Böylece bazal FSH seviyelerini overlerin cevabını

değerlendirmede ve muhtemel gebeliği tayin etmede tedavinin riskine ve masrafına katlanmadan önce belirleyici olduğu vurgulanmaktadır (55).

Bazal FSH taramasının kesin fizyolojik temeli bilinmez, inhibin aktivitesindeki değişiklikleri yansıtır olabilir. İnhibin seviyelerinde yaşla ilgili değişiklikler saptanmasına rağmen bazal seviyelerde değişiklikler bulunmamıştır (81). Tek bir ovaryen ürünün bazal FSH seviyesinden sorumlu olmadığı bir gerçektir. Bazal FSH seviyesinin rutinde kullanımını bazı soruları akla getirmektedir. Siklustan siklusa bazal FSH seviyelerinde değişme dolayısıyla hastaların prognostik kategorilerinde değişme olmaktadır mı? Scott ve ark. bu konuda yaptıkları çalışmada bazal FSH'sı düşük olanlarda (<15 mIU/ml) sikluslar arası değişimin düşük olduğu, bazal FSH'sı yüksek olanlarda (>25 mIU/ml) bu değişkenliğin daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Bu oynamaların hastaların prognostik kategorilerini değiştirmedini belirlemişlerdir. Sikluslar arası değişkenliği fazla olduğu için siklustan siklusa prognostik kategorileri değişenlerin incelenmesinde stimulusa verilen cevabın her siklusa zayıf olduğu ve gebelik oranlarının düşük olduğu tespit edilmiştir. Bazal FSH seviyeleri bir siklusa düşük bir siklusa yüksek olanların zaten over rezervlerinin düşük olduğu vurgulanmıştır. Bu nedenle FSH seviyesi düşük olan siklus izlenerek tedavinin planlanması klinik sonucu iyileştirmez. Tek overi olanlarda da bazal FSH tayininin prognozu belirlemede kullanılabileceği belirtilmiştir. Siklusun 3.günü bazal FSH yükselmesi azalmış over rezervini, gonadotropinlere yetersiz yanıtı ve azalmış gebelik oranını göstermede oldukça değerlidir (55). Bu test aynı zamanda basit, ucuz ve rutinde kolayca kullanılabilir.

Eksojen FSH Ovaryan Rezerv Testi: Adetin 3. gününde serum E₂ ve FSH düzeyleri tespit edildikten sonra 300 IU FSH enjeksiyonu yapılır. Bir gün sonra ölçülen serum E₂ düzeyindeki artış miktarına göre değerlendirme yapılır (79).

Klomifen Sitrat "Challenge Test": 35 yaşın üzerindeki kadınların over rezervlerini tayin etmek için önerilmiştir. Klomifen sitrat (siklusun 5-9 günleri arası 100 mg/gün) vermeden önce ve verdikten sonraki 3. ve 10. günlerde FSH, LH, E₂ seviyelerine bakılmıştır. Anormal test 10. günkü yüksek FSH değerleri olarak tarif edilmiştir. Klomifen sitrat challenge test, bazal FSH tayini ile tespit edilemeyen over rezervinin azaldığı hastaları da yakalayabilen provakatif bir testtir. Over fonksiyonu

yeterli olan hastalar endojen reseptör bloğunu yenebilecek ve FSH seviyelerini siklusun 10. günü normal seviyesine çekebilecektir. Anormal test insidansı otuzlu yaşlardan itibaren artmaya başlamakta, açıklanamayan infertilitesi olanlarda da daha yüksek oranda rastlandığı tespit edilmiştir. Klomifen sitrat challenge test kullanılarak %94 doğruluk oranı ile azalmış fertilitate potansiyeli tayin edilebilir (82).

Loumaye ve ark. klomifen sitrat challenge test sonuçlarını 3. ve 10. gün FSH değerlerini toplayarak değerlendirmişlerdir. Toplanmış FSH değeri 26 mIU/ml üzerinde ise gebelik oranı sıfır olarak bulunmuştur (83).

İnhibin B Değerlendirmesi: Overlerden salgılanan İnhibin B granüloza hücre ürünü olup gelişen follikül kümesi tarafından salgılandığı düşünülmektedir. Bu yüzden İnhibin B seviyeleri over rezervi ile korele olabilir (7). İnhibin B'nin FSH salınımını inhibe ettiği bilinmektedir. İlerleyen yaş ve azalan over rezervi ile paralel olarak İnhibin B seviyesinin azaldığı gösterilmiştir. FSH değerleri ile İnhibin B değerleri kombine değerlendirildiğinde over rezervini daha güvenli tahmin etmek mümkündür. İnhibin B düzeyi 45 pg/ml ve altında olan olgularda gebelik oranlarının düşük olduğu gösterilmiştir (81,84).

Seifer ve ark. 156 infertil kadın üzerinde yaptıkları bir çalışmada adet 3. günü FSH değerleri normal olan ancak İnhibin B seviyesi düşmüş kadınlarda over rezervinin ve over cevabının azaldığını göstermişlerdir (85). Bu yüzden 3. gün FSH değeri normal olduğu halde İnhibin B değerinin düşük bulunması over rezervinin azaldığının iyi bir göstergesidir.

Over Rezervinin Değerlendirilmesinde Ultrasonografi (AFC ve OV): Overlerin ultrasonografideki görüntüleri ile indüksiyona verdikleri cevap arasında bağlantı olduğu görülmüştür. Özellikle over volümü ve over içerisinde yer alan antral folliküllerin miktarı üzerinde durulmuştur. Over hacmi ve antral follikül sayısı arttıkça over rezervinde arttığı düşünülmektedir (76). Antral folliküllerin yayınlanmış çapları 2-10 mm ve 2-5 mm'dir. Sharara ve ark. yaptıkları bir çalışmada yaş ile FSH değerleri arasında pozitif korelasyon, FSH değerleri ile antral follikül sayısı arasında da pozitif korelasyon saptamıştır. Kötü over yanıtının tahmininde AFC'nin FSH'ya üstünlüğü gösterilmiştir (86). AFC ekzojen gonadotropinlerle oluşturulan ovaryen stimülasyonun tahmininde en iyi prediktör olmasına rağmen

antral follikülleri ne oluşturur surusunun cevabı net değildir. Over hacmi 3 cm^3 ten küçük olanlarda follikül sayısında azalma ve iptal edilen siklus oranlarında artış görmüşlerdir (86). USG parametreleri içinden AFC over volümüne göre over rezervini daha iyi yansıtır.

Over Biyopsi: Biyopsi ile overdeki follikül sayısı ve yoğunluğunun değerlendirildiği bir çalışmada ise follikül sayısı ve over hacminin yaşı ileri olanlarda azaldığı bulunmuştur (87).

Bazal E₂ Değerlendirilmesi: Rezerv tahmininde önemlidir. Çünkü birincisi, yüksek seviyeler hastanın follikül gelişmesinin daha ileri safhalarında olduğunu gösterecektir. Follikül seçiminin ve recruitmentın ilerlemiş evrelerinde olanlar eksojen gonadotropin tedavisi ile kurtarılabilen kümede daha az folliküle sahip olabilecektir. İkinci olarak, yüksek E₂ dolaşımdaki gonadotropinleri azaltacaktır. Perimenopozal dönemdeki kadınlarda folliküler faz kısalmır ve adet 3. gününde ileri folliküler gelişim vardır. Dolayısıyla yüksek bazal E₂ hastanın menopoza yaklaştığını gösterir ve şansının azaldığının işareti sayılır. Üçüncü gün E₂ değeri 80 pg/ml'yi geçince gebelik elde edilememiştir. 45pg/ml üzerinde ise devam eden gebelik saptanmamıştır (76).

Antimüllerian Hormon (AMH)

AMH'nin Yapısı, Genetiği Ve Etki Mekanizması: MIS (Müllerian Inhibiting Substance) diye de adlandırılan AMH kadın overlerinde granüloza hücrelerince (88) sentezlenir ve Transforming Growth Factor Beta (TGF- β) ailesinin bir üyesi olarak kabul edilir. AMH'nin over folliküllerinin büyüme ve gelişiminde çeşitli büyüme faktörleri ile bağlantılı olduğu, diğer TGF- β aile üyelerinin sahip oldukları özellikleri sergilediği belirtilmektedir (89). Özellikle granüloza hücreleri tarafından lokal olarak üretilen AMH ve İnhibin B gibi büyüme faktörlerinin folliküler büyüme ile yakından ilişkili oldukları görülmektedir (90).

İlk çalışmalar AMH'nin foliküler hormon yapımında etkili olduğunu göstermiştir. Kadın folliküllerinin büyüme ve gelişiminde çeşitli büyüme faktörlerinin bağlantılı olduğu TGF- β ailesinin onların sahip oldukları fonksiyonları kullandığı ve gonadotropin salınımına neden olan sinyallerle birbirlerini etkiledikleri belirtilmektedir (91).

Antral fazın ilerleyen döneminde AMH'nin görülmesi kaybolur, pre-ovulatuvar follüküllerde ve korpus luteumda da AMH tespit edilemez. Bunlara ilaveten follüküller atreziye uğradıkları zaman da AMH'nin varlığı ortadan kalkar. Dişi bireyde embriyogenesiste AMH'nin yokluğu tuba, serviks, uterus ve vajinanın üst kısımlarının gelişimine izin vermektedir (92). AMH teka hücrelerinde testosteron yapımını azaltırken, overyan aktivitesi üzerine de düzenleyici etkisi vardır. AMH'nin müllerian kanaldan elde edilen dokunun büyümesini inhibe etme yeteneğinin olmasından dolayı endometriosis, adenomyosis, uterus kanseri dahil çeşitli hastalıklarda hormonun tedavisel yaklaşımında faydalı olabileceği ifade edilmektedir (93).

Follikülogenesiste AMH'nin Rolü: Primordial follüküllerin sınırlı populasyon miktarı fetal yaşam boyunca oluşturulur. Germ hücreleri oositlerin maksimum sayısına kadar 10–15 kez bölünmektedir. Menarş dönemine 300.000–500.000 kadar oositle girilir. Primordial follüküllerin kaybından sonra sınırlı kalan follükül stoğu, primordial follüküllerin büyüme fazına girmesi ya da atreziye uğramasıyla da ayda yaklaşık 1000 follükül kaybı sürmektedir. Bu aylık kayıp oranı 35 yaşından sonra daha da artabilir (94).

Son bulgular AMH'nin üreme çağındaki kadında hayati önemi olduğunu göstermektedir. AMH primordial follükül havuzunun azalmasında ve follüküllerin primordial safhadan büyüme safhasına geçiş hızının düzenlenmesinde önemli role sahip olduğu görülmektedir. AMH, primordial follükül havuzunun tüketilme hızını yavaşlatarak koruyucu bir rol oynamaktadır. Erken antral dönemde de FSH'ya bağlı follükül büyümesini inhibe ederek, follüküllerin büyüme hızını düzenlemektedir. Hiperstimülasyon durumunda serum AMH düzeylerinde belirgin azalma meydana gelmekte, küçük antral follükül sayılarında azalma, büyük dominant follükül sayılarında artış olmaktadır. AMH düzeyleri <12 mm follüküller ile korele iken, ≥12 mm follüküller ile korelasyon göstermemektedir (94,95).

AMH eksikliğinin sonucu olarak daha fazla primordial follükül FSH tarafından stimüle edilir. Böylece daha fazla follükül gelişme evresine girmektedir. Overlerinde AMH bulunmayan kız çocuklarının (genelde 13-14 yaşında) primordial follüküllerinin tümü kaybedilir. Sonuç olarak overlerde büyüyecek hemen hemen hiç

follikül kalmaz (96). AMH, over rezervinin değerlendirilmesinde, granüloza hücreli tümörlerin saptanması ve takibinde, puberte prekoks ve gecikmiş pubertenin tanınmasında, kriptoorşit ve anorşit tanısında, her yaşta erkek gonad fonksiyonunun değerlendirilmesinde klinik çalışmalarda kullanılmaktadır (97-100). AMH'nın over rezervi ve IVF'in klinik sonuçlarına etkisi üzerine pek çok çalışma yapılmıştır. Van Rooij ve ark. yaptıkları çalışmada over rezervi azalmış, IVF'de kötü cevaplı hastalarda serum AMH konsantrasyonlarında azalma göstermişlerdir (93).

GnRHa Stimülasyon Testi (GAST) olarak adlandırılır. Test leuprolid asetat 1 mg (sc) verildikten sonra siklusun 2. gününden 3. gününe kadar E₂ değişikliklerinin tespitini içerir (79). Gebelik oranlarının test süresince artan E₂ değerleri ile ilişkili olduğu vurgulanmıştır. Pahalı olması testin kullanımını kısıtlamaktadır ayrıca değerinin ispatlanması için de ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kısaca over rezervini taramak için endikasyonlar şöyle özetlenebilir (1):

- 1- 35 yaşı üzerindeki kadınlar
- 2- Açıklanamayan infertilitesi olan herhangi yaş grubundakiler
- 3- Tek overi veya over operasyonu geçirmiş herhangi yaş grubundakiler
- 4- Gonadotropin stimülasyonuna kötü cevap veren herhangi yaş grubundakiler
- 5- Sigara kullanımı
- 6- Ailesinde erken menopoz öyküsü olması

Over rezervi taramasında prognozu kötü tespit edilen gruptaki hastalara tedavi ile düşük gebelik şanslarının olduğu açıklanmalıdır. Buna rağmen hasta tedavinin devamında ısrarlı ise hastanın, başarılı olma şansının az olduğu bilgisi içinde, tedaviyi kabullenmesi halinde tedavi yapılabilir (1).

2.5.2.Oosit Gelişim Potansiyeline Etkili Follikül Sıvısı Belirteçleri

Kontrollü ovaryan stimülasyonu için gonadotropin tedavisi esnasında folliküler sıvı içeriği dinamik değişimler gösterir. Ovaryen folliküller gonadotropin uygulamasına göre değişik hormon, büyüme faktörü ve sitokin salgılar. Bu maddeler direkt ya da indirekt olarak oosit viabilitesi ve gelişim potansiyelini etkiler (101).

Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

Oosit kalitesi embriyo kalitesini gösteren faktörlerden bir tanesidir. Folliküler mikroçevre insan oositleri için önemli gelişim faktörlerindedir. VEGF, folliküler

granüloza ve teka hücrelerinden salgılanır. Overin anjiogenetik işlem regülasyonu ve over follikülünün gelişiminde kritik rol oynar (101). Follikülogenez sırasında gonadotropinler tarafından indüklenen VEGF sekresyonu tekal hücre tabakasında vasküler ağ formasyonunu belirler. VEGF aynı zamanda vasküler permeabilityi artırır. Bu da kolesterol dağılımını arttırarak steroid sentezini artırır. Oosit kalite ve matüritesi intrafolliküler oksijen (O₂) içeriği ile artmaktadır. İntrafolliküler O₂ miktarı folliküler vaskülarite ile orantılıdır. Ancak VEGF seviyesi çözünmüş O₂ içeriği %3'ün üstünde olan folliküllerde belirgin yüksektir. Oosit, granüloza hücrelerinin folliküler bazal membranına geçiş yapan tekal mikroçevreden, follikül sıvısından, zona pellusidadan difüze olan O₂ partiküllerine ihtiyaç duyar. Bahsedilen follikülün vasküler ağı kritiktir. Yapılan çalışmalarda, perifolliküler vaskülarite ve embriyo implantasyon yeteneği arasında güçlü ilişki saptanmıştır (102). Yüksek vaskülaritesi olan foliküllerden gelişen oositler daha yüksek fekundabilite sergilerler. Ayrıca VEGF folliküler çevrenin negatif belirteçidir. Düşük fertilizasyon ve gebelik hızlarına neden olur (103).

Overden yüksek düzeyde VEGF yapımı FSH, LH ve hCG ye cevap olarak oluşur. Lokal sentezi ise avasküler preovulatar follikülden vasküler corpus luteuma dönüşüm esnasında LH/hCG artışı ile oluşmaktadır (103,104).

2.5.3. Endometrial Reseptivite

Doğal sikluslarda gelişen embriyo ve olgunlaşan endometrium arasında kendiliğinden oluşan bir uyum vardır. IVF sikluslarında azalmış implantasyon oranlarından ovo-endometriyal uyumsuzluk sorumludur. Östrojen ve progesteronun fizyolojik birçok rolünün taslağının çıkarılmasına rağmen bu moleküller ağ ve ortalama faaliyetleri büyük oranda bilinmez. Bu moleküller, sitokinler, büyüme faktörleri, matriks metalloproteinazlar, adezyon molekülleri, ekstrasellüler matriks komponentleri ve homeoboks element içeren genlerdir. Hücre adezyon molekülleri, integrinler, kaderinler, selektinler, immünglobulin (Ig)' lerdir (8, 105).

İntegrinler

Kalıcı ve geçici gen ekspresyonlarının ve fonksiyonel regülasyonların ana konsepti hücre yüzey integrinlerinin up regülasyonudur. İntegrinler farklı heterodimerik yapıya sahip proteinlerdir. Menstrüel siklus boyunca değişmeden

eksprese olan formları olduğu gibi, siklik olarak da luteal dönemde belirgin hale gelen formlarında bulunmaktadır. Blastokistin endometriuma bağlanması için gereklidir. Genellikle regülatuar sinyalleri düzenler ve iletirler. Böylece anne-bebek iletişimini sağlarlar. İmplantasyonda son derece önemlidirler. Bazı açıklanamayan infertilite olgularında endometrial stromal integrinlerin ekspresyonlarındaki farklılıklar infertilite nedeni olarak ileri sürülmektedir. İntegrinler koryon villüslerin desiduaı delmesini ve maternal interstisyum ve intravasküler alana yapışmasını ve bağlanmasını sağlarlar (8, 105).

Kaderinler

Kalsiyum bağımlı hücre-hücre adezyon mekanizmasından sorumlu glikoproteinlerin bir grubudur. Menstrüal siklusun özellikle orta sekretuar fazında insan endometrial epitelinde progesteronla kalsitonin salınımı uyarılır. Kalsitonin implantasyonda potansiyel düzenleyicidir. Artmış hücre içi kalsiyum salınımını izleyen endometrial kalsitonin artışı E- kaderin ekspresyonunu düzenleyebilir ve blastokist yerleşiminde etkili olabilir (105).

Selektinler

Lökosit transendotelyal trafiğinde çok önemlidir. L-selektin, damarlanmada lökositlerin yapışmasında gereklidir (105).

Sitokinler

Çok sayıda fizyolojik role sahip küçük multifonksiyonel glikoproteinlerdir. Bu moleküllerin davranışları, vücuttaki implantasyon ve immün fonksiyonla ilgili çoğu süreçle bağlantılıdır. Sitokinler ve kemokinler implantasyon bölgesinde trofoblast farklılaşmasında ve trafiğinde rol oynar. İmplantasyon ve plasentasyonda önemli bir potansiyele sahiptir (106). İntelökinlerden (IL), IL- 1, IL- 6, IL-10, IL- 11, IL-15 ve IL-18, lösemi inhibitör faktör (LIF), koloni stimüle edici faktör (CSF), tümör nekroz faktör (TNF) ve transforming growth faktör (TGF) bu geniş ailenin kritik öneme sahip üyeleridir (107). IL-1 β üzerinde daha çok durulmaktadır ve araştırma yapılmaya devam edilmektedir.

2.5.4. Overde IL-1 Sistemi

1988 yılında bazı IL-1 biyolojik aktiviteleri ilk defa insan follüküler sıvısında ölçülmüştür. Bu biyolojik aktivite ovaryen hücreler (granüloza ve/veya teka)

tarafından üretilen bazı lokal IL-1 bölümünün sonucudur (108). Carlberg (2000) insan granüloza hücrelerinin in vitro IL-1 β sekrete ettiğinin onaylamıştır (109). Bazı çalışmalarda in vitro fertilizasyon sonrası embriyo gelişim döneminde IL-1'in intrafolliküler seviyeleri ve oosit kalitesi arasında korelasyon gösterilmiştir (110,111).

IL-1 sisteminin overdeki inflamasyon bağlantılı mekanizmadaki rolleri (108):

- 1- Proteolitik enzimlerin üretim ve aktivasyonu
- 2- Prostaglandin üretimi
- 3- Nitrik oksit (NO) üretimi
- 4- Sellüler metabolizma
- 5- Steroidogenez

IL-1 β

Başarılı bir gebelik oluşumunda çok önemli bir rol oynayabilir. Bu sistem insan endometriumunda menstrüel siklus boyunca hem glandüler hem stromal hücrelerde tespit edilmiştir. IL-1 aktivasyonundaki düzenlemenin bozulması endometriosis patogenezinde rol oynayabilir. Endometrial dokudaki IL ekspresyonunda değişimlerin olması infertil vakalarla bağlantılı bulunmuştur. Tutunma reaksiyonu boyunca blastokistin tutunduğu yerde endometrial vasküler geçirgenlik artarak lokalize olur. Temelde ovulasyon olayı inflamasyona benzer. Onun için IL-1'in preovulatar gelişim ve ovulatar sonlanımda rol aldığı düşünülmektedir. IL-1 granüloza hücre kompleksi üzerine sitotoksik etkili olup hiperemi ve follikül rüptürünü sağlar (112).

2.5.5. İmplantasyonun Moleküler Belirteçleri

Glycodelin

Major endometrial protein olup konseptusun implantasyonu için uygun immuntoleransı sağlar. Geç sekonder folliküllerin granüloza ve teka hücrelerinde glycodelinin immunoreaktivitesi saptanmaya başlar. Zona binding inhibitory factor-1(ZIF-1) ile biyokimyasal karakteristikleri benzerdir. Erken luteal fazda serum progesteron seviyesi pik yapmaya başlayınca glycodelinin endometriumdan salgılanmasında artış başlar. Glycodelinin ana sentez yeri glandüler epiteldir

endometrial stromada salınımı yoktur. KOH sikluslarında endometriumda 'Glycodelin-A' hızlıca artar. Açıklanamayan infertil grupta fertil gruba göre sekonder fazda uterin sıvıda glycodelin miktarında azalma saptanmıştır (113).

Yapısal özellikleri: İnsan plasental organ spesifik $\alpha 2$ globulin, $\alpha 2$ -gebelikle ilişkili endometrial globulin, zona-bağlanma önleyici faktör, PAEP (Progestagen ilişkili endometrial protein) ve plasental protein 14 (PP14) olarak da bilinen glycodelin glikozile β -laktoglobulin homologu olup, insan lipokalinler ailesine ait endokrin düzenleyici bir glikoproteindir. Glycodelin genel olarak reproduktif dokulardan eksprese olmakta olup amniotik sıvı, endometrium ve desidua da bulunmaktadır. Kavite içine uterin sıvıya veya gebelikte de amnion sıvısına salgılanan glycodelin, ayrıca serumda da tespit edilebilir. Glycodelin eksprese eden diğer organ ve dokular, fallop tüpleri, over, meme dokusu, seminal vezikül, kemik iliği, ter bezleri ve bazı tümörlerdir (114).

Endometriumda Glycodelin: Glycodelin sentezi, sekretuar ve desidualize endometrial glandüler ve lüminer epitelden, progesteron regülasyonu ile olmaktadır ve siklus bağımlıdır. Proliferatif fazda downregüle olan PAEP geni, sekretuar fazda, preimplantasyon ve implantasyon penceresi döneminde up-regüle olmakta ve sonra geç sekretuar dönemde tekrar down-regüle olmaktadır. Bununla birlikte glycodelin düzeylerine bakıldığında proliferatif fazda, periovulatuvar fertil dönemde ve erken luteal fazda düşük düzeylerde iken implantasyon penceresine uyan midluteal fazda LH pikinden 6 gün sonra ve geç sekretuar dönemde iyice yükseldiği görülmüştür (115). Glycodelin salgılanması kompleks olup, sentezi için over varlığı veya kontrolü gerekmektedir. Glycodelin-A ve Glycodelin-F progesteron ile regüle edilmektedir ve tubal glycodelin sentezi hem östrojen hem de progesteron stimülasyonu ile olmaktadır. Temel olarak progesteronla indüklenmesine rağmen glycodelin zamanlaması serum progesteron düzeyleriyle uyumlu değildir glycodelin ekspresyonu progesteron salgılanması başlangıcından göreceli olarak gecikmektedir (116,117).

Diğer hormonlarla etkileşimi: Serum östrojen ile endometrial Glycodelin-A ekspresyonu arasında ve serum hCG ile serum glycodelin konsantrasyonları arasında korelasyon mevcuttur (118,119). Endometriumun Glycodelin sekresyonunu stimüle

eden hCG reseptörleri vardır. Başka bir ovaryen faktör olan relaksin, Glycodelin-A transkripsiyonunu aktive eder (120). Glycodelin ve relaksin serum konsantrasyonları arasında da kuvvetli bir ilişki mevcuttur ve relaksin uygulanan kadınlarda siklusun herhangi bir zamanında glycodelin yapımında bir artış izlenmiştir. Ayrıca progesterona benzer şekilde histon deasetilaz inhibitörleri de glycodelin gen ekspresyonunu sağlayarak hücre büyümesi, arresti ve farklılaşmasını indükler (121,122).

2.6. Kontrollü Ovaryen Hiperstimulasyon

Ovaryen stimülasyon sadece amenore ve anovulasyon durumlarında değil, tubal, erkek ya da nedeni bilinmeyen infertilite olgularında da kullanılmaktadır. Uterusa birden fazla embriyo verilerek gebelik hızının arttığına anlaşılmışla iyi kalitede yumurtaların seçilebilmesine imkan verecek ve mümkün olduğunca çok follikülün elde edilebileceği KOH rejimleri önem kazanmıştır. KOH rejimlerindeki amaç çoğul öncü foliküllerin eşik noktasını azaltarak dominant follikül seçim sürecini ortadan kaldırmaktır (1,2,5).

Östrojen Antagonistleri

Östrojen antagonistleri veya antiöstrojenler dietilstilbesterol ile yapısal yakınlık gösteren nonsteroidal bileşiklerdir. Bunların arasında ovulasyon indüksiyonu amacı ile en sık kullanılan ajan klomifen sitrattır. Diğer ajanlar tamoksifen ve siklofenildir (1,5).

Klomifen Sitrata (KS)

KS bir trifeniletillen derivativesidir. Enklomifen ve zuklomifen olmak üzere iki izomerin karışımından oluşmaktadır. Enklomifen daha fazla oranda antiöstrojenik aktiviteye sahiptir. KS östrojen reseptörüne bağlanarak bu reseptörü birkaç haftaya varan sürelerde işgal etmektedir. KS tek doz oral alımından bir ay sonra bile plazmada önemli konsantrasyonlarda saptanmıştır (1,5).

Etki mekanizması: KS ovaryen stimülasyon için genelde ilk kullanılan ajandır. İlacın etki mekanizması gözönünde bulundurulursa ilacı kullanacak hastalarda hipotalamik-pitüiter-ovaryen yolun fonksiyonel olması gerekmektedir. Klomifen sitrat zayıf bir sentetik östrojen olmasına karşın ovulasyon indüksiyonu için kullanılan dozlarda antiöstrojenik etki gösterir. Hipotalamusta klomifen sitrat

östrojen reseptörlerine uzun süre bağlanarak ve bloke ederek normal ovaryen hipotalamik feedback yolun fonksiyonunu azaltır. Bu etki mekanizmasının bazı anovulatuvar hastalarda GnRH salınımını arttırdığı gözlenmiştir. Artan GnRH hipofizden gonadotropin salınımını uyarır. Ayrıca klomifen sitrat direk olarak hipofiz ve over üzerinde etki göstererek ovulasyonu uyarabilir (123,124).

Klomifen sitratin endometrium ve serviks üzerindeki antiöstrojenik etkileri tartışmalı olup dışarıdan östrojen eklenmesi gündeme gelmiştir (125,126). Vajende kornifikasyon yavaşlar ve servikal mukus ve endometriumdaki östrojen etkisini antagonize eder. KS'nin major etkisi hipotalamusta hücre içi östrojen reseptörlerinin konsantrasyonunu etkileyerek hipotalamik aktiviteyi düzenlenmesi ile görülür (127).

KS kullanımı için uygun hasta seçimi: Kullanımı kolay ve yan etkileri az olduğu için ilk seçilen ilaçtır. Başlıca endikasyonu hipotalamo-hipofizer aksı normal çalışan varolan endojen östrojen üretimine bağlı olarak progesteronlara normal çekilme kanaması ile cevap verebilen oligoanovulatuvar hastalardır (128,129).

Uygulanışı: Klomifen sitrat ovulasyon indüksiyonu şekilde uygulanır. İlaç 50 mg'lık tabletler halinde bulunmaktadır, genellikle 50 mg/gün dozu ile başlanır. Tedaviye tipik olarak spontan veya progesteronla uyarılan siklusun 3-5. günü başlanır, 5 gün kullanılır (5). Ovulasyon olup olmadığı luteal fazda (adetin 21-23. günü) alınan progesteron düzeyi (5ng/dl den büyük) veya endometrial biyopsi ile saptanabilir. Eğer ovulasyon olmadı ise bir sonraki siklusta doz 50 mg daha arttırılır. FDA (Food and Drug Administration) bu konuda max.100 mg/gün dozu önermekle birlikte, %11.8 hastada 150 mg/gün ve üzerinde doz ile ovulasyon sağlanabilmektedir (130).

Pulsatil Gonadotropin Serbestleştirici Hormon (pGnRH)

Fizyolojik prensiplere uygun olarak pulsatil şekilde verilen eksojen GnRH genellikle WHO Grup 1 hastalarda monofoliküler ovaryen yanıt oluşturur ve bu grup hastalarda ilk tercih edilmesi gereken tedavi yöntemidir. Ancak pahalı infüzyon pompalarına gereksinim göstermesi ve doktorların bu konuda pratiklerinin çok olmaması nedeni ile yaygın kullanılmamaktadır (131).

Eksojen Gonadotropinler

Son yıllarda eksojen gonadotropin tedavisinin şeklinde, uygulanma biçiminde ve endikasyonlarında artma olmuştur. Bugün için klinik kullanıma girmiş gonadotropinler şunlardır:

1. İnsan menopozal gonadotropini (hMG)
2. Saf follikül stimüle edici hormon (pFSH)
3. Rekombinant FSH (recFSH)
4. İnsan koryonik gonadotropin (hCG)

İnsan Menopozal Gonadotropin (hMG)

Menopozdaki kadın idrarından elde edilen 75IU FSH ve 75 IU LH içeren gonadotropinlerdir. hMG'ler oral yoldan inaktif olup intramüsküler kullanılırlar. 75IU FSH ve 75IU LH içeren ampüllerde bulunurlar. WHO'nun yaptığı sınıflandırmaya göre gonadotropinler ile ovulasyon indüksiyonu endikasyonu olan iki hasta vardır. WHO Grup 1 ve WHO Grup 2. Diğer endikasyonlar arasında açıklanamayan infertilite, luteal faz yetersizliği, erkek infertilitesinde intrauterin inseminasyona adjuvan olarak, minimal ve hafif endometrioste ampirik olarak, yardımla üreme tekniklerinde kontrollü ovaryen hiperstimulasyon amacı ile bulunmaktadır (1,2,5,132).

Etki mekanizması: KS'a göre etki mekanizması daha iyi bilinmektedir. Tedavinin başarılı olabilmesi için fonksiyone overlere ihtiyaç vardır çünkü verilen hMG endojen gonadotropinlerin yerini alarak ovulasyon indüksiyonu yapmaktadır. Spontan siklularda olduğu gibi FSH primer olarak granüloza hücreleri, LH teka lütein hücreleri üzerinde etki göstererek follikülogenezi uyarırlar. Tedaviye oosit matürasyonunun sağlanması, ovulasyonun uyarılması, korpus luteum oluşumu ve fonksiyonların devam etmesi için hCG eklenir. Hipogonadotropik hipogonadizmde tedavi oldukça etkin olup altı siklus sonrasında %91.2 oranında gebelik elde edilmektedir (132).

Follikül Stimüle Edici Hormon (FSH)

FSH ve LH karışımı olan düşük spesifisiteye sahip ve alerjik reaksiyonlara neden olan diğer üriner proteinleri içeren insan menopozal gonadotropini (hMG) yıllardır kullanılmaktadır. Rekombinant teknolojinin gelişimi ile LH ve FSH'nın tek

başına olan paylarını ayırabilmek mümkün olmuştur (2,5). Gonadotropin seçimi kullanılan GnRH analog rejimine ve overin tahminsel cevabına göre yapılmalıdır. Örneğin, hipogonadotropik hipogonadizmde hMG preparatları yeterli östrojen üretimi ve endometrial matürasyonu sağlaması nedeniyle tercih edilmektedir (133).

İlk olarak 1958'de pituitar bez FSH ekstraktları, 1962'de üriner ekstraktlar tariflendi. Saflaştırılmış insan idrar FSH'sı (u-hFSH) %95'ten fazla oranda saf FSH ve 9000 IU FSH/mg içerir. Sonraları rekombinant DNA teknolojisiyle saf insan FSH'sı follitropin alfa ve follitropin β üretildi. r-hFSH'sı %99 dan fazla oranda saf FSH ve 10000 IU FSH/mg spesifik aktiviteye sahiptir (133). Çeşitli çalışmalarda ve metaanalizlerde toplam oosit sayısı, FSH tüketimi ve süresi, gebelik oranları açısından r-FSH'nın üriner ürünlere göre daha etkin olduğu belirtilmektedir (134, 135).

Gonadotropin başlangıç dozunun belirlenmesinde dikkate alınması gereken ve over cevabını belirleyici faktörler şunlardır:

-Kadın yaşı: Yaş tek başına spontan fertilitenin ve fertilitate tedavilerinin tüm çeşitlerinin sonuçlarının tahmin edilmesinde en önemli faktördür. Yaş arttıkça kullanılması gereken gonadotropin miktarı da artar.

-Over rezervi: Düşük rezervli hastalarda yüksek dozlarla başlanır.

-Beden kitle indeksi (Body Mass Index=BMI): Overin gonadotropinlere ovulasyon cevabı BMI ile ters orantılıdır.

-Sigara içiciliği: Fertilitedeki bozulma ve geç konsepsiyon, oosit sayısında azalma, implantasyon başarısızlığı ve erken düşüklere ilgilidir. YÜT sikluslarında sigara içicileri, içmeyenlere göre daha yüksek oranda gonadotropin dozu gerektirmektedir (136).

-Önceki ovulasyon indüksiyonu ya da KOH cevabı

Her ne kadar hem FSH hem de LH normal folliküler östrojen sentezi için gerekse de süperovulatuvar sikluslarda FSH tek başına GnRH kullanılsa bile östrojen üretimini sağlayabilmektedir (1,5,137). Öte yandan IVF siklusundaki hipogonadizimli hastalarda LH'tan yoksun ortamda gelişmiş oositlerde fertilizasyonun aynı hastaların FSH+LH kombine tedavisi ile elde edilen fertilizasyondan düşük olduğu görülmüştür (137).

Bazı araştırmacılar geç folliküler fazda LH'ın folliküler büyümeyi kontrol ettiğini ve LH konsantrasyonları >0,5-1 mIU/l olması ile folliküler sıvı E₂ seviyesi, oosit miktarı ve fertilizasyonun daha iyi olduğunu ileri sürmektedir (137). Folliküler gelişim ve steroidogenez için gerekli LH miktarı minimaldir. Çünkü steroidogenezin devamı için LH reseptörlerinin %1 inden azının tutulumu yeterlidir. Hipogonadotropik hipogonadizimli hastalarda minimal etkin doz olan 75 IU ile yeterli folliküler matürasyon ve endometrial kalınlık sağlanabilmiştir (138).

Kullanılan Gonadotropinler

1.Üriner FSH (rofollitropin)

-Saflaştırılmış rofollitropin(pFSH)

Ampl başına 75 IU FSH, 1 IU den az LH içerirler

-İleri derecede saflaştırılmış rofollitropin(hpFSH)

Ampl başına 75 IU FSH, 0.1 IU den az LH içerirler

2.Rekombinant FSH

-Follitropin alfa

Ampl başına 75 IU FSH içerirler.LH içermezler.

-Follitropin ̢

Ampl başına 75 IU FSH içerirler.LH içermezler.

3.Rekombinant LH

-Lutropin alfa

Flakon başına 75 IU LH içerirler. FSH içermezler.

4.Ekstrakte riner HMG

-Menotropin

Ampl başına 75 IU FSH, 75IU LH içerirler.

Gonadotropinlerle ovulasyon indüksiyonu için endikasyonlar şunlardır:

-WHO grup I hastalar

-PKOS' lu ve klomifen indüksiyonu başarısız olan hastalar

-Açıklanamayan infertilitede ampirik tedavi

-Erken evre endometriosisli hastalar

-IVF sikluslarında multifollikler gelişim sağlanması isteği

Ovulasyon indüksiyonunda r-FSH ile beraber rekombinan insan LH (r-hLH) mın da kullanımı araştırma konusu olmuştur. Klinik pratikte ise az sayıda kadının r-LH' a gereksinim duymaktadır. WHO grup I anovulasyonlu hastalarda bazal serum seviyesi 1,2 mIU/ml'den az olduğundan r-LH eklenmesi ile tedavinin etkinliği artabilir gibi görülmektedir (139).

a) Gonadotropinler + Metformin: FSH ve metforminin beraber kullanılması ile daha kontrollü folliküler gelişim elde edilebilmiştir. Buna göre tek başına FSH'ya göre daha az sayıda dominant follikül elde edildiği (2,4'e karşı 4,5), tepe östrojen konsantrasyonunun daha az olduğu (1,6' ya karşı 2,6) ve siklus iptal oranının daha az olduğu (%0' a karşı %32) görülmüştür (140).

b) Gonadotropinler + GnRH Analogları: r-FSH ve GnRHa birlikte kullanılması ile siklus başına gebelik oranlarının daha iyi (%0 a karşı %33) ve spontan abortus oranının daha az olduğu sonuçlarına varılmıştır (140).

c)Gonadotropiler + Aromataz İnhibitörleri: Letrazolün kullanılan gonadotropin dozunu azalttığı gösterilmiştir (7).

Gonadotropin Salgılatıcı Hormon Agonistleri (GnRHa)

Östrojen, androjen ve gonadotropinleri yüksek olanların ovulasyon indüksiyonuna iyi cevap vermedikleri anlaşıldığında endojen üreme hormon üretimlerinin kontrol altına alınmasının uygun olacağı düşünülmüştür. Bu amaçla GnRHa kullanılmaktadır. GnRHa, gonadotropinler ile ovulasyon indüksiyonu protokollerinde kullanılırlar.

Agonistler, hipofizer GnRH reseptörüne bağlandıktan kısa bir süre FSH ve LH salınımını artırırlar. Sonra hipofizi baskılayarak gonadotropinler ve buna bağlı olarak overlerden steroid hormon sekresyonunun azalmasına neden olurlar (1,7).

Gonadotropinler ile ovulasyon indüksiyonu protokollerinde GnRHa uygulamasının iki yöntemi vardır. Birincisi kısa protokol, ikincisi uzun protokol olarak adlandırılır (1,7).

Kısa Dönem GnRHa Protokolü

Bu protokolde GnRHa erken foliküler fazda verilmeye başlanır. GnRHa'nın flare up etkisinden folliküler gelişim için yararlanılır daha sonra da günlük kullanımla pituiter desensitizasyon etkisinden yararlanılır. Bu protokolde kısa dönem

GnRHa'nın endojen LH yükselmesini engellediği varsayılarak 3 günlük (ultra-kısa protokol) ve 7 günlük kullanımı ile oosit toplama zamanını belirlemek gibi ayarlamalar da yapılmıştır (1,7,141).

Uzun Dönem GnRHa Protokolü

Önceki siklusun luteal fazında ve erken foliküler fazda GnRHa verilmesi ile hempituitar hem de over desensitizasyonu elde edilir. GnRHa enjeksiyonuna hCG verilene dek devam edilir. Randomize çalışmaların metaanalizinde GnRHa'nın IVF iptal oranını düşürdüğü, oosit sayısını ve klinik gebelik oranlarını arttırdığı bulunmuştur. Kısa ve uzun dönem protokolleri karşılaştırıldığında değişken sonuçlar elde edilmekle beraber yapılan çalışmalarda anlamlı fark olmadığı bildirilmektedir (141,142).

GnRHa'nın kronik uygulama gerekliliği olması, flare-up (over kistleri) veya desensitizasyondan (over tükenmişlik sendromu) dolayı olan yan etkileri dezavantajlarıdır (143).

Kullanılan GnRH Agonistleri:

Leuprolid asetat sc

Triptorelin asetat sc

Nafarelin asetat intranasal

Buserelin asetat sc/ intranasal

Goserelin asetat sc

Gonadotropin Salgılatıcı Hormon Antagonistleri:

GnRH'nın sentetik analogları olan bu ilaçlar pituitar GnRH reseptörlerine yüksek afinite ile bağlanırlar ancak GnRH reseptör çapraz bağlanmasını ve dolayısı ile kalsiyum aracılı gonadotropin salınımını yapamazlar. Böylece LH salgılanması üzerinde ilk flare up etkisi olmadan güçlü, kısa sürede ve geri dönüşümlü süpresyon yaparlar desensitizasyon periodu gerektirmezler (144,145).

Agonistlerle karşılaştırıldığında antagonistlerin etkisi oldukça doza bağlı olup etki mekanizması endojen GnRH ile antagonist arasındaki dengeye bağlıdır (137). Şimdiye dek 3 jenerasyon antagonist kullanılmıştır. İlk ikisi histamin salınımı da yaptıklarından geçici sistemik ödem ve enjeksiyon bölgesinde inflamasyon (1. jenerasyon) ya da sadece lokal reaksiyona (2. jenerasyon) neden olmaktadır.

Üçüncü jenerasyonun histamin salınım etkisi az olup antioovulatar etkisi 2. jenerasyona eşdeğerdir. Üçüncü jenerasyon antagonistlerden üzerinde en çok çalışılanları cetorelix ve ganirelix'tir.

GnRH antagonistleri ile ilgili iki tedavi rejimi mevcuttur:

Multiple Doz GnRH Antagonisti Kullanımı

Orta folliküler fazdan (siklusun 5 ya da 6. günü) başlayarak hCG gününe kadar düşük dozda günlük GnRH antagonisti enjeksiyonları yapılır (145). Antagonist verilmesinden sonra ganirelix için 4, cetorelix için 6 saat içinde pituiter süpresyon tamamen etkin olup, LH seviyesi %74 oranında düşerek <1-2 mIU/l seviyesine iner (137). Ganirelix ve cetorelixle yapılan çalışmalarda bu etki için 0,25 mg'ın yeterli olduğu bulunmuştur (143). GnRH antagonistini önde giden follikül boyutuna göre başlamanın sabit günde başlamak kadar etkili olduğu ve bu yöntemle daha az antagonist kullanıldığını belirten çalışmalar mevcuttur (146).

Tek Doz GnRH Antagonisti Kullanımı

Normoovulatar kadınlarda tek ve büyük doz antagonistin geç folliküler dönemde kullanımının spontan LH artışını ertelediği bulunmuştur (224). Cetorelix ile 3-5 mg sc doz ile LH artışı 6-17 gün, LH yükselmesinin başında uygulanırsa 3 gün LH artışı engellenebilir (196).

GnRH antagonistleri ile GnRHa uzun protokolle karşılaştırmalı çalışmalarda sonuçlar tartışmalıdır. En azından çok merkezli çalışmalarda over follikül sayısı, toplanan oosit sayısı ve gebelik oranları agonist protokolüne göre daha az bulunmuştur (226).

Kullanılan antagonistler :

-Cetorelix

-Ganirelix

2.7. YÜT Siklusunda Tedavi Protokolü

Tedaviye spontan veya ilaçla başlatılan siklusun 2, 3 veya 4. günü endojen östrojen aktivitesi olan hastalarda tedaviye hastaya göre uygun olan dozda gonadotropinler ile başlanır. Siklusun 6. veya 7. gününe kadar aynı hızda devam edilir ve serum östradiol düzeyine bakılarak ovaryen yanıt değerlendirilir. Eğer yanıt yoksa 3-4 gün boyunca günlük gonadotropin dozu artırılarak östradiol düzeyleri

artıncaya veya maksimal ilaç dozuna ulaşıncaya kadar devam edilir. Overler tedaviye istenen yanıtı verdikten sonra ilaca aynı dozda devam edilir.

Vajinal ultrasonografi ile 2-3 günde bir follikül çapı, sayısı ve kalitesine bakılır ve serum östradiol düzeyleri ölçülür. Maksimal follikül çapı 16-18 mm olduğu zaman ve serum östradiol düzeyi matür follikül başına 150-250 pg/ml olduğu zaman over yanıtı olumlu kabul edilir. Follikülogenez ve oosit matürasyonuna bağlı olan serum östradiol düzeyleri follikül sayısına bakılan laboratuara göre değişmekle birlikte, genel olarak 600 pg/ml'den yüksek olmalı ve 1500-2000 pg/ml yi geçmemelidir. Yeterli follikül çapı ve östradiol düzeyleri elde edilince 5000-10000 IU hCG intramüsküler olarak verilir. Ovulasyonun 36 saat sonra olması beklendiğinden cinsel ilişki veya inseminasyon zamanı ona göre belirlenir. Follikülogenezisin tamamlanması için geçen süre yaklaşık 10-15 gündür. Eğer gebelik elde edilmemişse bir sonraki siklusta hastanın yanıtını artırmak için gonadotropin dozu artırılabilir. Gebelik oranlarının artırılması ve tedavi maliyetinin azaltılması için değişik rejimler önerilmiştir (148).

2.7.1. Ovulasyonun Tetiklenmesi

hCG: GnRHa kullanılan IVF protokollerinde LH artışı sağlamak için üriner hCG (u-hCG) kullanılmaktadır. Bu ürün idrardan elde edilen diğerlerinin dezavantajlarını taşıdığından saf yapıda rekombinant teknolojiyle hCG (r-hCG) üretilmiştir. Bu ürünün 250 mikrogramı 5000 IU u-hCG'ye eşdeğerdir. Çalışmalarda toplanan oosit sayısı ve matür oosit sayısı konusunda çelişkili sonuçlar olmakla beraber ortak nokta hCG sonrası serum progesteron konsantrasyonunun r-hCG ile daha yüksek olduğu yönündedir (149,150,151).

Rekombinant LH (r-hLH) : r-hLH ın yarılanma ömrü 2 saat iken u-hCG'nin 24 saat olup aralarında 10 kat fark ve yaklaşık 7 günlük aktivite farkı vardır. Daha uzun ömrü ve yüksek afinitesi nedeni ile u-hCG ile GnRHa' ya veya LH' ya göre OHSS riski daha fazladır (149).

GnRHa ile indüklenen endojen LH artışı indirekt mekanizmaya ve hastanın kendi pituiter cevabına bağlıdır. Böylece hCG'nin abartılı luteotrofik etkisinden farklı olarak daha fizyolojik seviyede östradiol ve progesteron konsantrasyonu sağlandığı görülmüştür. Sonuç olarak pratikte ovulasyon indüksiyonunda GnRHa

kullanımı yüksek ovaryen hiperstimülasyon sendromu (OHSS) riski olan kadınlarda, multipl gebelik riskinde ve daha önce pitüiter desensitizasyon uygulanmamış sikluslarda avantajlıdır (152).

2.7.2 Luteal Faz Desteği

Doğal sikluslarda ovulasyondan yaklaşık 4 gün sonra tepe noktasına ulaşan steroid hormonlar hafta bu seviyede kalır ve menstrüel periyottan 5 gün önce düşmeye başlar. Uyarılmış sikluslarda luteal faz hormon üretimi multipl korpus luteum varlığından dolayı suprafizyolojiktir ancak daha kısa sürelidir.

Progesteron olduğu kadar östrojen de direkt olarak luteinizasyonu sağlamasa da progesteron reseptörü yenilenmesinde gerekli olduğu için önemlidir. Bu nedenle korpus luteumdan hem östrojen hemde progesteron salınımı üzerindeki uyarıcı etkisinden dolayı hCG kullanımı ileri sürülmüştür. Teorik olarak korpus luteum devamlılığını sağladığı için GnRHa sikluslarında hCG'nin progesterondan daha etkili olması beklenir. Ancak yapılan klinik çalışmalara göre GnRHa kısa ya da uzun protokollerinde, tek başına veya östrojenle kombine intramüsküler progesteron ya da vajinal yolla verilen progesterona göre hCG'nin üstünlüğü olmadığı sonucuna varılmıştır.

Intramüsküler progesteron vajinal yolla karşılaştırıldığında klinik gebelik oranı ve doğum oranı açısından daha etkili olduğu ve tüm tedavi formlarına göre oral progesteronun en etkili olduğu görülmüştür. İ.m. ya da vajinal progesterona 2-6 mg (miligram) oral östrojen eklenmesiyle implantasyon oranının arttığı tespit edilmiştir (149,153).

2.7.3. Tedavide Monitörizasyon

Monitörizasyondaki amaç folliküler matürasyonu kontrol etmek, hCG verilme zamanını tespit etmek ve siklusun geleceğini tahmin edebilmektir. Yüksek over cevaplılarda siklusu iptal ederek OHSS'yi engellemek, düşük cevaplıları tespit ederek tedavide ayarlamalar yapmak için monitörizasyon gereklidir. KOH takibinde serum E₂, LH ölçümü ve USG kullanılır.

Serum östradiol seviyesi her zaman follikül büyümesi ile korele değildir (149). Ayrıca YÜT sikluslarındaki değişken protokollerden dolayı optimal östrojen paterni tanımlanmamıştır. Yine de hangi protokol kullanılırsa kullanılsın E₂

seviyesinde üç günden fazla sürede devam eden plato siklustaki zayıf sonuçla ilintilidir. Tedavinin 4. günündeki E₂ seviyesi overin eksojen gonadotropinlere sonraki cevabını tahmin ettirebilir (154). Hem E₂ paterni, hem de GnRHa'nın ilk dozundan sonraki maksimal E₂ cevabı KOH'da sonraki over cevabı ile koreledir. Uzun dönem GnRHa protokolünde pituitar desensitizasyonun değerlendirilmesinde de E₂ seviyesi kullanılmaktadır (USG'de 10 mm'den büyük follikül olmaması ile birlikte E₂'nin 50 pg/ml altında olması). GnRH antagonistlerinin kullanımı E₂ cevap paternini değiştirebilir (149).

Follikül boyutları 13-14 mm çapa ulaştığında veya E₂ düzeyi 250 pg/ml seviyesine yükseldiğinde LH pikinin takip edilmesi gerekir. Bu ölçüm oosit toplanma saatinin ve prematür luteinizasyonun saptanması için bilgi sağlamaktadır. Folliküler büyümeyi USG ölçümü ile değerlendirerek folliküler matürasyon ve hCG zamanlaması hakkında bilgi edinilebilir. USG'de en az 3 adet 16 mm follikül gözleendiğinde hCG enjeksiyonu önerilir. USG ile endometrial kalınlık ölçümü E₂ sekresyonu hakkında indirekt bilgi sağlayabilir. Bir çalışmada hCG günü endometrial kalınlığın <6 mm olduğu olgularda gebelik oluşmadığı görülmüştür (155,156).

Tedavide amaç en az bir 18 mm lik ve 3-4 adet 14 mm'nin üstünde follikül elde etmek ve 14 mm'den büyük her follikül başına 200 pg/ml E₂ düzeyini sağlamaktır. Bu aşamaya gelindiğinde oosit matürasyonu için 5000-10000 IU hCG ya da 250 mcg (mikrogram) rekombinant hCG uygulanır. hCG uygulamasından 34-36 saat sonra OPU yapılır (150).

Tipik bir YÜT siklusu kısaca şu aşamalardan oluşur:

- GnRH agonistleri/antagonistleri ile down regülasyon
- Eksojen gonadotropinlerle KOH uygulanması ve bunun TVUSG ve E₂ düzeyleriyle takibi
- hCG ile oosit matürasyonu
- Oositlerin toplanması
- IVF veya ICSI ile fertilizasyonun sağlanması
- İn vitro embriyo kültürü
- Luteal destek ve endometriumun hazırlanması için progesteron kullanılması
- Embriyo transferi ve fazla embriyoların dondurulması

2.8. İn Vitro Fertilizasyonda Ultrasonografi

Görüntüleme, yardımcı üreme teknolojilerinde klinik yönetimin ayrılmaz bir parçası haline gelmiştir. Her işlemin esas parçası hale gelen ultrasonografik görüntülerden elde ettiğimiz bilginin kalite ve miktarı, son on yılda gördüğümüz YÜT başarı oranlarındaki inanılmaz artışlarda çok önemli bir yere sahiptir. IVF yapılan hastalarda görüntüleme ile kazandığımız anatomi, fizyoloji, endokrinoloji ve patolojinin anlaşılmasındaki artışın embriyo laboratuvarlarındaki bilginin inanılmaz artışı kadar önemli olduğu hatırlanmalıdır. YÜT’lerde bugün kullandığımız teknolojilerin yoğunluğu hastalarımızda başarılı gebelik olasılığını önemli ölçüde arttırmıştır. IVF’de ultrasonografinin esasları ovaryen stimülasyon protokollerinin monitorizasyonu, oositlerin toplanmasında görsel rehberlik endometriyumun değerlendirilmesi ve embriyo transferinin görsel rehberliğidir (157).

2.8.1. Ovaryen Değerlendirme

Over Follikül Rezervinin Değerlendirilmesi

IVF’de dikkatlerin odaklandığı nokta ovaryen rezerv değerlendirilmesidir. Ovaryen rezerv veya uyarılabilecek follikül sayısındaki azalma, azalan fertilitenin primer nedenidir. Endokrin testler yaşlı, infertil kadının yönetiminde değerli prognostik bilgi sunar. Fakat USG’nin menstrüel siklusun spesifik dönemlerinde antral follikül sayısını tahmin etmek için kullanılabileceğini ve ek, kullanışlı, güvenilir klinik bilgi sağlayacağını gösteren yeni birçok kanıt vardır. USG değerlendirmesi, antral follikül sayısı ve over volümünün ölçümü ile yapılır. Postmenstrüel 3 ile 7. günde yapılan erken folliküler faz antral follikül sayımı, eksojen gonadotropinlerle stimülasyon sırasında gelişebilecek follikül sayısını tahmin etmede kullanılabilir (159-162). Ovaryen stimülasyonun başlamasından önce çapı 10 mm’nin altında 5’den az follikül sayısına sahip kadınlar başarı için relatif kötü prognoza sahiptir (161).

İki yada üç boyutlu USG ile ölçülen ovaryen volüm değerlendirmeleri overde kalan primordial follikül popülasyonu ile over volümü arasındaki anlamlı korelasyon olduğu önermesine dayanır (159,163-165). Azalan over volümü, antral follikül sayısı ve artmış FSH ile kombine olan yaş ilerlemesi arasında net bir ilişki gösterilmiştir. Görüntüleme bazlı değerlendirmeleri standardize etmek için yapılacak

epey iş varken over rezerv değerlendirmesi ve başarılı ovaryen stimülasyon siklusu ihtimalinin tahmininde USG önemli yer tutar (161).

Ultrasonografi Rehberliğinde Oosit Toplanması (OPU)

IVF’de ultrasonografik görüntülemenin en önemli kullanımı, oositlerin transvajinal toplanması imkanını sağlayan büyük gelişmedir (167-169). Transvajinal proba eklenen rehber içinden aspirasyon iğnesi geçirilir ve vajinal fornikslerden önce birinci sonra ikinci overin içine sokulur. Bugün kullanılan bütün aspirasyon iğnelerinin ucuna yakın, iğne overin içine girdiğinde ve follikülün içinde iken görüntünün kolaylaşmasını sağlayacak yüksek yansıtma özelliği olan bir küçük bant bulunur. Follikülün içine yönlendirilen iğnenin yolu USG ekranına yansıtılan biyopsi kılavuzu ile doğru olarak belirlenebilir. İğnenin yüksek yansıtıcı duvarları birçok vakada yolunu belirlemeyi kolaylaştırır. İğnenin ucu overin içinde ve her follikülün içinde hareket ettirilirken kolaylıkla gözlenebilir. Oosit-kümüls kompleksini içeren folliküler sıvı nazik bir emme uygulaması ile aspire edilir. Sıvı aspire edilirken ve iğne follikülün içindeki tüm sıvının çekildiğine emin olmak için hareket ettirilirken follikülün duvarları kollabe olur (157).

Ultrasonografi Kılavuzluğunda Embriyo Transferi

Embriyo transferinde USG ile görüntüleme optimal embriyo yerleşimini ve başarılı gebelik şansını arttırmak için kullanılmaktadır. Transabdominal USG dolu mesane penceresinden tipik olarak 3-4 MHz’lik probu alt abdominal ve pelvik sagittal planda, uterus ve serviksi sagittal olarak görüntüleyecek şekilde yerleştirilir. Daha kolay görüntülenebilen transfer kateteri geliştirilmiş olmasına rağmen birçok standart transfer kateteri servikste bir çift yüksek ekojenik çizgi şeklinde görüntülenebilir. Kateter görüldükten sonra dikkatlice uterus lümenine gerçek zamanlı görüntüleme kullanılarak yerleştirilir. Klinisyen kateterin uterusu optimal yerde olduğunu gördüğünde, embriyolar itinayla yerleştirilir. Optimal yer konusundaki düşünceler farklılık göstermektedir.

YÜT takibi USG gözlemi olmadan mümkün görünmemektedir. Ovaryen stimülasyonların etkilerini izleme, protokolleri optimize etme, kolay oosit toplamayı sağlama, embriyo transferi sırasında endometriumu direkt vizüalize edebilme ve direkt embriyo replasmanını görebilme imkanını sağlamaktadır (157).

hCG Günüdeki Endometrium Kalınlığı ve Tipi

hCG günü endometrium kalınlığının gebelik oranlarına etkisi tartışmalıdır. Hiperekojen ve homojen görünümlü endometriumlarda gebelik oranları oldukça düşük, iki myometrial sınır ve her iki endometrial yüzeyin oluşturduğu hiperekojen hatlar ve bunlar arasındaki hipoekojen endometriumun oluşturduğu üçlü çizgi görünümünde endometriumlarda gebelik oranlarının belirgin olarak arttığı bildirilmiştir (170). Endometrium 6 mm'nin altındaysa gebelik elde edilme olasılığı çok düşer (155). Endometriumun implantasyon yönünden risk oluşturduğu bir üst kalınlık sınırının olup olmadığı tartışmalıdır. Bazı yayınlarda endometrial kalınlık 14 mm' nin üstünde ise implantasyon ve klinik gebelik oranları belirgin derecede düşüş ve abortus olasılığında artış bildirilmekle beraber farklı yayınlarda da endometrial kalınlık artışı ile implantasyon oranlarında bir azalma meydana gelmediği ve implantasyon açısından risk taşıyan bir üst sınırın mevcut olmadığı belirtilmektedir (156).

2.9. Doppler Ultrasonografi

2.9.1. Doppler Teorisi

Dalga bir objeden yansıdığından, ekoların birçok belirleyicisi olacaktır, iletilen dalgaların karakteri, dalganın hareket ettiği ortam, dalganın yansıtıcısı ya da yansıtıcıdan uzaklaştığı mesafe, yansıtıcının özellikleri, geri dönen ekoyu belirlemektedir. Teorik olarak bütün elemanlar (iletici, yansıtıcı ya da alıcı) hareket edebilir. Klinik senaryodaki kan akımının USG ile tanımlanmasında iletici ve alıcı (aynı transdüserde farklı kristaller) sabit, yansıtıcılar (çalışılan kan damarlarındaki eritrositler) hareket halinde olup yolun uzunluğunu değiştirmektedir. Doppler etkisi, akustik ya da USG dalgasının frekansının değişmesidir, bu da iletici ve alıcı kaynaklar arasındaki toplam yol uzunluğu değiştiğinde ortaya çıkar (8).

Doppler kan akımı çalışmalarında aralıklı (pulsed) ses dalgasının yolu üzerindeki kırmızı kan hücreleri USG ışını üzerine farklı etkiler oluşturur. Doku içinde ilerleme hızını da sabit kabul edersek ve Doppler açısı da biliniyorsa, kan akım hızı ölçülen Doppler kaymasından hesaplanabilir. Eğer bu işlem saniyede birçok kez tekrarlanırsa, zamana göre hızdaki değişmeler kan akım hızının dalga formu olarak gösterilebilir (8).

2.9.2. Doppler İndeksleri

Kan akımı belirlenmesindeki var olan bu zorluklardan dolayı, kan akım hızı dalga formu genellikle distal vasküler dallarda yüksek ve düşük rezistansla alakalı paternlerin ayrılmasında kullanılmaktadır. Yaygın kullanımdaki üç indeks, sistol/diyastol oran (S/D oranı) (171), pulsatil indeks (PI, aynı zamanda impedans indeks de denir) ve rezistans indeksidir (RI aynı zamanda Pourcelot oranı da denir) (172). S/D oranı basittir ve elle hesaplanabilir fakat diyastolik hızlar yoksa oran anlamsız olur. Yaygın pratikte 8.0'ın üzerindeki değerler tek bir kategoriye alınarak "aşırı yüksek" olarak değerlendirilir. PI için ortalama hızın bilgisayar yardımıyla hesabı gerekir ki bu da çok büyük deneysel hatalara yol açabilir. RI biraz komplikedir fakat diyastolik hız anormal bir şekilde düşük olduğunda yani 1.00 değerine yaklaştığı zaman rölatif olarak yüksek dirençli akımı işaret eder.

Bu indeksler başlangıçta kötü sonuçlu klinik bulgular ile istatistikî ilişkilerinden dolayı türetilmişlerdir. Bunlar genellikle "rezistans işareti" olarak kabul edilir ve akım yönündeki rezistansı gösterirler. Ancak bu arada, RI'nın kalp hızı, kalp kontraksiyonu, kan basıncı gibi fizyolojik etkenlerle değişmediği de düşünülmemelidir. Üç indeksin de (katsayısı 0,9'u aşan) birbiriyle sıkı ilişkisi vardır (173). Bu yakın ilişki nedeniyle biri diğerine önemli avantaj sağlamaz. Hepsinde %10 ile % 20 arasında intrensek hata payı vardır (174).

Literatürde önerilen modifikasyonlar ve uyarlamalar sonuçta belirli bir indeksin kişisel seçimine dayanmaktadır. Birçok Doppler cihazı ile yapılan araştırmalarda kan akım hızına ait dalga formu, araştırılan damarların içindeki hücrelerin hızına ait bilgiler vermektedir. Maksimum akım hızı için kullanılan metod ile ortalama ve ilk andaki hızlar da hesaplanabilir, birbirine yakın sonuçlar elde edilebilir, fakat bunlarda daha fazla hata payı vardır (175). Bu dalga şekilleri üzerinde daha detaylı hesaplama çalışmaları yapmak için vakit harcamak gereksiz görülmektedir (176).

2.9.3. Renkli Doppler Sonografi

Bu alandaki son buluşlar kan damarlarını saptamada büyük bir özgünlüğe sahiptirler (174).

2.9.4. IVF’de Doppler İncelemelerinin Yeri

Overin Damarsal Yapısı

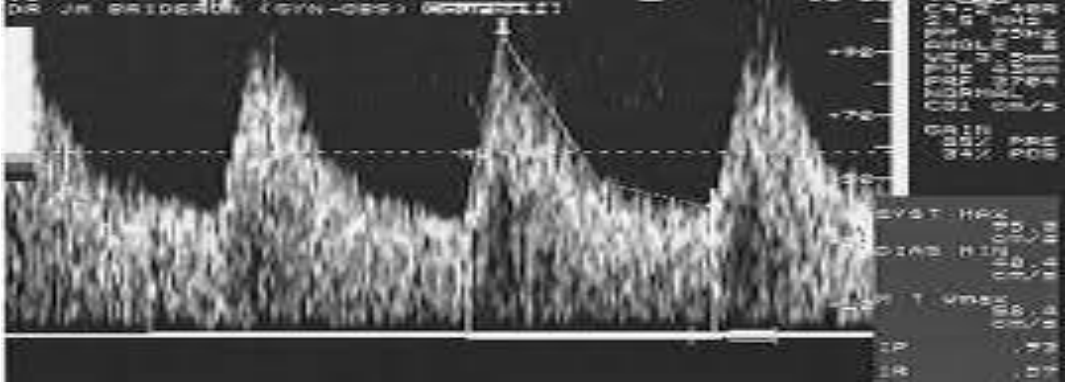
Over arteriyel damarlarının iki ana kaynağı vardır. Over arteri ve uterin arterin tuba ovaryan dalı. Ana over damarlarının yanında over hilusu ve kortekse doğru yayılan arteriyel sistem ve buna eşlik eden venöz toplayıcı sistem bulunmaktadır. Follikülogenez de ana damarlardan çok ilgili alanın ince damarlarının incelenmesi bilgi verici olmaktadır. Follikülü besleyen arterdeki değişim follikülün metabolik hızı ile paralellik gösterir. Hızlı büyüyen folliküllerde damar direncini oluşturacak yapının olmaması nedeniyle damar direnci düşük olacaktır (8).

Uterusun Damarsal Yapısı

Uterusun ana damarı olan uterin arter, arkuat artere ve oda radial artere, daha sonra bazal artere ve o da spiral artere dallanarak endometrial alanı besleyen uç damarlara dönüşür. Endometriumun kan gereksiniminin fazla olduğu gebelik gibi durumlarda uterin artere yansıyan direnç azalması ile plental perfüzyon sağlanabilir. Buna benzer değişim menstürel siklus içinde subendometrial alanda da gözlenmekte ve gebeliğe hazırlanan sekretuar endometriumda hızla oluşan neovaskularizasyon ile damarsal direnç azalmaktadır (8).

Spektral Doppler Ve Renkli Akım Doppler Ultrasonografi

Literatürdeki uterin arterlerin Doppler ultrasonografik tarihi karmaşıktır. Erken çalışmalar PI, RI, Vmax veya S/D oranları ölçümleri kullanılarak kan akımına direncin değerlendirildiği spektral Doppler araştırmasına dayanır. Uterin arterlerin PI’sı araştırıldığında ve veriler düşük, orta ve yüksek olarak sınıflandırıldığında kadınların gebe olup olmadığı sikluslar arasında farklılık bulunmamıştır fakat yüksek PI değerli kadınlarda hiç gebelik saptanmamıştır (177). Uterin arterdeki vasküler akıma impedansın ölçümü olan yükselmiş PI anlamlı ölçüde düşük gebelik hızıyla ilişkilidir (178). RI ile ölçülen uterin arter vasküler impedansının gebelik olasılığını tahmin etmede kullanışlı olmadığı bulunmuş fakat hCG yapılmasından önce PI değerlerinin 0.79’den büyük olduğu durumda kötü uterin perfüzyon olduğu varsayılmıştır (179).



Şekil 2.4. Uterin arter pulsatilite indeksinin ölçümü

Sonuç olarak,

- Anovulatuvar siklusu olanlarda uterin arterde RI 'nin artan direnç gösterdiği ve end diastolik akım kaybı olduğu (180,181)
- Embriyo transfer gününde uterin arter PI'nın 3'den fazla olması %35 ten fazla olasılıkla implantasyonun olamayacağını (177,182)
- IVF olguları için PI nin 2-3 arasında olduğunda gebelik şansının en fazla olduğunu (183)
- IVF olgularında hCG günü yapılan incelemelerde gebelik şansını etkileyen en önemli faktörün subendometrial kan akımının olmaması olduğu, subendometrial akım yokluğunda hiç gebelik oluşmadığını (183)
- Overlerde ovulasyona uğrayacak follüküllerde RI' inde düşüş izlendiği (184,185) görülmüştür.

2.10. Kadınlarda Östrojen Hormonunun İşlevi

Östrojen, ovaryumlardan salgılanan iki önemli cinsiyet steroid hormonlarından biridir. Östrojenler hem erkeklerde hem de kadınlarda bulunmakla beraber, üreme yasındaki kadınlarda düzeyleri çok daha yüksektir. Embriyonik ve fetal gelişimde önemli bir role sahip olan östrojen hormonu, kadınların sekonder seksüel karakterizasyonu, üreme döngüsü, fertilité ve gebeliğin devamlılığı üzerine etkileri vardır. Bunun yanı sıra endometriyal hücre büyümesinde ve farklılaşmasında düzenleyici göreve sahiptir (186). Doğal olarak oluşan östrojenler, kolesterolden türeyen C₁₈ steroidlerdir ve bunlar 17 β östradiol (E₂), östron (E₁) ve östriol (E₃)

olmak üzere üç tiptir (187). Kadınlarda bulunan bu hormonlar arasında E_2 en baskın olanıdır.

Menarş ile menopoz arasında başlıca östrojen E_2 'dir. E_1 , E_2 'den daha zayıf etkili olup menopoz sonrası kadınlarda E_2 ile karşılaştırıldığında daha yüksek düzeylerde bulunur. Östrojen hormonunun temel kaynakları ovaryumlar ve plasentadır. Folliküllerin oluşumu ve oositlerin olgunlaşması FSH, LH ve östrojenin karşılıklı etkileşiminin gerekli olduğu karmaşık olaylardır. Vücutta bunlar enzim reaksiyonları sonucu androjenlerden sentezlenir. E_2 testosterondan, E_1 de androstenediondan sentezlenir (188).

2.10.1. Östrojen Üretimi

Östrojenin sentezi ovaryumlarda teka interna hücrelerinde kolesterolden androstenedionun senteziyle başlar. Bu bileşik bazal membrandan çevredeki granüloza hücrelerine geçerek burada doğrudan veya testosteron üzerinden E_1 veya E_2 'ye çevrilir. Testosterondan E_2 'ye ve androstenediondan E_1 'e dönüşümü aromataz enzimi sağlar. E_2 düzeyleri menstrüel döngü boyunca farklılık göstermekte olup ovulasyon öncesi oldukça yüksek seyrederek (189).

2.10.2. Östrojenlerin Etki Mekanizması

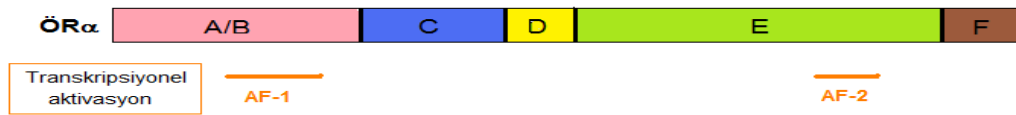
Hormonların hedef hücrelerine ulaştıklarında etkilerini gösterebilmesi için özgül reseptörlerine bağlanması gerekir. Hormonlar ya membran reseptörleri ile ya da çekirdek reseptörlerine bağlanarak biyolojik aktivitelerini gösterirler. Östrojenler etkilerini ligand ile aktive olan ve östrojen reseptörü (ÖR) olarak adlandırılan transkripsiyon faktörleri aracılığı ile göstermektedir (190,191). Östrojen reseptörleri ayrıca hücre içi ikincil habercilerin ve zarla ilişkili olan sinyal komplekslerinin aktivitesine de aracılık etmektedir (190,192). Östrojen reseptörleri hücre içi reseptörlerin çekirdek hormon ailesinin bir üyesi olup 17β -östradiol hormonu ile aktive edilirler. Östrojen, çekirdek reseptör proteine bağlanarak doku ve organa özgül fizyolojik cevapları tetikler. Çekirdek reseptörleri, hormona bağlanma, transkripsiyonda görev alan DNA'ya bağlanma ve diğer protein faktörleri ile etkileşen düzenleyici bölgelerden oluşur (192).

Östrojen reseptörünün alfa ($\text{ÖR}\alpha$) ve beta ($\text{ÖR}\beta$) olmak üzere iki tipi bulunmaktadır. İki reseptör proteininin de DNA bağlanma bölgesi oldukça benzer

olmasına rağmen, molekülün genelindeki aminoasit benzerliği düşüktür. Örneğin ligand bağlanma bölgesinde %55 oranında homoloji vardır. Bunun sonucu olarak da farklı ligandlar her iki reseptör proteinine farklı bağlanma ilgisi göstermektedir. Reseptör proteinlerinin dağılımı bazı dokularda çakışmakla birlikte farklılıklar göstermektedir (187). Kandaki serbest östrojen hormonu hücreye zardan hızlı difüzyon ile girer, özgül reseptörlere bağlanır, dimer oluşumu gerçekleşir ve reseptör hormon mesajını çekirdekte kromatine iletir. Bunun ardından protein sentezi ve hormonun karakteristik hücresel yanıtına neden olan mRNA yapımı oluşur. Östrojen reseptörlerinin yarı ömrü 2-4 saat olup yaklaşık olarak 6 saatte bağlanma kapasiteleri azalır. Bu nedenle östrojen etkisinin devamlılık gösterebilmesi için östrojen varlığının devamlı olması gerekmektedir (192).

2.10.3. Östrojen Reseptör Proteini Alfa'nın (ÖR α) Yapısı

Bugüne kadar östrojen reseptörleri oositte (193), granüloza hücrelerinde (194) ve ovaryen epitel hücrelerinde (195) tanımlanmıştır. ÖR α 595 amino asit içerir ve 66 kDa ağırlığındadır. ÖR α proteini amino ucundan karboksil ucuna doğru A'dan F'ye kadar isimlendirilen 6 bölgeye sahiptir (196) (Şekil 2.4.).



Şekil 2.5. İnsan östrojen reseptör α (ÖR α) proteininin işlevsel bölgeleri.

AF-1 Aktivasyon işlevi 1, AF-2, Aktivasyon işlevi 2

A ve B bölgeleri, çekirdek reseptör ailesi içinde oldukça değişken bir bölge olup sahip olduğu Aktivasyon İşlevi 1 (AF-1) yoluyla bir genin ifadenmesini hücreye özgün şekilde düzenlemektedir (196). Bu sayede ÖR α merkez transkripsiyon aygıtının bileşenleri ile doğrudan etkileşerek hedef genleri aktive eder ya da diğer proteinlere sinyal iletiminde rol oynayan koaktivatör proteinlerle doğrudan ilişki kurar. AF-1 bölgesi, hücre tipi ve kontrol bölgesi içerik özgünlüğüne sahip olmakla birlikte ÖR β ' da bulunmamaktadır (197).

C bölgesi, ÖR α proteininin DNA bağlanma bölgesidir. Hedef genlerin östrojen cevap elementlerine bağlanmasından sorumlu olup reseptör dimerizasyonunda görev alır (198).

D bölgesi, DNA bağlanma bölgesini ligand bağlanma bölgesi ile ayıran 40-50 amino asitlik bir bölgedir. Reseptör proteininin dimerizasyonunda görev alır aynı zamanda korepressör proteinler ile etkileşmektedir (196,199).

E bölgesi, ligand bağlanma bölgesini ve Aktivasyon İşlevi 2'yi (AF-2) içermektedir. Aynı zamanda dimerizasyon ve reseptör proteinin çekirdek yerleşiminden de sorumludur. E bölgesinin C ucunda yer alan ve çekirdek reseptör süper ailesi içinde oldukça korunmuş bir yapı olan AF-2, çeşitli koaktivatörler tarafından tanınmakta olup bazı korepressörler için bir tutunma yeri görevi üstlenmektedir (196).

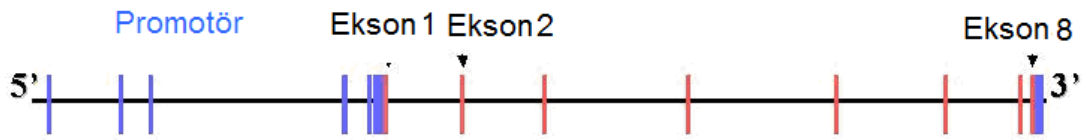
F bölgesi, Karboksil uçta yer alan bu bölge ÖR α proteininin gen aktivasyon kapasitesine katkıda bulunmakta ve proteininin dimerizasyonu ve kofaktör bağlanmasında da etki göstermektedir (200).

Amino uçta yer alan AF-1 ve ligand bağlanma bölgesinde yer alan AF-2'nin birbirleriyle etkileşimleri sonucu doku, hücre ve kontrol bölgesine özgü olan yardımcı düzenleyici kompleksler hedef gen bölgesine toplanarak hedef genlerin aktivasyonu veya baskılanması yönünde etkilerini gösterirler (197,201).

ÖR α 'yı da içeren tüm steroid reseptör proteinleri kendilerine özgü ligandların bağlanmasından sonra fosforile edilirler. Steroid hormon reseptörlerinin fosforilasyonu reseptörün gendeki kendi yanıt elementine bağlanmasında ve bundan sonra gerçekleşen transkripsiyonun aktivasyonunda önemli bir rol oynar. Östrojen yokluğunda farklı sinyallerle aktifleşen kinazların aktive olması ile östrojen reseptörü geri dönüşümlü olarak fosforile edilip aktivasyonu sağlanır. Bu mekanizma özellikle büyüme faktörleri, sitokinler ve nörotransmitterler gibi hücre dışı sinyal moleküllerinin yerel konsantrasyonunun yüksek olduğu durumlarda ve erkeklerde veya menopoz sonrası kadınlarda olduğu gibi serum östrojen konsantrasyonunun düşük olduğu durumlarda etkili olabilmektedir (202).

2.10.4. Östrojen Reseptör Geni

ÖR α ve ÖR β sırasıyla ÖR1 ve ÖR2 genlerinden ifadelemektedir. ÖR2 geni 14. kromozomda (14q23.2) 40 kilobayt (kb)'lık bir bölgeyi içermektedir. ÖR1 geni, 6. kromozomda (6q24-27) 140 kb'lık bir bölgeyi kapsar ve 8 ekson içermektedir (Şekil 2.5.). Eksonlar sırasıyla 684, 191, 117, 336, 139, 134, 184 ve 4537 bp (toplam 6322 bp) büyüklüğündedir (201,203,204).



Şekil 2.6. İnsan östrojen reseptör 1 geni intron ve ekson bölgeleri

ÖR α geninin transkripsiyonu karmaşıktır ve bir kaç tane kontrol bölgesinin aktivitesi rol almaktadır (205). ÖR α 'nın da yer aldığı çekirdek reseptör ailesinin diğer üyelerinden elde edilen bulgular, çoklu kontrol bölgelerinin, steroid hormon reseptörlerinin ortak bir özelliği olduğunu göstermektedir. İnsan ÖR α geninin en az 7 kontrol bölgesinden çoklu messenger ribonükleik asid (mRNA)'lere transkripsiyonu yapılmaktadır ve bu kontrol bölgelerinin bazıları reseptörün ligandı olan östrojenle düzenlenmektedir. Çoklu kontrol bölgelerinin en önemli olası işlevi, kontrol bölgelerinin dokuya özgün düzenlenmesi ve dokulardaki farklı mRNA varyantlarının ifadenmesinin düzenlenmesinde iş görebileceğidir. Örneğin normal meme ve uterin dokusunda kontrol bölgesi A, kontrol bölgesi B'ye oranla daha az kullanılmaktadır. Farklı kontrol bölgeleri gelişimin farklı aşamalarında kullanılabilir (206).

Çoklu kontrol bölgesi mekanizmasının diğer bir işlevi de farklı kontrol bölgelerinden üretilen mRNA'ların farklı alternatif intron çıkartılması ve ekson birleştirilmesi işlemine (alternatif splicing) uğrayabileceği ve bunun da çeşitli protein izoformlarını kodlayan mRNA'larla sonuçlanabileceğidir. Bu sayede ÖR α 'nın farklı mRNA işlenmesine uğramış formları tanımlanmıştır (206).

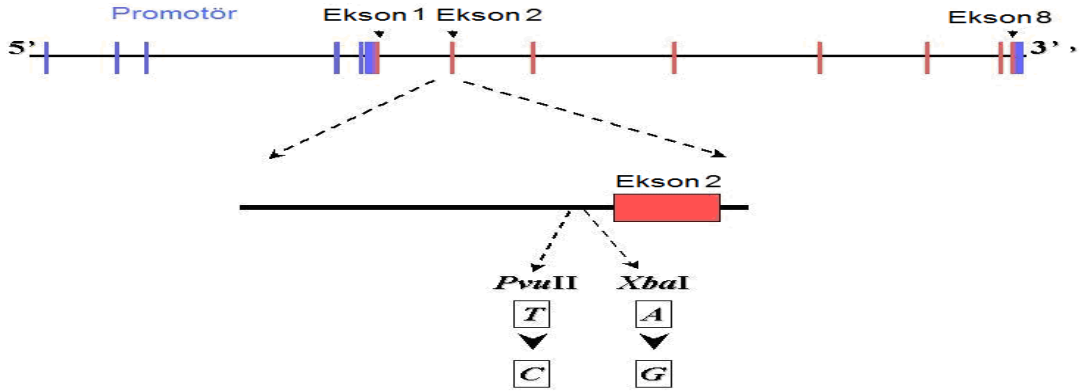
2.10.5. Östrojen Reseptör Gen Polimorfizmleri

Polimorfizm, bir toplumda farklı allellere bağlı olarak genetik açıdan belirlenmiş iki veya daha çok alternatif fenotipin görülmesidir (207). Eğer toplumda

herhangi bir lokusta en az iki tane yaygın bulunan allel varsa bu lokusun polimorfizm sergilediği söylenir ve bir allelin toplumdaki sıklığı %1' den fazla olursa bu allel polimorfik olarak adlandırılır. Östrojen reseptör genleri IVF sonucunu etkileyebilecek ve belli infertilite ile ilgili jinekolojik bozukluklar için risk oluşturabilecek çeşitli DNA dizi varyasyonlarını barındırmaktadır (208). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda meme kanseri olan, tekrarlayan düşüklerle sahip, osteoporozlu veya anti-östrojen tedavisi gören hasta gruplarında pek çok ÖR1 gen polimorfizmleri ve mutasyonları incelenmiştir. ÖR1 geninin 1. intronunda, tek nükleotid polimorfizmleri olan (single-nucleotide polymorphism=SNP) PvuII (T/C) ve XbaI (A/G) restriksiyon bölgelerinde yer almaktadır. ÖR1 PvuII polimorfizminin endometriyose yatkınlık ve IVF'in KOH/gebelik sonuçları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (188, 209).

PvuII ve BstUI polimorfizmlerinin meme kanseri ve tekrarlayan düşükler ile ilişkili olduğu saptanmıştır (204,210). Buna ek olarak, ÖR1 kontrol bölgesi bölgesinde yer alan TA dinükleotid tekrarı polimorfizminin prematür ovaryen bozukluğu (211) ve endometriosis (209) riskini arttırdığı belirlenmiştir. Prematür ovaryen bozukluğu olan kadınlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında uzun TA tekrarının daha sık olduğu gözlenmiştir (212).

ÖR1 genindeki polimorfizmler ve çeşitli klinik fenotipler arasındaki ilişkileri araştıran çalışmalar PvuII, XbaI ve kontrol bölgesindeki TA tekrar polimorfizmleri üzerine yoğunlaşmıştır (213). PvuII polimorfizmi, intron 1' de timin nükleotidinin sitozine dönüşümü (T>C) sonucu oluşur ve bu dönüşümün belirlenmesinde kullanılan restriksiyon enziminden yola çıkarak bu polimorfizme PvuII polimorfizmi denilmektedir (214). XbaI polimorfizmi, intron 1' de adenin nükleotidinin guanine dönüşümü (A>G) sonucunda oluşmaktadır. Bu dönüşümün belirlenmesinde kullanılan restriksiyon enziminden yola çıkarak bu polimorfizm XbaI polimorfizmi olarak adlandırılmaktadır (215) (Şekil 2.6).



Şekil 2.7. İnsan ÖR1 geni 1.intronunda yer alan PvuII (c.454-397T>C) ve XbaI (c.454-351A>G) polimorfizmlerinin yerleşimi

ÖR1 geninin kontrol bölgesinde yer alan TA tekrar sayısına bağlı olarak oluşan TA tekrar polimorfizmi birinci eksonun 1kb'lık üst bölgesinde yer almaktadır. ÖR1 gen kontrol bölgesi alternatif eksonlar ve farklı gen transkriptlerinin ifade edilmesi ile sonuçlanan alternatif kesim bölgeleri içeren çoklu kontrol bölgelerine sahip oldukça karmaşık bir genomik organizasyona sahiptir (206).

İnsanlarda ÖR subtipleri sırasıyla ÖR1 ve ÖR2 genleriyle kodlanan ÖR α (203) ve ÖR β (216)'dır. ÖR1 geni 6q25.1 kromozomuna lokalize olmuşken ÖR2 14q23.2 kromozomuna lokalizedir. ÖR1 PvuII lokusu endometriosis şüphesinde (217) ve gebelik/KOH sonuçları ile ilişkili olabilir (188,209). Ayrıca ÖR2 RsaI lokusu ovulatuvar disfonksiyonun nedeni bilinmeyen etyolojisi ile bağlantılıdır (218).

ÖR1 (PvuII ve XbaI) ve ÖR2 (RsaI) varyasyonlarının kadın infertilitesindeki önemi ile KOH ve IVF'in gebelik sonuçları üzerine dağılımını belirlemek amaçlı çalışmalar yapılmıştır (188, 209, 218). ÖR gen varyantları ile klinik gebelik oluşumu arasındaki ilişki lojistik regresyon modellerinde yaş, infertilite nedeni ve oosit fertilizasyonu için kullanılan prosedür (IVF/ICSI) ile desteklenerek değerlendirilmiştir. ÖR1 ya da ÖR2 mikrosatellitleri embriyo transferi başına gebelik olasılığını öngörmediği görülmüştür. Açıklanamayan infertil kadınlar hastalarının heterojen grubunu oluştururken sonuçlar göstermiştir ki ÖR1 varyasyonları açıklanmayan infertilitede duyarlı bir faktördür (219).

Literatürde yer alan bulguların ışığında belirli östrojen reseptör gen polimorfizmlerinin araştırılması infertilite tedavisinde önemli bir adım olabilecektir.

2.11. İmplantasyon Fizyolojisi

Fertilizasyondan üç gün sonra sekiz hücreli klivaj evresindeki embriyo oluşur. Bir gün sonra da morula aşamasındaki embriyo uterin kaviteye girmektedir. 30 ile 200 hücre arasında değişen blastokist fertilizasyonunun altı ile yedinci günlerinde zona pellusidanın ayrılmasından sonra endometriuma implante olur.

Proliferatif endometriumdan sekretuar endometriuma geçiş implantasyon için gerekli olan reseptivitenin elde edilmesi için son derece önemlidir. Proliferatif faz ovaryen follikül gelişimi ve östrojen salınımının artımı ile birlikte dir. Steroidal etki sonucu endometrium gelişmesi ve rekonstrüksiyon olur. Bu proliferasyon özellikle blastokist implantasyon sahası olan uterusun üst üçte ikilik kısmında artan mitoz, nükleer DNA ve sitoplazmik RNA (ribonükleik asid) sentezi ile belirgin hale gelir.

Östrojen ve progesteron reseptör konsantrasyonları ovulasyondan önce siklus ortasında tepe noktasına ulaşır. Proliferasyon sırasında endometrium ortalama 0,5 mm'den 3,5–5 mm'lik tek kat kalınlığa ulaşır. Ovulasyondan sonra endometrium hem östrojene hemde progesterona karşı reaksiyon gösterir. Devamlı östrojen varlığına rağmen endometrial kalınlık preovulatuvar dönemde 5–6 mm olur. Stromal elemanların her biri büyümeye devam ederken endometrial kalınlığın sabit kalması bezlerde ve spiral damarlarda kıvrılmaya neden olur (8).

Ovulasyon olduğunda ilk histolojik bulgu siklusun 17–18. gününde subnükleer intrastoplazmik glikojen vakuollerinin bez epitelde görülmesidir. Dev mitokondriler ve nükleolar kanal sistemi bez hücrelerde görülür. Nükleolar kanal sistemi progesterona bağlı olarak görülen özgün bir oluşumdur. Bu yapısal değişiklikleri takiben glikoprotein ve peptidlerin endometrial kaviteye aktif sekresyonu başlar. Plazmanın transüstasyonu da endometrial sekresyona katkıda bulunur. Önemli immunglobulinler dolaşımdan alınır ve epitel etrafında yapılmış olan bağlayıcı proteinler ile kaviteye verilir. Sekresyonda tepe noktasına siklus ortası gonadotropin zirvesinden yedi gün sonra ulaşılır. Bu da blastokist implantasyonu ile aynı zamana denk düşmektedir. Endometrium implantasyon zamanında midluteal fazda 10–14 mm'lik çift kat kalınlığındadır. Endometrial reseptivite penceresi 28

günlük normal bir siklusun 20–24 günleri arasında sınırlandırılmıştır. İmplantasyon embriyonun endometriuma tutunması ve epiteli geçip maternal dolaşım sistemine plasentayı oluşturmak için ulaşmasını kapsayan bir işlem olarak tanımlanmaktadır. İmplantasyon fertilize oositin uterusu girişinden 2 ile 3 gün sonra olmaktadır. İmplantasyon, apozisyon, adezyon ve invazyon olmak üzere üç evreden oluşmaktadır (8,220).

Blastokist endometrium ile daha yakın bir temas geldikçe yüzeyindeki mikrovilluslar kısalır ve epitelyal hücrelerin luminal yüzeyindekiler ile bağlantı kurarlar. Sonuçta hücre membranlarının son derece yakın bir temasta olduğu ve bağlantı komplekslerinin kurulduğu adezyon evresine ulaşılır. Adezyon aşamasında integrin ve selektinleri de içeren tüm adezyon molekülleri görev alır. Desidualize endometrium ve erken embriyo hücre adezyonunu sağlayan laminin ve fibronektin gibi ekstraselüler matriks komponentlerini eksprese ederler. Bu dönemde büyüme faktörleri ve sitokinlerle birlikte birçok molekül embriyo ile endometrium arasında sinyal iletimine yardımcı olarak adezyonu sağlarlar. Glycodelin-A da immünsupresif özelliği ile embriyonun maternal reddini engeller (8,220).

2.11.1. Apozisyon ve Adezyon

İnsan blastokisti 1 ile 3 gün arası endometrial kavitede sekresyon içerisinde kalmaktadır. Bu süre içerisinde zona pellusidasından ayrılarak (hatching), endometrium epiteline tutunmaya hazırlanmaktadır. Blastokistin embriyonik kutbunun tersi bölgesinde hatching başlangıç noktası oluşur. ‘Zona kırıcı hücreler’ olarak adlandırılan özelleşmiş trofoblastik hücreler bu noktada toplanarak zona pellusidanın erimesini sağlarlar. Zona kırıcı hücreler zona pellusidayı eritebilen keseciklere sahiptirler. Mekanik olarak, mikrovillus ve monofilamanların kontraksiyonlarıyla da hatching işlemi gerçekleşir. Bu süre içinde blastokist bir iç hücre kitlesine (embriyo) ve bir trofoektoderme (plasenta) farklılaşır (8, 220).

2.11.2. İnvazyon

İmplantasyon işleminin başında trofoektoderm dışta multinükleuslu sinsityotrofoblast ve içte sitotrofoblast tabakalarını oluşturmak üzere farklılaşır. Sinsityotrofoblast tabakası aralarındaki hücre zarlarını kaybederek birbirleriyle birleşmiş olan trofoblast hücre ağından meydana gelir. Sinsityotrofoblast

implantasyonun öncü birimini oluşturur. Endometriumda ekstraselüler matriks proteinlerini yıkmak için kollajenaz ve plazminojen aktivatörü gibi enzimleri salgılar. Plazminojen aktivatörü, plazminojenin plazmine dönüşümünü sağlayarak metaloproteinazların salınmasına yol açar. Sonuçta matriks proteinleri yıkılarak invazyon gerçekleşir. Uterin spiral arterioller sitotrofoblastlar ile invaze edilir ve maternal endotel myometriumun ilk üçte birlik kısmına kadar sitotrofoblastlar tarafından kaplanır (8,221).

Trofoblastik aktivitenin kısıtlanması büyüme faktörlerinin, sitokinlerin, enzimlerin, başlatıcı ve engel olucu faktörlerin arasındaki denge ile gerçekleşir. PAI-1 (plazminojen aktivatör inhibitör), desidual hücrelerin major ürünüdür. Menstrüasyon sırasında aşırıkanamayı ve erken gebelikte trofoblastik invazyonu sınırlar (221).

2.12. YÜT Siklusları ve İmplantasyon

Yardımcı üreme teknolojilerinin kullanımı 1978 yılında doğan ilk IVF bebeğinden sonra gelişmeye devam etmektedir. Artık yüksek kalitedeki embriyolar seçilebilmekte ve endometrium değerlendirilebilmektedir. Daha yüksek gebelik oranları, daha az çoğul gebelikler ve genetik olarak sağlıklı bebekler yardımcı üreme tekniklerinin günümüzdeki hedefleridir. Bütün gelişmelere rağmen, son 10 yılda gebelik oranlarında anlamlı bir artış olmamıştır (222). Henüz açıklığa kavuşturulamamış faktörler muhtemelen bu duruma neden olmaktadır.

Başarılı bir implantasyonun gerçekleşebilmesi için blastokistin belli bir zaman aralığında reseptif endometriumla karşılaşması gerekir. Endometrium menstrüel siklus boyunca yeniden yapılanırken ancak kısıtlı bir zaman aralığında embriyoya reseptif durumda olur. Bu zaman aralığına implantasyon penceresi dönemi denir. Doğal bir siklusta embriyo ovulasyondan ortalama 4 gün sonra uterin kaviteye girer (223). Ovulasyondan 6 ile 8 gün sonra endometrium blastokist implantasyonuna reseptif hale gelir. Ortalama 4 gün boyunca reseptif halde kalır (224). Yüksek kalitedeki embriyoların alıcı annelere transferinin verici annelere transferinden daha iyi implantasyon oranlarıyla sonuçlandığı çalışma, verici annelerde hiperstimülasyona bağlı östradiol yüksekliğinin endometrial reseptiviteyi

olumsuz etkilediğini göstermektedir (225). Düşük embriyo kalitesi implantasyon başarısızlığının en önemli nedenlerinden biridir (226).

Ovaryen stimölasyon uygulanan sikluslarda implantasyon oranını arttırmak için implantasyon penceresi dönemini belirleyebilmek ve seçilen en kaliteli embriyoyu bu dönemde transfer etmek gereklidir. Endometrial reseptiviteyi ve embriyo kalitesini, yardımcı üreme teknolojilerinin uygulandığı siklusa zarar vermeden değerlendirilebildiği yöntemlerin bulunması gerekir. İmplantasyon oosit matürasyonunun erken dönemlerinde başlayan, embriyo ve endometrium arasındaki kompleks ilişkiler sonucunda olur (227). Embriyo gelişimiyle endometrial matürasyonun senkronizasyon içerisinde olmasıyla başarılı blastokist implantasyonu gerçekleşir. Yardımcı üreme tekniklerinin uygulandığı sikluslarda implantasyon oranlarını arttırabilmek için endometrial reseptiviteyi gösteren ve invaziv olmayan yöntemler bulmak gerekir.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda, 01.06.2011 ve 01.05.2012 tarihleri arasında, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Üreme Sağlığı/Tüp Bebek Ünitesine başvuran, primer/sekonder infertilite ile erkek faktörü, tubal faktör, ağır pelvik yapışıklık veya açıklanamayan infertilite tanısı alan ve IVF/ICSI uygulaması planlanarak OPU ve ET işlemi yapılan 80 hasta değerlendirilmeye alındı.

Çalışma başlatılmadan önce Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 24.10.2010 tarih ve 319 sıra numarası ile izin alınmıştır. Çalışma kapsamında değerlendirilen hastalar ayrıntılı olarak bilgilendirildikten sonra kabul ettikleri taktirde çalışmaya dahil edildi.

Açıklanamayan infertilite tanılı olgu grubunda 40 ve kontrol grubunda 40 olgu olmak üzere 80 olgu çalışmaya alındı. Kontrol grubunda infertil hastaların 31'i erkek faktörü, 5'i tubal faktör, 2'si ovulatuvar faktör, 2'si ağır pelvik yapışıklık tanılıydı.

Hasta Seçimi

Çalışmaya Katılma Kriterleri

Olgu grubuna (açıklanamayan infertil grup), 35 yaşın altında, sigara içmeyen, endometrioma, over kisti, geçirilmiş over cerrahi öyküsü olmayan, PKOS, tiroid fonksiyon bozukluğu veya ek endokrinolojik hastalığı bulunmayan hastalar alındı. Kontrol grubuna (diğer faktörleri içeren infertil grup) ise aynı kriterlere sahip ancak erkek faktör, tubal faktör, ağır pelvik yapışıklık veya ovulatuvar faktörü bulunan olgular alındı.

Randomizasyon

Çalışma kriterlerine uyan hastalardan olgu grubu ve kontrol grubunu oluşturmak üzere rastgele seçim yapılarak her iki grupta 40'ar kişi olmak üzere toplam 80 hasta seçildi. Olgular daha önce uygulanan IVF tedavisi olup olmadığına bakılmaksızın adetlerinin ikinci ile beşinci günleri arasında değerlendirildi.

Protokol

Bu çalışma prospektif olarak düzenmiştir. Seçilen hastaların IVF kliniğimize başvurusundan itibaren geçirdikleri rutin aşamalar şunlardır: İlk olarak olguların ayrıntılı medikal, cerrahi, obstetrik ve jinekolojik öyküleri alındı. Eşlerine spermogram tetkiki uygulandı. Fizik muayene (tiroid muayenesi ve galaktore değerlendirmesi dahil olmak üzere), boy, kilo, kan basıncı ölçümleri yapıldı, beden-kitle indeksleri hesaplandı. Serum glukoz, üre, kreatinin, aspartat transaminaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), serbest triiyodotironin (fT3), serbest tiroksin (fT4), tiroid stimüle edici hormon (TSH) seviyeleri ile menstruasyonun ikinci ile beşinci günleri arasında FSH, LH, E₂, PRL değerleri ölçüldü. Menstruasyonun ikinci ile beşinci günü arasında bazal TVUSG ile uterusun boyutları, myometriyumun yapısı, endometriyumun yapısı ve kalınlığı değerlendirildi, overlerin boyutları ve içerdikleri follikül sayıları saptanarak bu folliküllerin boyutları ölçüldü (içten-içe). Daha önce çekilmiş HSG'leri yoksa HSG çekildi. Gerekirse olgulara HSG sonrası histeroskopik değerlendirme yapıldı. İncelemelerde endometrial kavitede submüköz myom, polip gibi yer kaplayan oluşumlar veya septum uteri gibi kavitenin konjenital ya da Asherman Sendromu gibi edinsel bozukluğu saptanan hastalar tedavi edildikten sonra IVF işlemi uygulandı.

İlk başvuruda erken foliküler fazda (adetin ikinci ile beşinci günü arası) kanda FSH, LH, E₂ düzeyleri hastanemiz biyokimya laboratuvarında çalışıldı. Klinikte TVUSG ile bazal antral folliküllerin sayımı, ovarian volüm ve endometrial kalınlık ölçüm aynı kişi tarafından yapıldı. Ayrıca hastaların ilk başvurusunda alınan ve -20 C° de saklanan kanlar hasta sayısı tamamlandıktan sonra hastanemiz Tıbbi Genetik Bölümü laboratuvarında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve Restriction fragment length polymorphism (RFLP) yöntemiyle östrojen reseptör polimorfizmi açısından değerlendirildi.

Hastalara standart uzun dönem GnRH agonist veya GnRH antagonist protokolleri ve gonadotropinler ile kontrollü ovaryen hiperstimülasyon yapıldı. Uygulanacak protokol ve gonadotropin dozları, optimal sayıda ve kalitede oosit elde edebilmek için, her hastanın yaşına, beden-kitle indeksine, bazal FSH ve E₂ düzeylerine ve tedaviye verdiği yanıtı göre seçildi. Minimum-maximum dozlar 75-

450 IU olacak şekilde tedaviye başlanmıştır. Tedavi seri TVUSG ve serum E₂ ölçümleriyle takip edildi.

Folikül boyutu, dominant follikül 18 mm'den büyükse veya en az 2 adet 17 mm veya daha büyük follikül varsa, ve E₂ düzeyleri uygun olduğunda 10000 IU hCG ile ovulasyon tetiklemesi yapıldı. hCG verildikten 34-36 saat sonra OPU yapıldı. OPU için seçilen hastalar litotomi pozisyonunda jinekolojik muayene masasına alınmış, steril disposabl örtüler ile örtüldü. Jinekolog tek kullanımlık önlük ve steril pudrasız eldiven giyerek vulva ve vajenin tamamı steril serum fizyolojik ile temizlendi. Vajinal USG probu steril plastik kılıf ile örtüldü. İntravenöz 1-2 mg/kg propofol ile sedasyon yapıldı. USG klavuzunun vajinal proba yerleştirilmesini takiben OPU işlemi genel anestezi altında, USG (LOGIQ 400 CL) rehberliğinde, 17G ve 330 mm iğne (Wallace Oocyte Recovery Set) ile 120 mmHg basınçla yapıldı. Aspire edilen follikül içerikleri kültür sıvısına konularak kültür kaplarına alındı. Tüm olgularda oosit toplanması, oosit ve embriyo manipulasyonları, embriyo kültürü ve embriyo transferi işlemlerinde 'Falcon IVF/ICSI-ET medyum serisi' kullanıldı.

OPU işleminden 16-18 saat sonra fertilizasyonun varlığı değerlendirildi. Tüm hastalara luteal faz desteği sağlamak amacıyla 600mg/gün intravajinal natural mikronize progesteron 3 günde bir verilmiştir. Eğer gebelik tespit edilmişse, 12. gestasyonel haftaya kadar luteal faz desteğine devam edildi.

Embriyo transferleri, hastaların mesanelerini doldurmalarını takiben, ultrasonografi (LOGIQ 400 CL) cihazı rehberliğinde, 23 cm 'Sure Pro Ultra Wallace Embriyo Replacement Cathater' kullanılarak transservikal olarak yapıldı. Embriyo transferi için hastalar litotomi pozisyonunda jinekolojik muayene masasına alınarak, vaginaya steril spekulum takılıp serviks görülür hale getirildi. Steril serum fizyolojik ile serviks yıkanarak servikal mukus steril pamuk uçlu plastik çubuklarla temizlendi. Embriyoların konulduğu katater serviksten geçirilerek embriyolar USG rehberliğinde uterin fundusa ortalama 15 mm kala kaviteye bırakıldı. Transferden 12 gün sonra hastaların kanda β hCG düzeyleri ölçüldü ve sonuçları kaydedildi. Test sonuçları pozitif olan hastaların fetal kardiyak aktiviteleri değerlendirildi.

Ovulasyon indüksiyonu sonrası OPU günü kanından hazırlanan serumlarda ve toplanan folikül sıvılarında VEGF, IL-1 β , Glycodelin düzeyleri biyokimya

laboratuvarında ELISA yöntemi kullanılarak çalışıldı. Ayrıca transvajinal renkli akım Doppler USG (3 boyutlu) ile OPU günü uterin arter pulsatilite indeksi aynı kişi tarafından değerlendirildi.

Ovulasyon indüksiyonu, ultrasonografik değerlendirmeler, OPU ve embriyo transferi gibi işlemler Üreme Sağlığı Merkezi'nde yürütüldü. Embriyolojik tüm değerlendirmeler (aspire edilen follikül sayısı, toplanan toplam oosit sayısı, toplam matür oosit sayısı, embriyo transfer edilen olgu sayısı) Üreme Sağlığı Merkezi'nde embriyoloji laboratuvar sorumlusu embriyolog tarafından yapıldı.

Veriler biyoistatistik bölümünce SPSS 15.0 programı kullanılarak değerlendirildi. Değerlendirmelerde Mann Whitney U Test ve Student T Test kullanıldı.

Serum ve Follikül Sıvısı Parametrelerinin Ölçümü

Çalışmaya dahil edilen 80 hastanın siklusun 2-5. günleri arasında ve OPU günü alınan kanları 1000xg'de 15'er dakika, OPU günü alınan follikül sıvıları ise 400xg'de 10'ar dakika santrifüj edilerek çalışma gününe kadar -20°C'de saklandı. Ölçümler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda HUMAN VEGF, RayBio ELISA kiti ile, IL-1 β , DIA Source ELISA kiti ile, HUMAN Glycodelin, Cusabio ELISA kiti ile yapıldı. Ayrıca siklusun 2-5. günleri arasında alınan kandan hazırlanan serum örneklerinde AMH ve İnhibin B düzeyleri USCN Life Science INC ELISA kiti ile çalışıldı. ELISA okuyucusu tarafından otomatik olarak hesaplanan sonuçlar AMH, İnhibin B, IL-1 β ve VEGF için pg/ml, Glycodelin için ng/ml birimleriyle rapor edilmiştir. FSH, LH ve E₂ ise Chemiluminescent İmmunometric Assay yöntemiyle mevcut kitlerle ölçüldü.

Östrojen Reseptör Polimorfizminin Değerlendirilmesi

Araç ve Gereçler

Cihazlar

1. Masaüstü mini santrifüj (Hettich Mikro 22, Almanya)
2. Spin vortex (Biosan FV-2400, Rusya)
3. Mikropipetler (Gilson Pipetman 10, 100, 1000, ABD)
4. Thermal cyclers (Otomatik ısı dongu cihazı) (Eppendorf, Almanya)
5. Mikrodalga fırın (Arçelik MD533, Türkiye)

6. Derin dondurucu (-20⁰C) (Sanyo MDF-U53865, Japonya)
7. Elektroforez güç kaynağı
8. Elektroforez tankı
9. UV translimünatör
10. Jel görüntüleme sistemi
11. DNA İzolasyon Cihazı (Roche, MagNa Pure, Almanya)

Kimyasal Maddeler

1. Magna pure DNA izolasyon kiti (Roche, Almanya)
2. DNA saflaştırma kiti (Roche, Almanya)
3. Primer sentezleri (Biobasic Inc., Kanada)
4. PZT (piezoelectric transducer) tamponu (Fermantas, Litvanya)
5. Agoroz (ONBIO Inc., Kanada)
6. EDTA (Etilendiamintetraasetikasit disodyum dihidrat) (Sigma, ABD)
7. RsaI, PvuII ve XbaI restriksiyon enzimleri ve tamponları (Roche, Almanya)
8. dNTP karışımı (Fermantas, Litvanya)
9. Taq DNA polimeraz (BiothermAB DNA Polymerase, Genecraft, Almanya)
10. MgCl₂ (Fermantas, ABD)
11. Etidyum Bromür (Sigma, ABD)
12. 100 bç'lik moleküler ağırlık belirteci (Fermantas, Litvanya)
13. φ 174 moleküler ağırlık belirteci (Fermantas, Litvanya)

- 1X Tris-Borik Asit-EDTA (TBE) Çözeltisi Hazırlanışı: 200 ml 5X TBE, distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.
- Stok Etidyum Bromür Çözeltisi Hazırlanışı: 10 mg etidyum bromür 1 ml distile suda çözülerek hazırlandı.

Agoroz Jel Hazırlanışı

İki gram (gr) agoroz %2'lik agoroz jel hazırlamak için hassas terazide tartıldı. 1X TBE çözeltisi ile 100 ml'ye tamamlandı. Mikrodalga fırın kullanılarak kaynatıldı. Agorozun homojen bir şekilde erimesinden ve sıcaklık 60°C' ye düştükten sonra 3 mikrolitre (μl) etidyum bromür eklendi. Hazırlanan karışım elektroforez tepsisine

döküldü. Jel döndükten sonra yatay elektroforez tankına yerleştirildi. Jelin üzerini örtecek şekilde 1X TBE çözeltisinden eklendi.

Genomik DNA Saflaştırılması

Kan örneklerinden genomik DNA saflaştırma işlemi 400 mikrolitre kan kullanılarak robotik DNA izolasyon yöntemiyle izole edildi

ÖR1'de rs2234693 ve rs9340799 Polimorfizmlerini İçeren Bölgenin PZT İle Çoğaltılması:

Aşağıda belirtilen özgül primerler kullanılarak polimorfizmleri içeren bölge PZT yöntemi ile çoğaltıldı. ÖR1 geninin 1361 bç'lik bölgesini çoğaltmak üzere seçilen primer dizileri aşağıda verilmiştir. Tepkime karışımları Tablo 3.1'de verilmiştir.

İleri Primer (forward primer) 5' - CTGCCACCCTATCTGTATC - 3'

Geri Primer (reverse Primer) 5' - ACCCTGGCGTCGATTATCTG - 3'.

Hedef DNA bölgesini çoğaltmak için, tepkime esnasında son konsantrasyonları 10xPZT tamponu, MgCl₂, dNTP, her iki primer ve Taq DNA polimeraz enzimi olacak şekilde stok çözeltilerden Tablo 2' de belirtilen miktarda toplamda 50 µl olmak üzere mikropipet yardımı ile çekildi. Tepkime karışımı 0.5 mililitre (ml)'lik tüplere dağıtıldı ve üzerine saflaştırılan genomik DNA eklendi. Ardından otomatik ısı döngü cihazına yerleştirilerek tepkime gerçekleştirildi.

Tablo 3.1. ÖR1'de rs2234693 ve rs9340799 polimorfizmlerini içeren bölgenin PZT tepkime karışımı

	Stok	Son Konsantrasyon	Toplam Hacim
Steril dH ₂ O	-	-	35.4 µl
Tampon Çözeltisi	X10	X1	5 µl
MgCl ₂	25 mM	2mM	2 µl
dNTP	10 mM	0.2 mM	0.4 µl
İleri Primer (Forward)	100 µM	1 pikomol	1 µl
Geri Primer (Reverse)	100 µM	1 pikomol	1 µl
Taq DNA Polimeraz	5 U/ µl	1 U/50 µl	0.2 µl
Örnek DNA Miktarı	-	-	5 µl

ÖR2'de rs1256049 Polimorfizmlerini İçeren Bölgenin Çoğaltılması

Aşağıda belirtilen özgül primerler kullanılarak polimorfizmleri içeren bölge PZT yöntemi ile çoğaltıldı. ÖR2 geninin 156 bç'lik bölgesini çoğaltmak üzere seçilen primerler aşağıda belirtilmiştir. Tepkime karışımları Tablo 3.2.'de verilmiştir: İleri Primer (forward primer) 5' - TCTTGCTTTCCCCAGGCTTT - 3'
Geri Primer (reverse primer) 5' - ACCTGTCCAGAACAAGATCT - 3'

Tablo 3.2. ÖR2'de rs1256049 polimorfizmlerini içeren bölgenin PZT tepkime karışımı

	Stok	Son Konsantrasyon	Toplam Hacim
Steril dH ₂ O	-	-	35.4 µl
Tampon Çözeltilisi	X10	X1	5 µl
MgCl ₂	25 mM	2mM	2 µl
dNTP	10 mM	0.2 mM	0.4 µl
İleri Primer (Forward)	100 µM	1 pikomol	1 µl
Geri Primer (Reverse)	100 µM	1 pikomol	1 µl
<i>Taq</i> DNA Polimeraz	5 U/ µl	1 U/50 µl	0.2 µl
Örnek DNA Miktarı	-	-	5 µl

ÖR1'de rs2234693 ve rs9340799 Polimorfizmlerini İçeren Bölgenin PZT

Programı

Başlangıç ayrılma işlemi için 94°C'de 10 dakika (dk) bir döngü bunu takiben aşağıda belirtilen program ayarlanarak 40 döngü ve son uzama için ise 72°C'de 15 dk bir döngü olacak şekilde PZT tepkimesi gerçekleştirildi. Ayrılma 94°C'de 30 (saniye) sn primer bağlanması 54°C'de 1 dk 40 döngü uzama 72°C'de 1 dk program sonunda hedef DNA bölgesi çoğaltılmış oldu.

Basamak	Sıcaklık	Zaman
Ayrılma	94 °C	30 sn
Primer Bağlanması	54 °C	1 dk
Uzama	72 °C	1 dk

ÖR2'de rs1256049 Polimorfizmlerini İçeren Bölgenin PZT Programı

Başlangıç ayrılma işlemi için 94°C'de 10 dk bir döngü bunu takiben aşağıda belirtilen program ayarlanarak 40 döngü ve son uzama için ise 72°C'de 15 dk bir döngü olacak şekilde PZT tepkimesi gerçekleştirildi. Ayrılma 94°C'de 30 sn Primer bağlanması 56°C'de 1 dk 40 döngü uzama 72°C'de 1 dk'lık program sonunda hedef DNA bölgesi çoğaltılmış oldu.

Basamak	Sıcaklık	Zaman
Ayrılma	94 °C	30 sn
Primer Bağlanması	56 °C	1 dk
Uzama	72 °C	1 dk

ÖR1'de rs2234693 ve rs9340799 Polimorfizmlerini İçeren Bölgeye Ait PZT Ürünlerinin Analizi

PZT ürünlerinin analizi agaroz jel elektroforez yöntemi ile gerçekleştirildi. Agoroz jel elektroforezi için hazırlanan kimyasal karışımların içerikleri belirtilmiştir. Bu bölge için %2'lik agaroz jel hazırlandı. Agoroz jele PZT ürününden 7 µl alınarak, yükleme boyasıyla mikropipet yardımı ile karıştırılıp jeldeki kuyulara yüklendi. Aynı zamanda kuyulardan birine de ϕ 174 DNA moleküler ağırlık belirteci yüklenip 1 saat 120 volt sabit akımda yürütüldü. Mor ötesi ışık kaynağı altında, moleküler ağırlık belirteci ile karşılaştırılarak 1361 baz çiftlik büyüklüğe denk gelen bant aranarak sonuçlar değerlendirildi. Jel dökümantasyon sistemi ile görüntülenip fotoğrafı çekildi.

ÖR1'de rs2234693 Polimorfizminin Belirlenmesi İçin PZT Ürünlerinin PvuII Restriksiyon Enzimi ile Kesimi

PvuII, *Proteus vulgaris* 'den elde edilen bir restriksiyon enzimidir. Çift zincirli DNA' yı 5'-CAG ↓ CTG-3' 3'-GTC ↑ GAC-5' dizisinden tanıyarak küt uçlu kesim yapmaktadır. PZT ile elde edilen 1361 bc'lik hedef gen bölgesi PvuII restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Bu bölgede timin içeren allel PvuII kesim noktası taşımaktadır. Timinden → sitozone (T→C) bir nükleotid değişimi olması halinde PvuII enziminin tanıdığı bölge ortadan kalkmaktadır. Bu nükleotid değişimi olmayan (TT genotipli) bireylerde 935 ve 426 bc'lik iki bant, heterozigot bireylerde (TC)

genotipli) 1361, 935 ve 426 bç'lik uc bant, her iki allelinde değişim görülen bireylerde (CC genotipli) 1361 bç'lik tek bant görülecektir.

Deneyin Yapılışı

- 1- 0.5 ml' lik ependorf tüpünün içine 15 µl PZT ürünü eklendi.
- 2- 25 µl son hacim içerisinde 10 U/Al PvuII enzimi ve 10X Buffer M eklendi.
- 3- 37°C' de bir saat sonrasında 65°C 15 dk termal ısı döngüleyicisinde inkübe edildi
- 4- İnkübasyon sonrası tüplerden alınan 10 µl kesim ürünü %2' lik agoroz jelle yüklendi.
- 6- %2'lik agoroz jelde φ174 DNA moleküler ağırlık belirteci eşliğinde 40 dk 100 volt sabit akımda yürütüldü.

ÖR1'de rs2234693 Polimorfizminin Belirlenmesi İçin PZT Ürünlerinin XbaI Restriksiyon Enzimi ile Kesimi

XbaI, *Rhodococcus spec. (Xanthomonas campestris)*'ten elde edilen bir restriksiyon enzimidir. Çift zincirli DNA'yı 5'-T ↓ CTAGA-3' 3'-AGATC ↑ T-5' dizisinden tanıyarak yapışkan uçlu kesim yapmaktadır. PZT tepkimesi sonrası 1361 bç'lik PZT ürünü XbaI restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Bu bölgede adenin içeren allel nükleotid kesim noktası taşımaktadır. Adeninden→Guanine (A→G) bir nükleotid değişimi olması halinde XbaI enziminin tanıdığı bölge ortadan kalmaktadır. Bu nükleotid değişimi olmayan (AA genotipli) bireylerde 980 ve 381 bç'lik çift bant, heterozigot bireylerde (AG genotipli) 1361, 980 ve 381 bç'lik uç bant, her iki allelinde değişim görülen bireylerde (GG genotipli) 1361 bç'lik bant görülecektir.

Deneyin Yapılışı

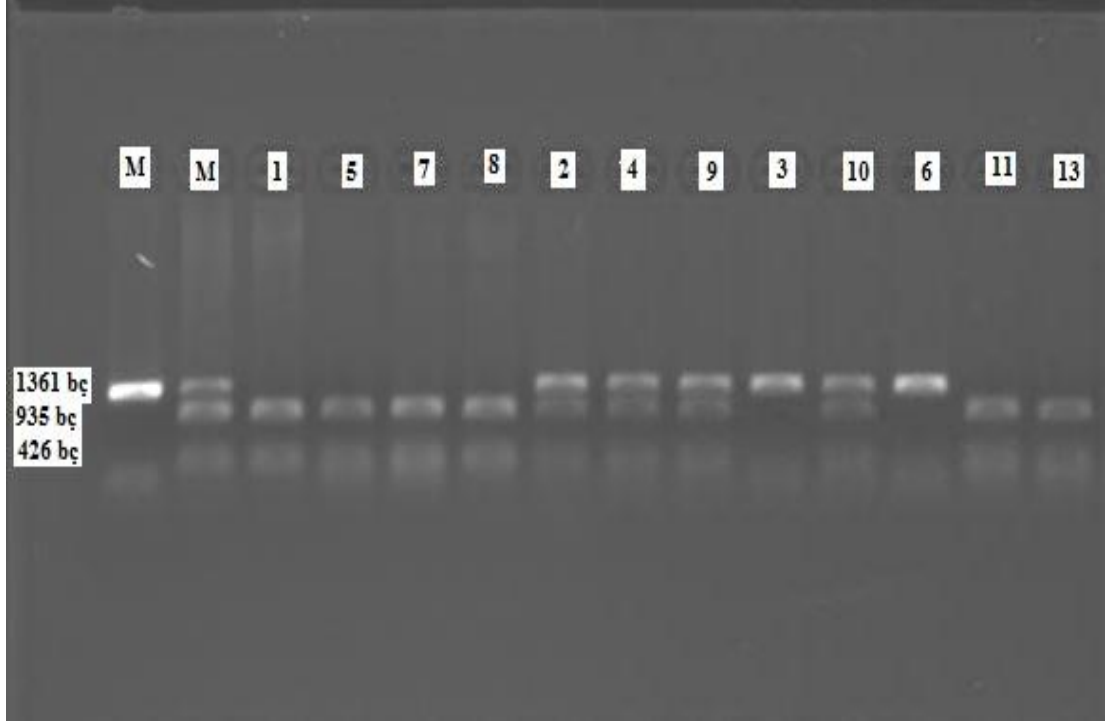
- 1- 0.5 ml' lik ependorf tüpünün içine 15 µl PZT ürünü eklendi.
- 2- 25 µl son hacim içerisinde 10 U/Al XbaI enzimi ve 10X Buffer H eklendi.
- 3- 37°C' de bir saat sonrasında 65°C 15 dk termal ısı döngüleyicisinde inkübe edildi
- 4 İnkübasyon sonrası tüplerden alınan 10 µl kesim ürünü %2'lik agoroz jelle yüklendi.
- 5- %2'lik agoroz jelde φ174 DNA moleküler ağırlık belirteci eşliğinde 40 dk 100 volt sabit akımda yürütüldü.

ÖR2'de rs1256049 Polimorfizminin Belirlenmesi İçin PZT Ürünlerinin RsaI Restriksiyon Enzimi ile Kesimi

RsaI, *Rhodopseudomonas sphaeroides*'den elde edilen bir restriksiyon enzimidir. Çift zincirli DNA'yı 5' - GT↓AC-3' 3' - CA↑TG dizisinden tanıyarak yapışkan uçlu kesim yapmaktadır. PZT tepkimesi sonrası 156 bç'lik PZT ürünü RsaI restriksiyon enzimi ile kesilmiştir. Bu bölgede adenin içeren allel nükleotid kesim noktası taşımaktadır. Adeninden→Guanine (A→G) bir nükleotid değişimi olması halinde RsaI enziminin tanıdığı bölge ortadan kalmaktadır. Bu nükleotid değişimi olmayan (AA genotipli) bireylerde 110 ve 46 bç'lik çift bant, heterozigot bireylerde (AG genotipli) 156, 110 ve 46 bç'lik üç bant, her iki allelinde değişim görülen bireylerde (GG genotipli) 156 bç'lik bant görülecektir.

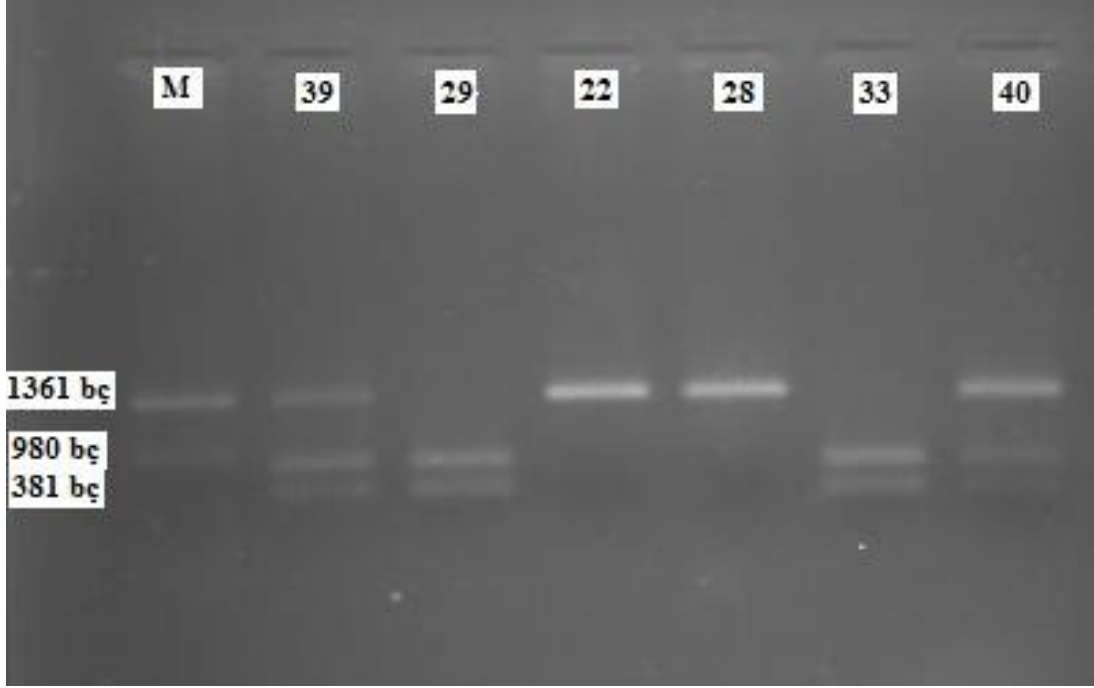
Deneyin Yapılışı:

- 1- 0.5 ml'lik ependorf tüpünün içine 15 µl PZT ürünü eklendi.
- 2- 25 µl son hacim içerisinde 10 U/Al RsaI enzimi ve 10X Buffer L eklendi.
- 3- 37°C' de bir saat sonrasında 65°C 15 dk termal ısı döngüleyicisinde inkübe edildi.
- 4- İnkübasyon sonrası tüplerden alınan 10 µl kesim ürünü %2'lik agoroz jelle yüklendi.
- 5- %2'lik agoroz jelde φ174 DNA moleküler ağırlık belirteci eşliğinde 30 dk 120 volt sabit akımda yürütüldü.



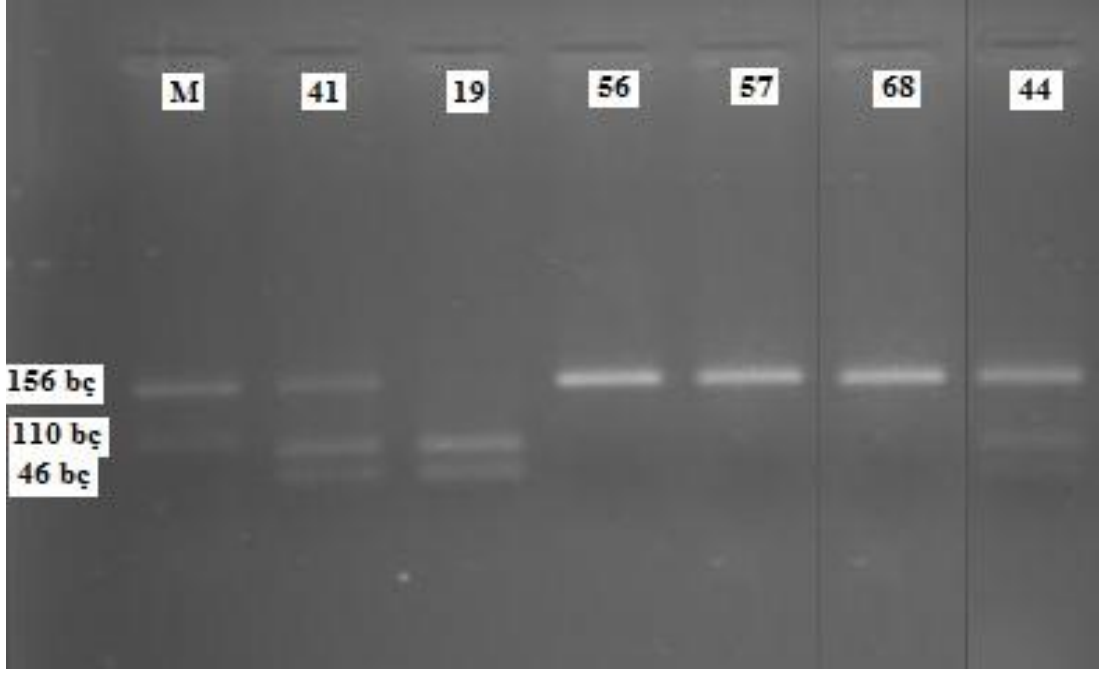
Şekil 3.1. ÖR1'de rs2234693 polimorfizminin belirlenmesi için PZT ürünlerinin PvuII restriksiyon enzimi ile kesimi

Bazı hastaların RFLP yöntemi ile oluşan PvuII restriksiyon enzimi kesim bantları. M, marker DNA'lar, CC genotiplilerde 1361 bp'lik tek bant (3, 6), TC genotiplilerde 1361, 935, 426 bp'lik üç bant (2,4,9,10) ve TT genotiplilerde 935 ve 426 bp'lik iki bant (1,5,7,8,11,13) görülmektedir.



Şekil 3.2. ÖR1'de rs2234693 polimorfizminin belirlenmesi için PZT ürünlerinin XbaI restriksiyon enzimi ile kesimi

Bazı hastaların RFLP yöntemi ile XbaI restriksiyon enzimi kesim bantları. M marker DNA, GG genotiplilerde 1361 bç'lik tek bant (22,28), AG genotiplilerde 1361, 980, 381 bç'lik üç bant (39,40) ve AA genotiplilerde 980 ve 381 bç'lik iki bant (29,33) görülmektedir.



Şekil 3.3. ÖR2'de rs1256049 polimorfizminin belirlenmesi için PZT ürünlerinin RsaI restriksiyon enzimi ile kesimi.

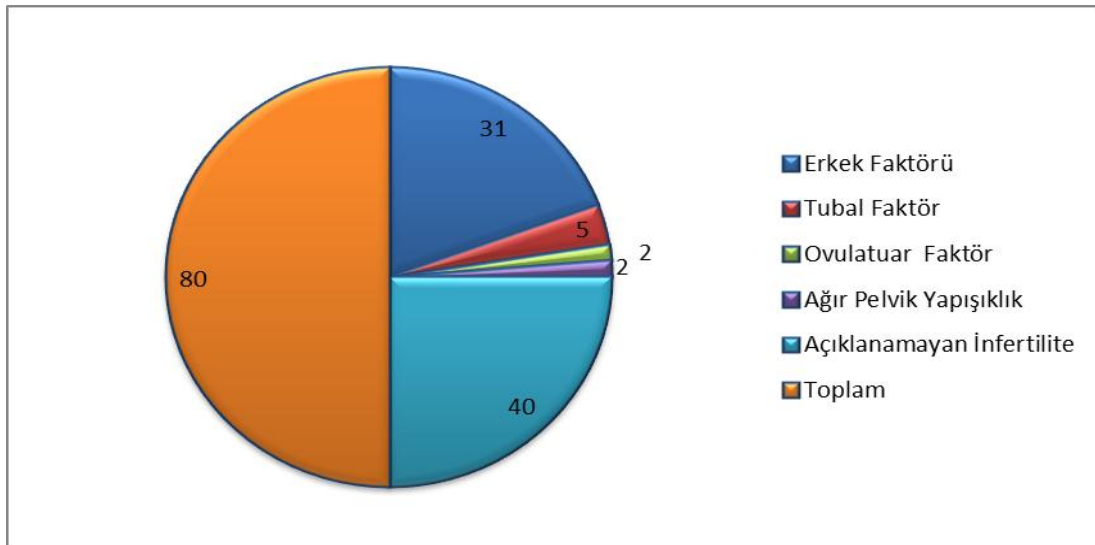
Bazı hastaların RFLP yöntemi ile RsaI restriksiyon enzimi kesim bantları. M marker DNA, GG genotiplilerde 156 bç'lik tek bant (56,57,68), AG genotiplilerde 156, 110, 46 bç'lik üç bant (41, 44) ve AA genotiplilerde 110 ve 46 bç'lik iki bant (19) görülmektedir.

4.BULGULAR

Çalışmamızda 01.06.2011 ve 01.05.2012 tarihleri arasında, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Üreme Sağlığı/Tüp Bebek Ünitesine başvuran diğer faktörleri içeren infertilite (erkek faktör, tubal faktör, ovulatuvar faktör, ağır pelvik yapışıklık) ve açıklanamayan infertilite tanısı alan, IVF/ICSI uygulaması planlanarak OPU ve ET yapılan 80 hasta değerlendirilmeye alındı.

İnfertilite tiplerinin dağılımına baktığımızda 31 kişi erkek faktör, 5 kişi tubal faktör, 2 kişi ovulatuvar faktör, 2 kişi ağır pelvik yapışıklık tanısı ile YÜT programına alındı. Diğer faktörleri içeren infertil grupta toplam 40 kişi kontrol grubunu oluştururken, açıklanamayan infertilite tanısı ile programa alınan 40 kişi ise olgu grubunu oluşturdu.

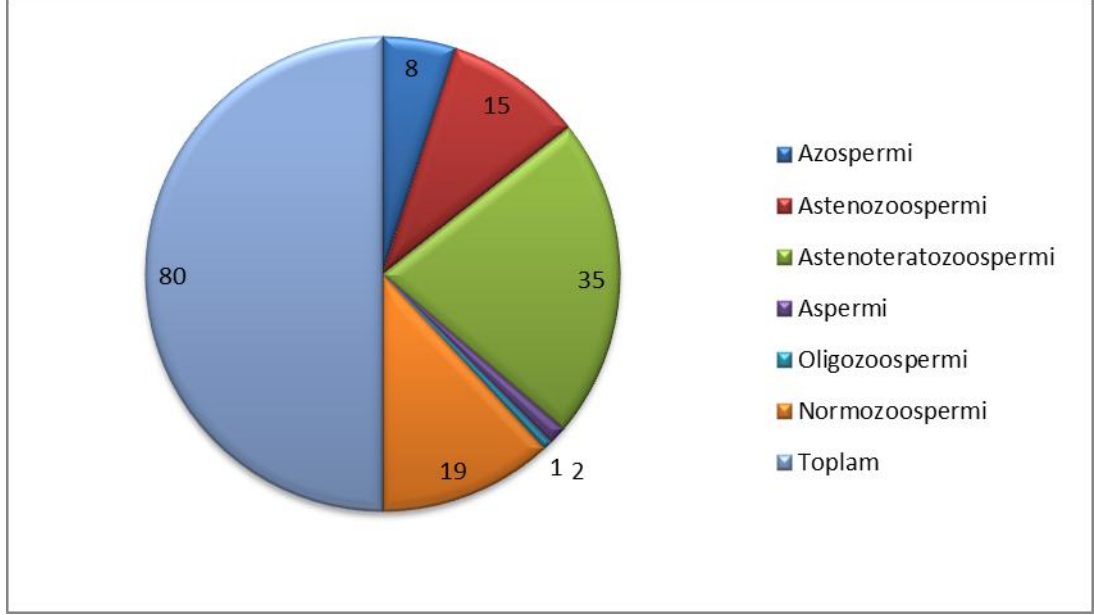
Çalışmaya dahil edilen 80 olgunun infertilite tipi ve sayısı Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Çalışmaya dahil edilen 80 olgunun infertilite tipi ve sayısı

80 hastanın genel özellikleri incelendiğinde yaş ortalamaları 31.21 ± 0.52 (yıl) , BMI ortalamaları 25.49 ± 0.47 (kg/m^2), infertilite sürelerinin ortalamaları 7.9 ± 0.63 (yıl) idi.

80 çift tedavi programı için ilk başvurularında erkeklere spermiogram testi yapılmıştır. Tedavi öncesi değerlendirmelerinde yapılan spermiogram test sonuçları Şekil 4.2.' de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Spermogram sonuçları

Erkek faktör nedenli tedavi uygulanan 31 kadının 8 tanesinde, tubal faktör nedenli tedavi uygulanan 2 hastanın 1 tanesinde, ağır pelvik yapışıklık nedenli tedavi uygulanan 2 kadının 1 tanesinde gebelik oluşurken, ovuluar faktör nedenli tedavi uygulanan 2 kadında gebelik oluşmamıştır. Açıklanamayan infertilite nedenli tedavi uygulanan 40 olgunun da 10 tanesinde gebelik oluşmuştur.

Sonuç olarak 80 kişilik infertil grup içinde 10 tanesi açıklanamayan infertil grupta, 10 tanesi diğer faktörleri içeren infertil grupta olmak üzere toplam 20 kişi gebe kalmıştır (hCG pozitifleşmiş ve fetal kalp hareketi gözlenmiştir).

Tablo 4.1. Seksen olgu içinde gebe kalan ve kalamayan grupta demografik özellikler ve over rezervleri açısından genel karşılaştırma

	Gebelik Var n= 20 $\bar{X}\pm Se$	Gebelik Yok n= 60 $\bar{X}\pm Se$	t/Z değeri	P değeri
Yaş (yıl)	31.85±0.84	31.0±0.64	t=0.695	0.489
BMI (kg/m²)	25.45±1.05	25.50±0.52	Z= -0.234	0.815
FSH (mIU/ml)	5.91±0.63	5.76±0.31	Z=0	1.00
LH (mIU/ml)	4.42±0.69	4.41±0,28	Z= -0.750	0.453
E₂ (pg/ml)	35.03±3.38	46.21±5.66	Z= -0.645	0.519
AMH (ng/ml)	0.3±0.05	0.3±0.03	Z= -0.356	0.722
İnhibin B (pg/ml)	75.81±10.15	127.77±37.61	Z= -1.189	0.234
AFC (sağ)	6.0±0.69	6.38±0.47	Z= -0.364	0.716
AFC (sol)	6.60±0.97	6.31±0.50	Z= -0.006	0.996
Over volümü (sağ) (cm³)	11.45±0.33	10.82±0.14	Z= -2.206	0.052
Over volümü (sol) (cm³)	11.44±0.32	10.85±0.15	Z= -1.912	0.056
Endometrium kalınlık (mm)	4.33±0.28	4.09±0.17	Z= -0.979	0.327
hCG günü EK (mm)	10.36±0.43	9.50±0.24	t=1.717	0.090
Gonadotropin dozu (IU)	2815.0±344.65	2450.41±129.30	t=1.221	0.226
İndüksiyon süresi (gün)	8.90±0.36	8.46±0.22	Z= -1.192	0.233
UAPI	1.51±0.12	1.75±0.10	Z= -1.017	0.309
Toplanan oosit sayısı	12.0±1.48	11.25±1.12	t=0.351	0.727
Matür oosit sayısı	7.60±0.94	6.88±0.78	Z= -1.215	0.224
Embriyo sayısı	1.50±0.11	1.03±0.085	Z= -2.727	0.006**

**P<0.01

Yukarıda belirtilen sonuçlara göre gebe kalan 20 kişi ile gebe kalamayan 60 kişi arasında ortalama yaş, BMI, FSH, LH, E₂, AMH, İnhibin B, antral follikül sayıları, over volümleri, adet 2-5.günleri arasında ve hCG günü endometrium kalınlıkları, uterin arter pulsatilite indeksi, gonadotropin dozu, toplanan oosit sayısı, matür oosit sayısı ve transfer edilen embriyo sayısı açısından yapılan karşılaştırmada sadece embriyo sayısı açısından belirgin anlamlı fark saptanmıştır (p<0.01).

AMH ile yaş, gün 2-5 FSH, LH, E₂, İnhibin B, antral follikül sayısı (sağ-sol), over volümü (sağ-sol), gonadotropin dozu, indüksiyon süresi, toplam oosit sayısı, matür oosit sayısı ve embriyo sayısı arasında korelasyon saptanmamıştır (Tablo 4.2.).

Tablo 4.2. Seksen olguda AMH değerlerinin ilişkili faktörlerle korelasyonu

AMH (ng/ml)	r değeri	p değeri
Yaş (yıl)	-0.180	0.109
FSH (mIU/ml)	-0.097	0.392
LH (mIU/ml)	-0.008	0.944
E ₂ (pg/ml)	-0.009	0.933
İnhibin B (pg/ml)	0.047	0.676
AFC (sağ)	-0.030	0.791
AFC (sol)	-0.061	0.588
Over volümü (sağ) (cm ³)	0.099	0.382
Over volümü (sol) (cm ³)	0.097	0.390
Gonadotropin dozu (IU)	-0.057	0.613
İndüksiyon süresi (gün)	-0.171	0.130
Toplanan oosit sayısı	-0.054	0.634
Matür oosit sayısı	-0.072	0.524
Embriyo sayısı	-0.031	0.786

Diğer faktörleri içeren kontrol grubunun demografik özellikleri ve over rezervleri incelendiğinde gebelik saptanan grupta, yaş ortalaması 31.60±1.54 (yıl), BMI ortalaması 24.60±1.46 (kg/m²) idi. Çalışılan FSH ortalaması 6.39±1.15 (mIU/ml), LH ortalaması 4.45±0.82 (mIU/ml), E₂ ortalaması 31.69±4.09 (pg/ml), AMH ortalaması 0.3±0.06 ng/ml, İnhibin B ortalaması 90.78±14.74 (pg/ml) olarak saptandı. Yine aynı grupta antral follikül sayıları sağ over için 5.20±0.62, sol over için 5.50±1.34, over volümleri sağ over için 10.77±0.49 (cm³), sol over için 10.81±0.40 (cm³) iken endometrium kalınlık ortalaması 4.70±0.50 (mm) olarak hesaplandı.

Açıklanamayan infertilite grubundaki hastaların demografik özellikleri ve over rezervleri incelendiğinde gebelik saptanan grupta, yaş ortalaması 32.10±0.78 (yıl), BMI ortalaması 26.30 ±1.55 (kg/m²) idi. Çalışılan FSH ortalaması 5.44±0.56 (mIU/ml), LH ortalaması 4.40±1.16 (mIU/ml), E₂ ortalaması 38.38±5.39 (pg/ml),

AMH ortalaması 0.4 ± 0.09 (ng/ml), İnhibin B ortalaması 60.84 ± 12.96 (pg/ml) olarak saptanmıştır. Yine aynı grupta antral follikül sayıları sağ over için 6.80 ± 1.23 , sol over için 7.70 ± 1.39 , over volümleri sağ over için 12.13 ± 0.35 (cm³), sol over için 12.08 ± 0.34 (cm³) iken endometrium kalınlık ortalaması 3.94 ± 0.25 (mm) olarak hesaplandı.

İki grup içinde gebe kalanlar arasında yukarıdaki parametreler açısından belirgin anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 4.3.).

Tablo 4.3. Diğer faktörler adı altında(kontrol grubu) ve açıklanamayan infertil hastalardan gebe kalanların ortalama yaş, BMI, ikinci ile beşinci günleri arası ortalama FSH-E₂-LH-AMH ve İnhibin B değerleri ile antral follikül sayıları, over volümleri ve endometrium kalınlıkları açısından karşılaştırılması

	Diğer faktörleri içeren infertil grup Gebelik Var (n=10) $\bar{x}\pm Se$	Açıklanamayan infertil grup Gebelik Var (n=10) $\bar{x}\pm Se$	t/Z değeri	P değeri
Yaş (yıl)	31.60±1.54	32.10±0.78	t= -0.289	0.776
BMI (kg/m²)	24.60 ±1.46	26.30 ±1.55	t= -0.794	0.437
FSH (mIU/ml)	6.39±1.15	5.44±0.56	t= 0.747	0.465
LH (mIU/ml)	4.45±0,82	4.40±1.16	Z= -0.454	0.650
E₂ (pg/ml)	31.69±4.09	38.38±5.39	t= -0.987	0.337
AMH (ng/ml)	0.3±0.06	0.4±0.09	Z= -0.378	0.705
İnhibin B (pg/ml)	90.78±14.74	60.84±12.96	Z= -1.663	0.096
AFC (sağ)	5.20±0.62	6.80±1.23	t= -1.153	0.264
AFC (sol)	5.50±1.34	7.70±1.39	t= -1.138	0.270
Over volümü (sağ) (cm³)	10.77± 0.49	12.13±0.35	Z= -2.231	0.052
Over volümü (sol) (cm³)	10.81± 0.40	12.08±0.34	t= -2.098	0.050
Endometrium kalınlık (mm)	4.70 ±0.50	3.94±0.25	t= 1.397	0.179
hCG günü EK (mm)	10.58±0.53	10.15±0.70	t= 0.486	0.633
UAPI	1.59±0.17	1.42±0.17	t= 0.669	0.512
Toplanan Oosit Sayısı	9.20±2.0	14.80±1.88	t= -2.033	0.057
Matür Oosit Sayısı	6.20±1.39	9.0±1.17	t= -1.535	0.142
Embriyo sayısı	1.40±0.16	1.60±0.16	Z= -0.872	0.383

Diğer faktörleri içeren kontrol grubunun demografik özellikleri ve over rezervleri incelendiğinde gebelik saptanmayan grupta, yaş ortalaması 30.60 ± 1.00 (yıl), BMI ortalaması 25.15 ± 0.75 (kg/m^2) idi. Çalışılan FSH ortalaması 5.83 ± 0.44 (mIU/ml), LH ortalaması 4.54 ± 0.42 (mIU/ml), E_2 ortalaması 43.62 ± 7.58 (pg/ml), AMH ortalaması 0.3 ± 0.04 (ng/ml), İnhibin B ortalaması 106.38 ± 33.76 (pg/ml) olarak saptanmıştır. Yine aynı grupta antral follikül sayıları sağ over için 7.13 ± 0.80 , sol over için 7.13 ± 0.80 , over volümleri sağ over için 10.77 ± 0.23 (cm^3), sol over için 10.81 ± 0.22 (cm^3) iken endometrium kalınlık ortalaması 4.25 ± 0.28 (mm) olarak hesaplandı.

Açıklanamayan infertilite grubundaki hastaların demografik özellikleri ve over rezervleri incelendiğinde gebelik saptanmayan grupta, yaş ortalaması 31.40 ± 0.82 (yıl), BMI ortalaması 25.86 ± 0.74 (kg/m^2) idi. Çalışılan FSH ortalaması 5.70 ± 0.44 (mIU/ml), LH ortalaması 4.27 ± 0.37 (mIU/ml), E_2 ortalaması 48.79 ± 8.53 (pg/ml), AMH ortalaması 0.4 ± 0.05 (ng/ml), İnhibin B ortalaması 149.17 ± 67.71 (pg/ml) olarak saptanmıştır. Yine aynı grupta antral follikül sayıları sağ over için 5.63 ± 0.49 , sol over için 6.60 ± 0.62 , over volümleri sağ over için 10.86 ± 0.19 (cm^3), sol over için 10.89 ± 0.22 (cm^3) iken endometrium kalınlık ortalaması 3.94 ± 0.19 (mm) olarak hesaplandı.

İki grup içinde gebe kalamayanlar arasında yukarıdaki parametreler açısından belirgin anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 4.4.).

Tablo 4.4. Diğer faktörler adı altında (kontrol grubu) ve açıklanamayan infertil hastalardan gebe kalamayanların ortalama yaş, BMI, ikinci ile beşinci günler arası ortalama FSH-E₂-LH-AMH ve İnhibin B değerleri ile antral follikül sayıları, over volümleri ve endometrium kalınlıkları açısından karşılaştırılması

	Diğer faktörleri içeren infertil grup Gebelik Yok (n=30) $\bar{X} \pm Se$	Açıklanamayan infertil grup Gebelik Yok (n=30) $\bar{X} \pm Se$	t/Z değeri	P değeri
Yaş (yıl)	30.60±1.00	31.40±0.82	t= -0.615	0.541
BMI (kg/m²)	25.15±0.75	25.86 ±0.74	Z= -0.624	0.533
FSH (mIU/ml)	5.83±0.44	5.70±0.44	Z= -0.030	0.976
LH (mIU/ml)	4.54±0.42	4.27±0.37	t= 481	0.632
E₂ (pg/ml)	43.62±7.58	48.79±8.53	Z= -1.043	0.297
AMH (ng/ml)	0.3±0.04	0.4±0.05	Z= -1.220	0.223
İnhibin B (pg/ml)	106.38±33.76	149.17±67.71	Z= -1.146	0.252
AFC (sağ)	7.13±0.80	5.63±0.49	Z= -1.094	0.274
AFC (sol)	7.13±0.80	6.60±0.62	Z= -1.087	0.277
Over volümü (sağ) (cm³)	10.77±0.23	10.86±0.19	t= -0.311	0.757
Over volümü (sol) (cm³)	10.81± 0.22	10.89± 0.22	t= -0.240	0.811
Endometrium kalınlık (mm)	4.25 ±0.28	3.94±0.19	Z= -0.200	0.841
hCG EK (mm)	9.65±0.37	9.36±0.34	t= 0.570	0.571
UAPI	1.76±0.14	1.74±0.15	Z= -0.407	0.684
Toplanan Oosit Sayısı	10.90±1.38	11.60±1.80	Z= -0.156	0.876
Matür Oosit Sayısı	6.73±0.99	7.03±1.22	Z= -0.275	0.784
Embriyo sayısı	0.96±0.11	1.10±0.12	Z= -0.795	0.427

Açıklanamayan infertil grup ve diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalanlar ve kalamayanlarda antral follikül, toplanan oosit ve matür oosit sayısı açısından korelasyon olup olmadığı değerlendirildiğinde gebe kalamayan 30'ar

kişilik grupta güçlü korelasyon saptanmıştır (Tablo 4.5.). Gebe kalan 10'ar kişilik grupta ise benzer korelasyona rastlanmamıştır.

Tablo 4.5. Açıklanamayan infertil grup ve diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalamayanlarda antral follikül, toplanan oosit ve matür oosit sayısı ilişkisi

Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalamayanlar (n=30)	AFS (sağ)	AFS (sol)
Toplanan oosit sayısı	r=0.493 p=0.006**	r=0.568 p=0.01*
Matür oosit sayısı	r=0.572 p=0.001**	r=0.691 p=0.000**
Açıklanamayan infertil grupta gebe kalamayanlar (n=30)		
Toplanan oosit sayısı	r=0.487 p=0.006**	r=0.651 p=0.000**
Matür oosit sayısı	r=0.417 p=0.022*	r=0.515 p=0.004**

*p<0.05 ** p<0.001

Diğer faktörleri içeren infertil grup ile açıklanamayan infertil grupta gebe kalan 20 kişi ve kalamayan 60 kişide ayrı ayrı yaş ile birlikte FSH, İnhibin B, antral follikül sayısı, over volümü, gonadotropin dozu, toplam oosit sayısı ve matür oosit sayısı arasındaki ilişki değerlendirildiğinde gebe kalan 20 kişilik grupta belirgin anlamlı farklılık gözlenmezken, gebe kalamayan grupta yaş ile antral follikül sayısı, toplanan oosit sayısı, matür oosit sayısı ve uygulanan gonadotropin dozu arasında belirgin anlamlı farklılık saptanmıştır. Buna göre antral follikül, toplanan oosit ve matür oosit sayısı yaşla birlikte azalırken, uygulanan gonadotropin dozu yaşla birlikte artış göstermekteydi.

Hastalardan kontrollü ovaryen hiperstimülasyon (KOH) programına alınmadan önce yine adetini ikinci ile beşinci günü arası alınan kandan saklanan serum örneklerinden çalışılan VEGF, IL-1 β ve glycodelin düzeyleri açıklanamayan infertil grupta ve diğer faktörleri içeren kontrol grubunda değerlendirmeye alınmıştır.

Diğer faktörleri içeren 40 kişilik kontrol grubunda VEGF düzeylerinin ortalaması 218.69 ± 23.74 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 39.74 ± 6.95 (pg/ml) ve glycodelin düzeylerinin ortalaması 1.57 ± 0.14 (ng/ml) olarak bulundu. Bu grupta gebelik saptanan kişilerde ise VEGF düzeylerinin ortalaması 168.34 ± 36.17 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 31.98 ± 8.72 (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması 2.04 ± 0.49 (ng/ml) şeklinde ölçüldü.

Değerlere göre diğer faktörleri içeren hasta grubundaki 10 gebede VEGF ve IL-1 β düzeylerinin ortalamaları 40 kişilik tüm grubun ortalamalarının altında, glycodelin düzeylerinin ortalamaları 40 kişilik tüm grubun ortalamalarının üzerindeydi. Aynı grupta gebelik saptanmayanlarda VEGF düzeylerinin ortalaması 235.47 ± 28.93 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 42.33 ± 8.82 (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması 1.42 ± 0.10 (ng/ml) şeklinde bulundu. Değerlere göre diğer faktörleri içeren hasta grubunda gebelik oluşmayan 30 kişide VEGF ve IL-1 β düzeylerinin ortalamaları 40 kişilik tüm grubun ortalamalarının üstünde, glycodelin düzeylerinin ortalamaları 40 kişilik tüm grubun ortalamalarının altındaydı (Tablo 4.6.).

Tablo 4.6. Diğer faktörleri içeren grupta gebe kalanlar ve kalamayanların serum ve follikül sıvısındaki sitokin düzeyleri ve birbiriyle ilişkileri

Serum	Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalanlar (n=10) $\bar{X} \pm Se$	Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalamayanlar (n=30) $\bar{X} \pm Se$	t/Z değeri	P değeri
VEGF (pg/ml)	168.34 ± 36.17	235.47 ± 28.93	t= -1.232	0.225
IL-1 β (pg/ml)	31.98 ± 8.72	42.33 ± 8.82	Z= -0.062	0.950
Glycodelin (ng/ml)	2.04 ± 0.49	1.42 ± 0.10	t= 1.862	0.070

OPU günü serum

VEGF (pg/ml)	724.95 ± 255.25	948.53 ± 236.16	Z= -0.750	0.453
IL-1 β (pg/ml)	19.56 ± 3.82	21.67 ± 2.03	t= -0.508	0.615
Glycodelin (ng/ml)	7.32 ± 1.84	11.98 ± 3.89	Z= -1.156	0.248

Tablo 4.6. Diğer faktörleri içeren grupta gebe kalanlar ve kalamayanların serum ve follikül sıvısındaki sitokin düzeyleri ve birbiriyle ilişkileri (devamı)

Follikül sıvısı

VEGF (pg/ml)	2770.58±486,25	2727.48±290.68	t=0.075	0.941
IL-1β (pg/ml)	15.52±1.13	2727.48±290.68	Z= -0.281	0.779
Glycodelin (ng/ml)	19.63±9.51	10.06±2.23	Z= -0.375	0.708

Çalışılan değerler açısından gruplar arasında belirgin anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).

Açıklanamayan infertilite tanısıyla çalışmaya alınan hastalarda VEGF düzeylerinin ortalaması $305.55±28.36$ (pg/ml), IL-1β düzeylerinin ortalaması $31.85±6.21$ (pg/ml) ve glycodelin düzeylerinin ortalaması $2.27±2.60$ (ng/ml) olarak bulundu. Bu grupta gebelik saptanan kişilerde ise VEGF düzeylerinin ortalaması $267.20±57.40$ (pg/ml), IL-1β düzeylerinin ortalaması $26.67±5.13$ (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması $2.15±0.21$ (ng/ml) şeklinde ölçüldü.

Değerlere göre açıklanamayan infertilite tanısıyla çalışmaya alınan hasta grubundaki 10 gebede VEGF, IL-1β ve glycodelin düzeylerinin ortalamaları 40 kişilik tüm grubun ortalamalarının altında izlendi. Aynı grupta gebelik saptanmayanlarda VEGF düzeylerinin ortalaması $318.34±32.85$ (pg/ml), IL-1β düzeylerinin ortalaması $33.57±8.13$ (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması $2.32±0.54$ (ng/ml) şeklinde ölçüldü.

Değerlere göre açıklanamayan infertilite tanısıyla çalışmaya alınan hasta grubunda gebelik oluşmayan 30 kişide VEGF, IL-1β ve glycodelin düzeylerinin ortalamaları 40 kişilik tüm grubun ortalamalarının üstünde izlendi (Tablo 4.7.).

Tablo 4.7. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalanlar ve kalamayanların serum ve follikül sıvısındaki sitokin düzeyleri ve birbiriyle ilişkileri

Serum	Açıklanamayan infertil grupta gebe kalanlar (n=10) $\bar{x} \pm Se$	Açıklanamayan infertil grupta gebe kalamayanlar (n=30) $\bar{x} \pm Se$	t/Z değeri	P değeri
VEGF (pg/ml)	267.20±57.40	318.34±32.85	Z= -0.375	0.708
IL-1 β (pg/ml)	26.67±5.13	33.57±8.13	Z= -0.812	0.417
Glycodelin (ng/ml)	2.15±0.21	2.32±0.54	Z= -1.687	0.092

OPU Günü Serum

VEGF (pg/ml)	427.74±61.97	775.54±204.63	Z= -1.062	0.288
IL-1 β (pg/ml)	25.23±5.21	22.49±3.30	Z= -1.093	0.274
Glycodelin (ng/ml)	8.67±2.23	11.72±3.51	Z= -0.656	0.512

Follikül sıvısı

VEGF (pg/ml)	2049.26±415.60	2672.27±322.30	t= -1.022	0.313
IL-1 β (pg/ml)	15.98±2.56	16.17±1.29	Z= -0.703	0.482
Glycodelin (ng/ml)	6.65±1.69	6.08±0.61	Z= -0.031	0.975

Çalışılan değerler açısından gruplar arasında belirgin anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$).

Açıklanamayan infertilitesi olan 40 kişilik grup ile diğer faktörleri içeren 40 kişilik infertil grup arasında adetini ikinci ile beşinci günü arasında alınan kandan saklanan serum örneklerinden çalışılan VEGF, IL-1 β ve glycodelin düzeyleri bakımından değerlendirme yapıldığında glycodelin ($Z = -2,204$, $p < 0,05$) ve VEGF ($t = -2,348$, $p < 0,05$) düzeylerinde belirgin anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 4.8.).

Tablo 4.8. Açıklanamayan ve diğer faktörleri içeren infertil olgular arasında serum VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri

Serum	Açıklanamayan infertil grup (n=40) $\bar{x} \pm Se$	Diğer faktörleri içeren infertil grup (n=40) $\bar{x} \pm Se$	t/Z değeri	P değeri
VEGF (pg/ml)	305.55 \pm 28.36	218.69 \pm 23.74	t= -2.348	0.021*
IL-1 β (pg/ml)	31.85 \pm 6.21	39.74 \pm 6.95	Z= -0.981	0.326
Glycodelin (ng/ml)	2.27 \pm 2.60	1.57 \pm 0.14	Z= -2.204	0.028*

*p<0.05

Açıklanamayan infertilitesi olan grubun gebeleri ile diğer faktörlere sahip kontrol grubunun gebeleri arasında VEGF, IL-1 β ve glycodelin düzeyleri açısından karşılaştırma yapılmış ve üçü için de belirgin anlamlı farklılık saptanmamıştır (Tablo 4.9.).

Tablo 4.9. Açıklanamayan infertilitesi olan grubun gebeleri ile diğer faktörlere sahip kontrol grubunun gebeleri arasında VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri

Serum	Açıklanamayan infertil grupta gebe kalanlar (n=10) $\bar{x} \pm Se$	Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalanlar (n=10) $\bar{x} \pm Se$	t/Z değeri	P değeri
VEGF (pg/ml)	267.20 \pm 57.40	168.34 \pm 36.17	t= -1.457	0.162
IL-1 β (pg/ml)	26.67 \pm 5.13	31.98 \pm 8.72	Z=-0.302	0.762
Glycodelin (ng/ml)	2.15 \pm 0.21	2.04 \pm 0.49	t= -0.194	0.848

Açıklanamayan infertilitesi olan grupta gebelik oluşmayanlar ile diğer faktörlere sahip kontrol grubunun gebelik oluşmayan olgularında arasında VEGF, IL 1 β ve glycodelin düzeyleri açısından karşılaştırma yapılmış ve VEGF(Z= -2,025, p<0.05) düzeyleri açısından belirgin anlamlı farklılık saptanmıştır (Tablo 4.10.).

Tablo 4.10. Açıklanamayan infertilitesi olan grupta gebelik oluşmayanlar ile diğer faktörlere sahip kontrol grubunun gebelik oluşmayan olgularında arasında VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri

Serum	Açıklanamayan infertil grupta gebelik oluşmayanlar (n=30) $\bar{X}\pm Se$	Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebelik oluşmayanlar (n=30) $\bar{X}\pm Se$	Z değeri	P değeri
VEGF (pg/ml)	318,34 \pm 32,85	235,47 \pm 28,93	-2.025	0.043*
IL-1 β (pg/ml)	33,57 \pm 8,13	42,33 \pm 8,82	-0.887	0.375
Glycodelin (ng/ml)	2,32 \pm 0,54	1,42 \pm 0,10	-1.804	0.071

*p<0.05

GnRH agonist ya da GnRH antagonistleri ve gonadotropinler kullanılarak yapılan kontrollü ovaryen hiperstimülasyon sonrası her iki gruptaki toplam 80 hastaya OPU yapıldı. OPU günü alınan kandan saklanan serum örneklerinden ve toplanan follikül sıvılarından da VEGF, IL-1 β ve glycodelin düzeyleri araştırıldı. Sonuçlar gebelik oluşan ve oluşmayanlar ile GnRH agonisti kullananlar ve GnRH antagonist kullananlar olarak gruplara ayrılarak incelendi.

Buna göre,

Diğer faktörleri içeren 40 kişilik kontrol grubunda OPU günü alınan kandaki VEGF düzeylerinin ortalaması 892.63 \pm 187.35 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 21.15 \pm 1.78 (pg/ml) ve glycodelin düzeylerinin ortalaması 10.82 \pm 2.95 (ng/ml) olarak bulunurken, follikül sıvılarından çalışılan VEGF düzeylerinin ortalaması 2738.25 \pm 246.52 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 15.65 \pm 0.83 (pg/ml) ve glycodelin düzeylerinin ortalaması 12.45 \pm 2.90 (ng/ml) olarak bulundu.

Bu grupta gebelik saptanan kişilerde OPU günü alınan kandaki VEGF düzeylerinin ortalaması 724.95 \pm 255.25 (pg/ml) , IL-1 β düzeylerinin ortalaması 19.56 \pm 3.82 (pg/ml) ve glycodelin düzeylerinin ortalaması 7.32 \pm 1.84 (ng/ml) olarak bulunurken, follikül sıvılarından çalışılan VEGF düzeylerinin ortalaması 2770.58 \pm 486.25 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 15.52 \pm 1.13 (pg/ml) ve glycodelin düzeylerinin ortalaması 19.63 \pm 9.51 (ng/ml) şeklinde ölçüldü.

Aynı grupta gebelik saptanmayanlarda OPU günü alınan kandaki VEGF düzeylerinin ortalaması 948.53 ± 236.16 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 21.67 ± 2.03 (pg/ml) ve glycodeilin düzeylerinin ortalaması 11.98 ± 3.89 (ng/ml) olarak bulunurken, follikül sıvılarından çalışılan VEGF düzeylerinin ortalaması 2727.48 ± 290.68 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 15.69 ± 1.06 (pg/ml) ve glycodeilin düzeylerinin ortalaması 10.06 ± 2.23 (ng/ml) şeklinde bulundu.

Açıklanamayan infertilitesi olan 40 grupta OPU günü alınan kandaki VEGF düzeylerinin ortalaması 688.59 ± 155.42 (pg/ml) , IL-1 β düzeylerinin ortalaması 23.17 ± 2.77 (pg/ml) ve glycodeilin düzeylerinin ortalaması 10.96 ± 2.68 (ng/ml) olarak bulunurken, follikül sıvılarından çalışılan VEGF düzeylerinin ortalaması 2516.52 ± 264.13 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 16.12 ± 1.14 (pg/ml) ve glycodeilin düzeylerinin ortalaması 6.22 ± 0.61 (ng/ml) olarak bulundu.

Bu grupta gebelik saptanan kişilerde OPU günü alınan kandaki VEGF düzeylerinin ortalaması 427.74 ± 61.97 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 25.23 ± 5.21 (pg/ml) ve glycodeilin düzeylerinin ortalaması 8.67 ± 2.23 (ng/ml) olarak bulunurken, follikül sıvılarından çalışılan VEGF düzeylerinin ortalaması 2049.26 ± 415.60 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 15.98 ± 2.56 (pg/ml) ve glycodeilin düzeylerinin ortalaması 6.65 ± 1.69 (ng/ml) şeklinde ölçüldü.

Aynı grupta gebelik saptanmayanlarda OPU günü alınan kandaki VEGF düzeylerinin ortalaması 775.54 ± 204.63 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 22.49 ± 3.30 (pg/ml) ve glycodeilin düzeylerinin ortalaması 11.72 ± 3.51 (ng/ml) olarak bulunurken, follikül sıvılarından çalışılan VEGF düzeylerinin ortalaması 2672.27 ± 290.68 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 16.17 ± 1.29 (pg/ml) ve glycodeilin düzeylerinin ortalaması 6.08 ± 0.61 (ng/ml) şeklinde bulundu.

40 kişilik her iki grubun OPU günü kan ve follikül sıvıları değerleri karşılaştırıldığında follikül sıvısı glycodeilin düzeylerinde belirgin anlamlı farklılık saptanmıştır ($Z = -2.613$, $p < 0.01$) (Tablo 4.11.).

Tablo 4.11. Açıklanamayan ve diğer faktörleri içeren infertil olgular arasında follikül sıvılarında VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri

Follikül sıvısı	Açıklanamayan infertil grup (n=40) $\bar{X}\pm Se$	Diğer faktörleri içeren infertil grup (n=40) $\bar{X}\pm Se$	t/Z değeri	P değeri
VEGF (pg/ml)	2516.52 \pm 264.13	2738.25 \pm 246.52	t= 0.614	0.541
IL-1 β (pg/ml)	16.12 \pm 1.14	15.65 \pm 5.30	Z= -0.895	0.371
Glycodelin (ng/ml)	6.22 \pm 0.61	12.45 \pm 2.90	Z= -2.613	0.009*

*p<0.01

Açıklanamayan infertilitesi olan grubun gebeleri ile diğer faktörlere sahip kontrol grubunun gebeleri arasında OPU günü serum ve follikül sıvısı VEGF, IL-1 β ve glycodelin düzeyleri açısından karşılaştırma yapılmış ve üçü için de belirgin anlamlı farklılık saptanmamıştır (Tablo 4.12.).

Tablo 4.12. Açıklanamayan infertilitesi olan grubun gebeleri ile diğer faktörlere sahip kontrol grubunun gebeleri arasında OPU günü serum ve follikül sıvısı VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri

OPU günü Serum	Açıklanamayan infertil grupta gebe kalanlar (n=10) $\bar{X}\pm Se$	Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalanlar (n=10) $\bar{X}\pm Se$	t/Z değeri	P değeri
VEGF (pg/ml)	427.74 \pm 61.97	724.95 \pm 255.25	Z= -227	0.821
IL-1 β (pg/ml)	25.23 \pm 5.21	19.56 \pm 3.82	t= -0.876	0.393
Glycodelin (ng/ml)	8.67 \pm 2.23	7.32 \pm 1.84	Z= -0.680	0.496
Follikül sıvısı				
VEGF (pg/ml)	2049.26 \pm 415.60	2770.58 \pm 486.25	t=1.128	0.274
IL-1 β (pg/ml)	15.98 \pm 2.56	15.52 \pm 1.13	Z= -0.832	0.406
Glycodelin (ng/ml)	6.65 \pm 1.69	19.63 \pm 9.51	Z= -1.361	0.174

Açıklanamayan infertilitesi olan grupta gebelik oluşmayan olgular ile diğer faktörlere sahip kontrol grubunun gebelik oluşmayan olguları arasında OPU günü

serum ve follikül sıvısı VEGF, IL-1 β ve glycodelin düzeyleri açısından karşılaştırma yapılmış ve follikül sıvısı glycodelin düzeyleri arasında belirgin anlamlı farklılık saptanmıştır (Z= -2.218, p<0.05) (Tablo 4.13.).

Tablo 4.13. Açıklanamayan infertilitesi olan grupta gebelik oluşmayan olgular ile diğer faktörlere sahip kontrol grubunun gebelik oluşmayan olguları arasında OPU günü serum ve follikül sıvısı VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri

OPU günü	Açıklanamayan infertil grupta gebelik oluşmayanlar (n=30)	Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebelik oluşmayanlar (n=30)	t/Z değeri	P değeri
Serum	$\bar{x} \pm Se$	$\bar{x} \pm Se$		
VEGF (pg/ml)	775.54 \pm 204.63	948.53 \pm 236.16	Z= -0.798	0.425
IL-1 β (pg/ml)	22.49 \pm 3.30	21.67 \pm 2.03	Z= -0.857	0.391
Glycodelin (ng/ml)	11.72 \pm 3.51	11.98 \pm 3.89	Z= -1.782	0.075
Follikül sıvısı				
VEGF (pg/ml)	2672.27 \pm 322.30	2727.48 \pm 290.68	t= 0.127	0.899
IL-1 β (pg/ml)	16.17 \pm 1.29	15.69 \pm 1.06	Z=0.370	0.712
Glycodelin (ng/ml)	6.08 \pm 0.61	10.06 \pm 2.23	Z= -2.218	0.027*

*p<0.05

80 kişilik çalışma grubunda toplam gebe kalan ve kalamayanlar arasında çalışılan değerler açısından serum ve follikül sıvılarında VEGF, IL-1 β ve glycodelin seviyeleri açısından belirgin anlamlı farklılık saptanmamıştır (Tablo 4.14.).

Tablo 4.14. Seksen kişilik çalışma grubunda toplam gebe kalanlar ile kalamayanlar arasında serum ve follikül sıvısındaki VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri ve birbiriyle ilişkileri

Serum	Gebe kalanlar n=20 $\bar{x}\pm Se$	Gebe kalamayanlar n=60 $\bar{x}\pm Se$	t/Z değeri	P değeri
VEGF (pg/ml)	217.77 \pm 34.91	276.91 \pm 22.36	Z= -1.111	0.267
IL-1 β (pg/ml)	29.32 \pm 4.96	37.95 \pm 5.97	Z= -0.622	0.534
Glycodelin (ng/ml)	2.09 \pm 0.26	1.87 \pm 0.28	Z= -1.884	0.060

OPU günü serum

VEGF (pg/ml)	576.34 \pm 132.29	862.03 \pm 155.32	Z= -1.367	0.172
IL-1 β (pg/ml)	22.39 \pm 3.21	22.08 \pm 1.92	Z= -0.222	0.824
Glycodelin (ng/ml)	8.00 \pm 1.42	11.85 \pm 2.59	Z= -1.150	0.250

Follikül sıvısı

VEGF (pg/ml)	2409.92 \pm 322.11	2699.87 \pm 215.19	t= -0.695	0.489
IL-1 β (pg/ml)	15.75 \pm 1.36	15.93 \pm 0.83	Z= -0.528	0.598
Glycodelin (ng/ml)	13.14 \pm 4.93	8.07 \pm 1.17	Z= -0.006	0.996

hCG günü transvajinal ultrasonografi ile endometrium kalınlıkları, OPU günü uterin arter pulsatilite indeksleri değerlendirildi. Açıklanamayan infertilite ve diğer faktörlere sahip infertil olgulardaki ortalama değerler hesaplandı. Her iki grupta da gebelik oluşarlarda oluşmayanlarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak belirgin anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 4.15.,4.16.).

Tablo 4.15. Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebelik oluşarl ve oluşmayanlarda hCG günü EK ve UAPI değerleri

USG	Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalanlar (n=10) $\bar{x}\pm Se$	Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalamayanlar (n=30) $\bar{x}\pm Se$	t değeri	P değeri
hCG günü EK (mm)	10.58 \pm 0.53	9.65 \pm 0.37	1.305	0.200
UA PI	1.59 \pm 0.17	1.76 \pm 0.14	-0.637	0.528

Tablo 4.16. Açıklanamayan infertil grupta gebelik oluşanlar ve oluşmayanlarda hCG günü EK ve UAPI değerleri

USG	Açıklanamayan infertil grupta gebelik oluşanlar (n=10) $\bar{X}\pm Se$	Açıklanamayan infertil grupta gebelik oluşmayanlar (n=30) $\bar{X}\pm Se$	t/Z değeri	P değeri
hCG günü EK (mm)	10.15±0.70	9.36±0.34	t= 1.101	0.278
UA PI	1.42±0.17	1.74±0.15	Z= -0.906	0.365

Sonuçlarda görüldüğü gibi gebe kalan grupta uterin arter pulsatilite indeksleri kalamayanlara göre daha düşük saptanırken, hCG günü endometriümları gebe kalan olgularda kalamayanlara göre daha kalın saptandı ancak belirgin anlamlı bir fark yoktu.

Her iki hasta grubuna uygulanan kontrollü ovaryen hiperstimülasyon protokollerine göre (GnRH agonist/antagonist) adetini ikinci ile beşinci günü arası ve OPU günü alınan kandan saklanan serum ve toplanan follikül sıvılarındaki VEGF, IL-1 B ve Glycodelin düzeyleri değerlendirildi. Her iki protokole göre bu belirteçlerin düzeyleri arasında farklılık saptanıp saptanmadığı istatistiksel olarak hesaplandı.

80 hasta GnRH agonisti ve antagonisti kullananlar olmak üzere iki gruba ayrılarak incelendi. Gebe kalanlar ve kalamayanlarda VEGF, IL-1 β ve glycodelin düzeyleri değerlendirildi (Tablo 4.17., 4.18.).

Tablo 4.17. GnRH agonisti kullanan grupta gebe kalanlar ve kalamayanlar arasında gün 2-5 ve OPU günü serum ve follikül sıvısında VEGF, IL 1 β ve Glycodelin düzeylerinin karşılaştırılması

	Gebelik Var n=10 $\bar{X}\pm Se$	Gebelik Yok n=33 $\bar{X}\pm Se$	t/Z değeri	P değeri
Serum				
VEGF (pg/ml)	180.32±40.82	258.32±31.31	Z= -1.064	0.287
IL-1 β (pg/ml)	36.97±9.21	40.16±7.63	Z= -0.661	0.508
Glycodelin (ng/ml)	2.10±0.47	1.68±0.14	t=1.175	0.247

Tablo 4.17. GnRH agonisti kullanan grupta gebe kalanlar ve kalamayanlar arasında gün 2-5 ve OPU günü serum ve follikül sıvısında VEGF, IL 1 β ve Glycodelin düzeylerinin karşılaştırılması (devamı)

OPU Günü Serum				
VEGF (pg/ml)	807.70 \pm 243.18	871.86 \pm 212.28	Z= -0.086	0.931
IL-1 β (pg/ml)	22.47 \pm 3.68	21.25 \pm 2.37	Z= -0.546	0.585
Glycodelin (ng/ml)	8.15 \pm 1.70	14.43 \pm 3.79	Z= -0.676	0.499
Follikül Sıvısı				
VEGF (pg/ml)	2583.24 \pm 536.23	3056.88 \pm 278.69	t= -0.809	0.423
IL-1 β (pg/ml)	15.61 \pm 1.66	15.70 \pm 1.10	Z= -0.057	0.954
Glycodelin (ng/ml)	7.66 \pm 2.49	7.39 \pm 0.59	Z= -1.021	0.307

Tablo 4.18. GnRH antagonisti kullanan grupta gebe kalanlar ve kalamayanlar arasında gün 2-5 ve OPU günü serum ve follikül sıvısında VEGF, IL 1 β ve Glycodelin düzeylerinin karşılaştırılması

	Gebelik Var n=10 $\bar{x}\pm Se$	Gebelik Yok n=27 $\bar{x}\pm Se$	t/Z değeri	P değeri
Serum				
VEGF (pg/ml)	255.23 \pm 56.28	299.62 \pm 31.78	t= -0.711	0.482
IL-1 β (pg/ml)	21.68 \pm 2.48	35.25 \pm 9.58	Z= -0.445	0.657
Glycodelin (ng/ml)	2.09 \pm 0.27	2.10 \pm 0.60	Z= -1.710	0.087
OPU Günü Serum				
VEGF (pg/ml)	344.99 \pm 53.56	850.02 \pm 232.07	Z= -1.676	0.094
IL-1 β (pg/ml)	22.32 \pm 5.47	23.09 \pm 3.18	Z= -0.342	0.732
Glycodelin (ng/ml)	7.85 \pm 2.36	8.70 \pm 3.42	Z= -0.787	0.431
Follikül Sıvısı				
VEGF (pg/ml)	2236.60 \pm 379.28	2263.53 \pm 321.52	t= -0.047	0.963
IL-1 β (pg/ml)	15.89 \pm 2.25	16.22 \pm 1.27	Z= -0.855	0.393
Glycodelin (ng/ml)	18.62 \pm 9.47	8.90 \pm 2.52	Z= -1.197	0.231

Her iki grupta gebe kalanlar ve kalamayanlar arasında serum ve follikül sıvılarında VEGF, IL-1 β ve glycodelin düzeyleri arasında belirgin anlamlı fark saptanmadı (p>0.05).

Diğer faktörleri içeren 40 kişilik infertil grupta 25 kişiye GnRH agonisti, 15 kişiye GnRH antagonist protokolü uygulandı. Her iki protokole göre yapılan değerlendirmede OPU günü serumda çalışılan glycodelin miktarları arasında istatistiksel olarak belirgin fark saptandı ($Z = -3.059$, $p < 0.01$). Agonist kullanan grupta OPU günü serum glycodelin miktarının ortalama değeri 9.20 ± 3.29 (ng/ml) iken antagonist kullanan grupta 12.40 ± 4.12 (ng/ml) olarak bulundu.

Açıklanamayan infertilitesi olan 40 kişilik grupta 18 kişiye GnRH agonisti, 22 kişiye GnRH antagonist protokolü uygulandı. Toplanan follikül sıvılarından çalışılan VEGF değerleri arasında iki tedavi protokolü arasında istatistiksel olarak belirgin farklılık saptandı ($Z = -2.928$, $p < 0.01$). Agonist kullanan grupta follikül sıvısı VEGF miktarının ortalama değeri 3299.01 ± 388.77 (pg/ml) iken antagonist kullanan grupta 1876.30 ± 303.46 (pg/ml) olarak bulundu.

Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalan 10 kişi kullandıkları ovulasyon indüksiyon protokolüne göre kendi aralarında değerlendirildi. 6 kişiye agonist 4 kişiye antagonist protokol uygulanmıştı. GnRH agonisti kullanan grupta adetle ilgili ikinci ile beşinci günü arasında alınan kandan çalışılan serum VEGF düzeylerinin ortalaması 138.29 ± 40.53 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 38.01 ± 14.21 (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması 2.18 ± 0.81 (ng/ml) olarak bulunurken, GnRH antagonisti kullanan grupta ise VEGF düzeylerinin ortalaması 213.41 ± 67.68 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 22.92 ± 4.47 (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması 1.83 ± 0.43 (ng/ml) olarak bulundu. İki grup arasında bu değerler için belirgin anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4.19.).

Tablo 4.19. Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalanlar arasında GnRH agonisti ve antagonisti kullananlarda serum VEGF, IL 1 β ve Glycodelin düzeyleri

Serum	GnRH Agonisti kullananlar (n=6) $\bar{x} \pm Se$	GnRH Antagonisti kullananlar (n=4) $\bar{x} \pm Se$	Z değeri	P değeri
VEGF (pg/ml)	138.29 ± 40.53	213.41 ± 67.68	-0.853	0.394
IL-1 β (pg/ml)	38.01 ± 14.21	22.92 ± 4.47	0	1.00
Glycodelin (ng/ml)	2.18 ± 0.81	1.83 ± 0.43	-0.213	0.831

Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalanların GnRH agonisti kullanan grubunda OPU günü serum VEGF 997.92 ± 391.93 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 22.83 ± 5.40 (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması 10.13 ± 2.46 (ng/ml) olarak bulunurken GnRH antagonisti kullananlarda OPU günü serum VEGF 315.50 ± 107.08 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 14.67 ± 4.82 (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması 3.10 ± 0.68 (ng/ml) olarak bulundu.

Bu grubun GnRH agonisti kullanan grubunda follikül sıvılarından çalışılan VEGF 2957.88 ± 766.12 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 15.25 ± 1.33 (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması 9.51 ± 4.06 (ng/ml) olarak saptanırken GnRH antagonisti kullananlarda VEGF 2489.63 ± 511.96 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 15.93 ± 2.24 (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması 34.81 ± 22.56 (ng/ml) olarak saptandı.

OPU günü serum ortalama değerleri ile follikül sıvısı değerleri arasında belirgin anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4.20.).

Tablo 4.20. Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalanlar arasında GnRH agonisti ve antagonisti kullananlarda OPU günü serum ve follikül sıvılarında VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri

OPU Günü Serum	GnRH Agonisti kullananlar(n=6) $\bar{X} \pm Se$	GnRH Antagonisti kullananlar(n=4) $\bar{X} \pm Se$	Z değeri	P değeri
VEGF (pg/ml)	997.92 \pm 391.93	315.50 \pm 107.08	-1.279	0.201
IL-1 β (pg/ml)	22.83 \pm 5.40	14.67 \pm 4.82	-1.066	0.286
Glycodelin (ng/ml)	10.13 \pm 2.46	3.10 \pm 0.68	-1.279	0.055
Follikül Sıvısı				
VEGF (pg/ml)	2957.88 \pm 766.12	2489.63 \pm 511.96	-0.426	0.670
IL-1 β (pg/ml)	15.25 \pm 1.33	15.93 \pm 2.24	0	1.00
Glycodelin (ng/ml)	9.51 \pm 4.06	34.81 \pm 22.56	-0.640	0.522

Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebelik oluşmayan 30 kişi kullandıkları ovulasyon indüksiyon protokolüne göre kendi aralarında değerlendirildi. 19 kişiye agonist 11 kişiye antagonist protokol uygulanmıştı.

GnRH agonisti kullanan grupta adetın ikinci ile beşinci günü arasında alınan kandan çalışılan serum VEGF düzeylerinin ortalaması 232.80 ± 39.79 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 43.63 ± 11.12 (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması 1.49 ± 0.13 (ng/ml) olarak bulunurken, GnRH antagonisti kullanan grupta ise VEGF düzeylerinin ortalaması 240.10 ± 41.15 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 40.08 ± 15.18 (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması 1.29 ± 0.17 (ng/ml) olarak bulundu. İki grup arasında bu değerler için belirgin anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4.21)

Tablo 4.21. Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalamayanlar arasında GnRH agonisti ve antagonisti kullananlarda serum VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri

Serum	GnRH Agonisti kullananlar (n=19) $\bar{x} \pm Se$	GnRH Antagonisti kullananlar (n=11) $\bar{x} \pm Se$	t/Z değeri	P değeri
VEGF (pg/ml)	232.80 ± 39.79	240.10 ± 41.15	t= -0.120	0.906
IL-1 β (pg/ml)	43.63 ± 11.12	40.08 ± 15.18	Z= -0.796	0.426
Glycodelin (ng/ml)	1.49 ± 0.13	1.29 ± 0.17	Z= 0.928	0.361

Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebelik oluşmayanların GnRH agonisti kullanan grubunda OPU günü serum VEGF 1113.08 ± 358.60 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 20.91 ± 2.39 (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması 17.43 ± 5.82 (ng/ml) olarak bulunurken GnRH antagonisti kullananlarda OPU günü serum VEGF 664.29 ± 168.95 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 23.0 ± 3.82 (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması 2.57 ± 0.64 (ng/ml) olarak bulundu. OPU günü serum glycodelin miktarlarının ortalama değerlerine göre belirgin anlamlı fark saptandı (Z= -2.604, p<0.01).

Bu grubun GnRH agonisti kullanan grubunda follikül sıvılarından çalışılan VEGF 2609.47 ± 347.78 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 16.59 ± 1.61 (pg/ml) , glycodelin düzeylerinin ortalaması 7.26 ± 0.71 (ng/ml) olarak saptanırken GnRH antagonisti kullananlarda VEGF 2931.31 ± 534.48 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 14.14 ± 0.66 (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması 14.90 ± 5.83

(ng/ml) olarak saptandı. Bu değerler arasında belirgin anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4.22.).

Tablo 4.22. Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalamayanlar arasında OPU günü serum ve follikül sıvılarında VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri

OPU Günü	GnRH Agonisti	GnRH Antagonisti	t/Z değeri	P değeri
Serum	kullananlar (n=19)	kullananlar (n=11)		
	$\bar{x}\pm Se$	$\bar{x}\pm Se$		
VEGF (pg/ml)	1113.08 \pm 358.60	664.29 \pm 168.95	Z= -0.796	0.426
IL-1 β (pg/ml)	20.91 \pm 2.39	23.0 \pm 3.82	t= -0.488	0.629
Glycodelin (ng/ml)	17.43 \pm 5.82	2.57 \pm 0.64	Z= -2.604	0.009*
Folikül Sıvısı				
VEGF (pg/ml)	2609.47 \pm 347.78	2931.31 \pm 534.48	t= -0.527	0.602
IL-1 β (pg/ml)	16.59 \pm 1.61	14.14 \pm 0.66	Z= -0.753	0.451
Glycodelin (ng/ml)	7.26 \pm 0.71	14.90 \pm 5.83	Z= -0.624	0.533

*p<0.01

Açıklanamayan infertil grupta gebe kalan 10 kişi kullandıkları ovulasyon indüksiyon protokolüne göre kendi aralarında değerlendirildi. 4 kişiye agonist 6 kişiye antagonist protokol uygulanmıştı.

GnRH agonisti kullanan grupta adetini ikinci ile beşinci günü arasında alınan kandan çalışılan serum VEGF düzeylerinin ortalaması 243.35 \pm 78.64 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 35.41 \pm 11.41 (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması 1.98 \pm 0.14 (ng/ml) olarak bulunurken, GnRH antagonisti kullanan grupta ise VEGF düzeylerinin ortalaması 283.10 \pm 85.34 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 20.85 \pm 3.18 (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması 2.26 \pm 0.36 (ng/ml) olarak bulundu. Gruplar arası belirgin anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 4.23).

Tablo 4.23. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalanlar arasında GnRH agonisti ve antagonist kullanarlarda serum VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri

Serum	GnRH Agonisti kullananlar(n=4) $\bar{x}\pm Se$	GnRH Antagonisti kullananlar(n=6) $\bar{x}\pm Se$	Z değeri	P değeri
VEGF (pg/ml)	243.35 \pm 78.64	283.10 \pm 85.34	-0.231	0.831
IL-1 β (pg/ml)	35.41 \pm 11.41	20.85 \pm 3.18	-1.492	0.136
Glycodelin (ng/ml)	1.98 \pm 0.14	2.26 \pm 0.36	-0.855	0.392

Açıklanamayan infertil grupta gebe kalanların GnRH agonisti kullanan grubunda OPU günü serum VEGF 522.37 \pm 119.40 (pg/ml) , IL-1 β düzeylerinin ortalaması 21.94 \pm 5.33 (pg/ml) , glycodelin düzeylerinin ortalaması 5.17 \pm 1.32 (ng/ml) olarak bulunurken GnRH antagonisti kullarlarda OPU günü serum VEGF 364.65 \pm 61.87 (pg/ml) , IL-1 β düzeylerinin ortalaması 27.42 \pm 8.22 (pg/ml) , glycodelin düzeylerinin ortalaması 11.01 \pm 3.40 (ng/ml) olarak bulundu.

Bu grubun GnRH agonisti kullanan grubunda follikül sıvılarından çalışılan VEGF 2021.27 \pm 716.77 (pg/ml) , IL-1 β düzeylerinin ortalaması 16.16 \pm 4.01 (pg/ml) , glycodelin düzeylerinin ortalaması 4.88 \pm 0.99 (ng/ml) olarak saptanırken GnRH antagonisti kullarlarda VEGF 2067.92 \pm 559.02 (pg/ml) , IL-1 β düzeylerinin ortalaması 15.86 \pm 3.64 (pg/ml) , glycodelin düzeylerinin ortalaması 7.83 \pm 2.74 (ng/ml) olarak saptanırken gruplar arasında belirgin anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 4.24.).

Tablo 4.24. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalanlar arasında OPU günü serum ve follikül sıvılarında VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri

OPU Günü Serum	GnRH Agonisti kullananlar (n=4) $\bar{x}\pm Se$	GnRH Antagonisti kullananlar (n=6) $\bar{x}\pm Se$	Z değeri	P değeri
VEGF (pg/ml)	522.37 \pm 119.40	364.65 \pm 61.87	-1.492	0.136
IL-1 β (pg/ml)	21.94 \pm 5.33	27.42 \pm 8.22	-0.213	0.831
Glycodelin (ng/ml)	5.17 \pm 1.32	11.01 \pm 3.40	-1.279	0.201

Tablo 4.24. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalanlar arasında OPU günü serum ve follikül sıvılarında VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri (devamı)

Folikül Sıvısı				
VEGF (pg/ml)	2021.27 \pm 716.77	2067.92 \pm 559.02	-0.426	0.670
IL-1 β (pg/ml)	16.16 \pm 4.01	15.86 \pm 3.64	0	1.00
Glycodelin (ng/ml)	4.88 \pm 0.99	7.83 \pm 2.74	-0.853	0.394

Açıklanamayan infertil grupta gebe kalamayan 30 kişi kullandıkları ovulasyon indüksiyon protokolüne göre kendi aralarında değerlendirildi. 14 kişiye agonist, 16 kişiye antagonist protokol uygulanmıştı.

GnRH agonisti kullanan grupta adetini ikinci ile beşinci günü arasında alınan kandan çalışılan serum VEGF düzeylerinin ortalaması 292.96 \pm 50.55 (pg/ml) , IL-1 β düzeylerinin ortalaması 35.45 \pm 10.13 (pg/ml) , glycodelin düzeylerinin ortalaması 1.93 \pm 0.27 (ng/ml) olarak bulunurken, GnRH antagonist kullanan grupta ise VEGF düzeylerinin ortalaması 340.54 \pm 43.65 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 31.93 \pm 12.70 (pg/ml) , glycodelin düzeylerinin ortalaması 2.66 \pm 1.00 (ng/ml) olarak bulundu. Gruplar belirgin anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 4.25.).

Tablo 4.25. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalamayanlar arasında GnRH agonisti ve antagonist kullananlarda serum VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri

Serum	GnRH Agonisti kullananlar (n=14) $\bar{x}\pm Se$	GnRH Antagonisti kullananlar(n=16) $\bar{x}\pm Se$	Z değeri	P değeri
VEGF (pg/ml)	292.96 \pm 50.55	340.54 \pm 43.65	-0.956	0.339
IL-1 β (pg/ml)	35.45 \pm 10.13	31.93 \pm 12.70	-0.249	0.803
Glycodelin (ng/ml)	1.93 \pm 0.27	2.66 \pm 1.00	-0.437	0.662

Açıklanamayan infertil grupta gebe kalamayanların GnRH agonisti kullanan grubunda OPU günü serum VEGF 544.49 ± 74.18 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 21.72 ± 4.68 (pg/ml) , glycodelin düzeylerinin ortalaması 10.36 ± 4.19 (ng/ml) olarak bulunurken GnRH antagonisti kullanalarda OPU günü serum VEGF 977.70 ± 376.53 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 23.16 ± 4.78 (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması 12.92 ± 5.58 (ng/ml) olarak bulundu.

Bu grubun GnRH agonisti kullanan grubunda follikül sıvılarından çalışılan VEGF 3664.08 ± 417.26 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 14.49 ± 1.42 (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması 7.58 ± 1.03 (ng/ml) olarak saptanırken GnRH antagonisti kullananlarda VEGF 1804.44 ± 370.07 (pg/ml), IL-1 β düzeylerinin ortalaması 17.64 ± 2.06 (pg/ml), glycodelin düzeylerinin ortalaması 4.77 ± 0.57 (ng/ml) olarak saptandı.

Follikül sıvısı VEGF ve glycodelin ortalama değerleri arasında belirgin anlamlı fark saptanmıştır ($t=3.347$ $p<0.01$, $t= 2.464$ $p<0.05$) (Tablo 4.26.).

Tablo 4.26. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalamayanlar arasında OPU günü serum ve follikül sıvılarında VEGF, IL-1 β ve Glycodelin düzeyleri

OPU günü Serum	GnRH Agonisti kullananlar (n=14) $\bar{x} \pm Se$	GnRH Antagonisti kullananlar(n=16) $\bar{x} \pm Se$	t/Z değeri	P değeri
VEGF (pg/ml)	544.49 ± 74.18	977.70 ± 376.53	Z= -0.125	0.901
IL-1 β (pg/ml)	21.72 ± 4.68	23.16 ± 4.78	Z= -0.374	0.708
Glycodelin (ng/ml)	10.36 ± 4.19	12.92 ± 5.58	Z= -0.956	0.339
Follikül sıvısı				
VEGF (pg/ml)	3664.08 ± 417.26	1804.44 ± 370.07	t=3.347	0.002**
IL-1 β (pg/ml)	14.49 ± 1.42	17.64 ± 2.06	Z= -1.330	0.183
Glycodelin (ng/ml)	7.58 ± 1.03	4.77 ± 0.57	t=2.464	0.020*

* $p<0.05$ ** $p<0.01$

Açıklanamayan infertil grup ve diğer faktörleri içeren infertil grup uygulanan gonadotropin dozu ve indüksiyon süreleri açısından değerlendirildi. Her iki grubun gebelik oluşun ve oluşmayan gruplarında bu dozlar ve süreler ayrı ayrı incelemeye alındı. Sonuçlar aşağıda belirtildiği gibi bulunmuştur (Tablo 4.27.).

Tablo 4.27. Diğer faktörleri içeren infertil ve açıklanamayan infertil olgularda gonadotropin dozu ve süresi

	Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebelik oluşmalar (n=10) $\bar{x}\pm Se$	Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebelik oluşmayanlar(n=30) $\bar{x}\pm Se$	t/Z değeri	P değeri
Gonadotropin dozu (IU)	3481.25±577.42	2518.33±212.39	t=1.953	0.058
İndüksiyon süresi (gün)	9.30±0.59	8.70±0.36	Z= -1.044	0.297
	Açıklanamayan infertil grupta gebelik oluşmalar(n=10)	Açıklanamayan infertil grupta gebelik oluşmayanlar(n=30)		
Gonadotropin dozu (IU)	2148.75±263.61	2382.50±150.33	Z= -1.141	0.254
İndüksiyon süresi (gün)	8.50±0.40	8.23±0.24	Z= -0.560	0.576

Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebelik oluşmalarına uygulanan gonadotropin dozunun miktarı ortalama 3481.25±577.42 (IU) iken gebelik oluşmayan grupta 2518.33±212.39 (IU) olarak bulundu. İndüksiyon süreleri ise gebelik oluşmalar grupta 9.30±0.59 (gün), gebelik oluşmayan grupta ise 8.70±0.36 (gün) idi. Gonadotropin dozu ve indüksiyon süresi açısından belirgin anlamlı bir fark saptanmadı.

Açıklanamayan infertil grupta gebelik oluşmalarına uygulanan gonadotropin dozunun miktarı ortalama 2148.75±263.61 (IU) iken gebelik oluşmayan grupta 2382.50±150.33 (IU) olarak bulundu. İndüksiyon süreleri ise gebelik oluşmalar grupta 8.50±0.40 (gün), gebelik oluşmayan grupta ise 8.23±0.24 (gün) idi. Bu grupta gonadotropin dozu ve indüksiyon süresi açısından belirgin anlamlı bir fark saptanmadı.

Açıklanamayan infertil grup ile diğer faktörleri içeren infertil grupta VEGF, IL 1 β ve glycodelin düzeylerinin adetini ikinci ile beşinci günü çalışılan değerleri ile uygulanan ovulasyon indüksiyon protokolü sonrası OPU günü alınan kandan çalışılan değerleri karşılaştırıldı. Serum değerlerinde belirgin anlamlı farklılık olup olmadığı değerlendirildi.

Diğer faktörleri içeren infertil grupta serum VEGF ($p=0.024$) ve IL-1 β ($p=0.006$) düzeyleri açısından adetini ikinci ile beşinci günü arasında alınan kandan çalışılan değerler ile OPU günü alınan kandan çalışılan değerler arasında belirgin anlamlı farklılık saptanırken, açıklanamayan infertilitesi olan grupta farklılık saptanmadı.

Serum glycodelin açısından ise diğer faktörleri içeren infertil grupta ($p=0.020$) ve açıklanamayan infertil grupta ($p=0.001$) belirgin farklılık saptanmıştır.

Hastalar östrojen reseptör polimorfizmi açısından değerlendirildi. Östrojen reseptörü 1 (PvuII, XbaI) ve östrojen reseptörü 2 (RsaI)'de polimorfizm araştırıldı. Sonuçlar diğer faktörleri içeren infertil grupta ve açıklanamayan infertil grupta gebelik oluşan ve oluşmayan olgular olarak değerlendirmeye alındı.

PvuII için,

Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebelik oluşan 10 kişi içinde TT genotipine sahip 5, TC genotipine sahip 4 kişi, CC genotipine sahip 1 kişi bulundu. CC genotipi için herhangi bir karşılaştırma yapılamadı.

TT genotipi için ortalama FSH değeri 5.68 ± 0.54 (mIU/ml), serum estradiol düzeyi 36.48 ± 2.92 (pg/ml), AFC sağ 5.6 ± 1.20 , AFC sol 6.4 ± 2.50 , endometrium kalınlığı 5.18 ± 0.93 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 11.92 ± 0.39 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 3515.00 ± 1156.06 , indüksiyon süresi 9.20 ± 0.96 (gün), toplam oosit sayısı 10.80 ± 2.69 , matür oosit sayısı 6.60 ± 0.74 olarak hesaplandı. TC genotipi için ortalama FSH değeri 6.92 ± 2.99 (IU), serum estradiol düzeyi 31.80 ± 7.27 (pg/ml), AFC sağ 5.0 ± 0.57 , AFC sol 3.75 ± 1.10 , endometrium kalınlığı 4.20 ± 0.53 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 9.05 ± 0.55 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 3596.87 ± 484.77 (IU), indüksiyon süresi 10.00 ± 0.70 (gün), toplam oosit sayısı 8.25 ± 3.92 , matür oosit sayısı 6.50 ± 3.57 olarak hesaplandı.

TT ve TC genotipi için hCG günü endometrium kalınlıkları açısından belirgin anlamlı farklılık saptandı ($Z= -2.449$, $p<0.05$) (Tablo 4.28).

Tablo 4.28. Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalanlarda PvuII polimorfizmi

	PvuII – TT genotipi (n=5) $\bar{x}\pm Se$	PvuII – TC genotipi(n=4) $\bar{x}\pm Se$	Z değeri	P değeri
FSH (mIU/ml)	5.68±0.54	6.92±2.99	-0.490	0.624
E₂ (pg/ml)	36.48±2.92	31.80±7.27	-0.980	0.327
AFC Sağ	5.6±1.20	5.0±0.57	-0.000	1.00
AFC Sol	6.4±2.50	3.75±1.10	-0.371	0.711
EK (mm)	5.18±0.93	4.20±0.53	-0.615	0.539
hCG GÜNÜ EK (mm)	11.92±0.39	9.05±0.55	-2.449	0.014*
Gonadotropin Dozu (IU)	3515.00±1156.06	3596.87±484.77	-0.490	0.624
İndüksiyon Süresi (gün)	9.20±0.96	10.00±0.70	-0.372	0.710
Toplam Oosit Sayısı	10.80±2.69	8.25±3.92	-1.476	0.140
Matür Oosit Sayısı	6.60±0.74	6.50±3.57	-1.005	0.315
Embriyo Sayısı	1.40±0.24	1.50±0.28	-0.283	0.777

*p<0.05

Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebelik oluşmayan 30 kişi içinde TT genotipine sahip 9, TC genotipine sahip 15 kişi, CC genotipine sahip 6 kişi bulundu.

TT genotipi için ortalama FSH değeri 5.61±0.28 (mIU/ml) , serum estradiol düzeyi 31.58±4.94 (pg/ml), AFC sağ 8.88±1.71, AFC sol 7.00±1.92, endometrium kalınlığı 4.07±0.40 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 9.73±0.68 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2119.44±311.60 (IU), indüksiyon süresi 9.11±0.69 (gün), toplam oosit sayısı 13.11±1.75, matür oosit sayısı 8.22±1.55 olarak hesaplandı.

TC genotipi için ortalama FSH değeri 5.19±0.51 (mIU/ml) , serum estradiol düzeyi 55.01±14.49 (pg/ml), AFC sağ 6.13±0.94. AFC sol 6.06±1.02, endometrium kalınlığı 4.13±0.37 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 9.90±0.58 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2496.66±276.90, indüksiyon süresi 8.33±0.54 (gün), toplam oosit sayısı 11.00±2.27, matür oosit sayısı 7.13±1.64 olarak hesaplandı.

CC genotipi için ortalama FSH değeri 7.73±1.68 (mIU/ml) , serum estradiol düzeyi 33.22±2.80 (pg/ml). AFC sağ 7.00±2.01, AFC sol 4.50±1.28, endometrium kalınlığı 4.81±0.96 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 8.90±0.54 (mm),

uygulanan gonadotropin dozu 3170.83 ± 636.71 (IU), indüksiyon süresi 9.0 ± 0.77 (gün), toplam oosit sayısı 7.33 ± 2.80 , matür oosit sayısı 3.50 ± 1.17 olarak hesaplandı.

Üç grup arasında karşılaştırma yapılan parametreler açısından belirgin anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 4.29.).

Tablo 4.29. Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalamayanlarda PvuII polimorfizmi

	PvuII – TT genotipi (n=9) $\bar{x} \pm Se$	PvuII – TC genotipi(n=15) $\bar{x} \pm Se$	Pvu II – CC genotipi(n=6) $\bar{x} \pm Se$	F/χ^2 değeri	P değeri
FSH (mIU/ml)	5.61±0.28	5.19±0.51	7.73±1.68	$F_{(2,27)}=2.610$	0.092
E₂ (pg/ml)	31.58±4.94	55.01±14.49	33.22±2.80	$\chi^2=0.763$	0.683
AFC Sağ	8.88±1.71	6.13±0.94	7.00±2.01	$\chi^2=1.449$	0.485
AFC Sol	7.00±1.92	6.06±1.02	4.50±1.28	$\chi^2=0.949$	0.622
EK (mm)	4.07±0.40	4.13±0.37	4.81±0.96	$\chi^2=0.608$	0.738
hCG GÜNÜ					
EK (mm)	9.73±0.68	9.90±0.58	8.90±0.54	$F_{(2,27)}=0.514$	0.604
Gonadotropin Dozu (IU)	2119.44±311.60	2496.66±276.90	3170.83±636.71	$F_{(2,27)}=1.529$	0.235
İndüksiyon Süresi (gün)	8.33±0.54	8.33±0.54	9.0±0.77	$F_{(2,27)}=0.482$	0.623
Toplam Oosit Sayısı	13.11±1.75	11.00±2.27	7.33±2.80	$F_{(2,27)}=1.051$	0.364
Matür Oosit Sayısı	8.22±1.55	7.13±1.64	3.50±1.17	$F_{(2,27)}=1.467$	0.248
Embriyo Sayısı	1.22±0.22	0.93±0.15	0.66±0.21	$\chi^2=2.991$	0.224

Açıklanamayan infertil grupta gebelik oluşan 10 kişi içinde TT genotipine sahip 4, TC genotipine sahip 3 kişi, CC genotipine sahip 3 kişi bulundu.

TT genotipi için ortalama FSH değeri 5.96 ± 0.83 (mIU/ml), serum estradiol düzeyi 46.90 ± 9.74 (pg/ml), AFC sağ 9.25 ± 2.28 , AFC sol 11.50 ± 2.06 , endometrium kalınlığı 3.90 ± 0.42 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 10.85 ± 1.14 (mm),

uygulanan gonadotropin dozu 1778.12±194.88 (IU), indüksiyon süresi 8.0±0.70 (gün), toplam oosit sayısı 15.25±3.92, matür oosit sayısı 10.25±2.09 olarak hesaplandı.

TC genotipi için ortalama FSH değeri 4.23±0.85 (mIU/ml) , serum estradiol düzeyi 34.33±11.73 (pg/ml), AFC sağ 6.66±0.66, AFC sol 7.0±1.0, endometrium kalınlığı 3.93±0.65 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 8.66±1.20 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2125.0±597.39 (IU), indüksiyon süresi 8.33±0.88 (gün), toplam oosit sayısı 14.66±2.33, matür oosit sayısı 8.33±0.88 olarak hesaplandı.

CC genotipi için ortalama FSH değeri 5.94±1.28 (mIU/ml) , serum estradiol düzeyi 31.06±5.00 (pg/ml), AFC sağ 3.66±1.76, AFC sol 3.33±0.33, endometrium kalınlığı 4.0±0.40 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 10.70±1.34 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2666.66±619.36 (IU), indüksiyon süresi 9.33±0.33

Üç grup içinde antral follikül sayıları arasında belirgin anlamlı farklılık saptanmıştır (Tablo 4.30.).

Tablo 4.30. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalanlarda PvuII polimorfizmi

	PvuII – TT genotipi(n=4) $\bar{x}\pm Se$	PvuII – TC genotipi(n=3) $\bar{x}\pm Se$	Pvu II – CC genotipi(n=3) $\bar{x}\pm Se$	χ^2 değeri	P değeri
FSH (mIU/ml)	5.96±0.83	4.23±0.85	5.94±1.28	1.618	0.445
E₂ (pg/ml)	46.90±9.74	34.33±11.73	31.06±5.00	0.931	0.628
AFC Sağ	9.25±2.28	6.66±0.66	3.66±1.76	3.623	0.016*
AFC Sol	11.50±2.06	7.0±1.0	3.33±0.33	7.190	0.027*
EK (mm)	3.90±0.42	3.93±0.65	4.0±0.40	0.018	0.991
hCG GÜNÜ EK (mm)	10.85±1.14	8.66±1.20	10.70±1.34	2.227	0.328
Gonadotropin Dozu (IU)	1778.12±194.88	2125.0±597.39	2666.66±619.36	1.573	0.455
İndüksiyon Süresi (gün)	8.0±0.70	8.33±0.88	9.33±0.33	1.798	0.407

Tablo 4.30. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalanlarda PvuII polimorfizmi (devamı)

Toplam Oosit Sayısı	15.25±3.92	14.66±2.33	14.33±4.0	0.018	0.991
Matür Oosit Sayısı	10.25±2.09	8.33±0.88	8.0±3.0	0.354	0.838
Embriyo Sayısı	1.75±0.25	1.66±0.33	1.33±0.33	1.188	0.552

*p<0.05

Açıklanamayan infertil grupta gebelik oluşmayan 30 kişi içinde TT genotipine sahip 2, TC genotipine sahip 20 kişi, CC genotipine sahip 8 kişi bulundu.

TT genotipi için ortalama FSH değeri 5.10±1.61 (mIU/ml), serum estradiol düzeyi 25.85±5.85 (pg/ml), AFC sağ 5.0±3.0, AFC sol 6.0±2.0, endometrium kalınlığı 3.55±0.45 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 9.55±2.35 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2400.0±825.0 (IU), indüksiyon süresi 9.0±2.0 (gün), toplam oosit sayısı 3.50±1.5, matür oosit sayısı 2.50±1.50 olarak hesaplandı.

TC genotipi için ortalama FSH değeri 6.05±0.60 (mIU/ml) , serum estradiol düzeyi 49.99±12.06 (pg/ml), AFC sağ 6.10±0.60, AFC sol 7.15±0.84, endometrium kalınlığı 3.91±0.25 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 9.32±0.40 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2363.75±182.78 (IU), indüksiyon süresi 8.25±0.27 (gün), toplam oosit sayısı 13.05±2.44, matür oosit sayısı 7.75±1.65 olarak hesaplandı.

CC genotipi için ortalama FSH değeri 4.97±0.58 (mIU/ml) , serum estradiol düzeyi 51.53±11.04 (pg/ml), AFC sağ 4.62±0.88, AFC sol 5.37±0.94, endometrium kalınlığı 4.11±0.34 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 9.41±0.68 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2425.0±315.77 (IU), indüksiyon süresi 8.0±0.53 (gün), toplam oosit sayısı 10.00±2.54, matür oosit sayısı 6.37±1.88 olarak hesaplandı.

TC ve CC genotipleri için yukarıdaki parametreler açısından karşılaştırma yapıldığında belirgin anlamlı farklılık saptanmamıştır (Tablo 4.31.).

Tablo 4.31. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalamayanlarda PvuII polimorfizmi

	PvuII – TC genotipi $\bar{x} \pm Se(n=20)$	PvuII – CC genotipi $\bar{x} \pm Se(n=8)$	t/Z değeri	P değeri
FSH (mIU/ml)	6.05±0.60	4.97±0.58	Z= -0.661	0.509
E₂ (pg/ml)	49.99±12.06	51.53±11.04	Z= -0.712	0.476
AFC Sağ	6.10±0.60	4.62±0.88	Z= -1.310	0.190
AFC Sol	7.15±0.84	5.37±0.94	Z= -1.254	0.210
EK (mm)	3.91±0.25	4.11±0.34	t= -0.429	0.671
hCG GÜNÜ EK (mm)	9.32±0.40	9.41±0.68	t= -0.113	0.911
Gonadotropin Dozu (IU)	2363.75±182.78	2425.0±315.77	t= -0.175	0.863
İndüksiyon Süresi (gün)	8.25±0.27	8.0±0.53	Z= -0.209	0.834
Toplam Oosit Sayısı	13.05±2.44	10.00±2.54	Z= -0.561	0.575
Matür Oosit Sayısı	7.75±1.65	6.37±1.88	Z= -0.307	0.759
Embriyo Sayısı	1.20±0.15	1.0±0.26	Z= -0.667	0.505

XbaI için,

Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebelik oluşan 10 kişi içinde GG genotipine sahip 2 kişi, AA genotipine sahip 7 kişi, AG genotipine sahip 1 kişi bulundu. AG genotipi için herhangi bir karşılaştırma yapılamadı.

AA genotipi için ortalama FSH değeri 7.40±1.47 (mIU/ml), serum estradiol düzeyi 32.49±5.38 (pg/ml), AFC sağ 4.85±0.45, AFC sol 4.42±1.17, endometrium kalınlığı 4.74±0.24 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 10.25±0.66 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 3878.57±672.96 (IU), indüksiyon süresi 9.14±0.50 (gün), toplam oosit sayısı 10.14±2.82, matür oosit sayısı 6.42±2.02 olarak hesaplandı.

GG genotipi için ortalama FSH değeri 3.72±1.26 (mIU/ml), serum estradiol düzeyi 31.50±11.50 (pg/ml), AFC sağ 5.8±0.62, AFC sol 4.50±1.50, endometrium kalınlığı 4.74±0.24 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 10.25±0.66 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2631.25±1906.25 (IU), indüksiyon süresi 9.0±3.0 (gün), toplam oosit sayısı 6.0±1.0, matür oosit sayısı 6.0±1.0 olarak hesaplandı.

Genotip sayıları yetersiz olduğundan belirgin anlamlı farklılık olup olmadığı konusunda değerlendirme yapılamadı.

Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebelik oluşmayan 30 kişi içinde AA genotipine sahip 8 kişi, AG genotipine sahip 17 kişi, GG genotipine sahip 5 kişi bulundu. AG genotipi için herhangi bir karşılaştırma yapılamadı.

AA genotipi için ortalama FSH değeri 4.60 ± 0.52 (mIU/ml), serum estradiol düzeyi 37.85 ± 4.0 (pg/ml), AFC sağ 8.50 ± 1.22 , AFC sol 7.37 ± 1.70 , endometrium kalınlığı 4.43 ± 0.46 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 8.63 ± 0.69 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2037.50 ± 265.55 (IU), indüksiyon süresi 8.0 ± 0.46 (gün), toplam oosit sayısı 17.62 ± 2.21 , matür oosit sayısı 10.25 ± 1.87 olarak hesaplandı.

AG genotipi için ortalama FSH değeri 6.46 ± 0.68 (mIU/ml), serum estradiol düzeyi 42.50 ± 12.13 (pg/ml), AFC sağ 7.17 ± 1.24 , AFC sol 6.05 ± 1.05 , endometrium kalınlığı 3.92 ± 0.32 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 9.80 ± 0.49 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2644.11 ± 337.50 (IU), indüksiyon süresi 8.82 ± 0.39 (gün), toplam oosit sayısı 9.35 ± 1.69 , matür oosit sayısı 6.17 ± 1.30 olarak hesaplandı.

GG genotipi için ortalama FSH değeri 5.63 ± 0.80 (mIU/ml), serum estradiol düzeyi 56.68 ± 19.97 (pg/ml), AFC sağ 4.80 ± 0.96 , AFC sol 3.80 ± 1.65 , endometrium kalınlığı 5.08 ± 1.10 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 10.76 ± 0.69 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2860.0 ± 284.12 (IU), indüksiyon süresi 9.40 ± 1.69 (gün), toplam oosit sayısı 5.40 ± 1.63 , matür oosit sayısı 3.0 ± 1.30 olarak hesaplandı. Üç grup arasında toplam oosit sayısı ve matür oosit sayısı açısından belirgin anlamlı farklılık saptandı. ($F_{(2,27)}=6.705$ $p < 0.01$, $\chi^2=7.557$, $p < 0.05$) (Tablo 4.32.).

Tablo 4.32. Diğ er faktörleri iç eren infertil grupta gebe kalamayanlarda XbaI polimorfizmi

	XbaI – AA genotipi(n=8) $\bar{x} \pm Se$	XbaI – AG genotipi(n=17) $\bar{x} \pm Se$	XbaI – GG genotipi(n=5) $\bar{x} \pm Se$	F/ χ^2 değ eri	P değ eri
FSH (mIU/ml)	4.60±0.52	6.46±0.68	5.63±0.80	$\chi^2=4.626$	0.099
E₂ (pg/ml)	37.85±4.0	42.50±12.13	56.68±19.97	$\chi^2=1.331$	0.514
AFC Sağ	8.50±1.22	7.17±1.24	4.80±0.96	$\chi^2=3.314$	0.191
AFC Sol	7.37±1.70	6.05±1.05	3.80±1.65	$\chi^2=3.513$	0.173
EK (mm)	4.43±0.46	3.92±0.32	5.08±1.10	$\chi^2=3.360$	0.186
hCG GÜNÜ EK (mm)	8.63±0.69	9.80±0.49	10.76±0.69	$F_{(2,27)}=1.906$	0.168
Gonadotropin Dozu (IU)	2037.50±265.55	2644.11±337.50	2860.0±284.12	$\chi^2=2.568$	0.237
İndüksiyon Süresi (gün)	8.0±0.46	8.82±0.39	9.40±1.69	$F_{(2,27)}=0.801$	0.459
Toplam Oosit Sayısı	17.62±2.21	9.35±1.69	5.40±1.63	$F_{(2,27)}=6.705$	0.004**
Matür Oosit Sayısı	10.25±1.87	6.17±1.30	3.0±1.30	$\chi^2=7.557$	0.023*
Embriyo Sayısı	0.87±0.22	0.88±0.11	1.40±0.40	$\chi^2=2.853$	0.24

*p<0.05 **p<0.01

Açıklanamayan infertil grupta gebelik oluş an 10 kiş i iç inde AA genotipine sahip 3 kiş i, AG genotipine sahip 7 kiş i bulundu.

AA genotipi iç in ortalama FSH değ eri 6.15±1.07 (mIU/ml), serum estradiol düzeyi 45.63±10.73 (pg/ml), AFC sağ 7.66±4.05, AFC sol 7.33±3.84, endometrium kalınlığı 3.83±0.52 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 9.06±1.02 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2504.16±725.58 (IU), indüksiyon süresi 9.0±0.57 (gün), toplam oosit sayısı 19.0±5.68, matür oosit sayısı 10.0±4.16 olarak hesaplandı.

AG genotipi iç in ortalama FSH değ eri 5.13±0.68(mIU/ml) , serum estradiol düzeyi 35.27±6.35 (pg/ml), AFC sağ 6.42±0.92, AFC sol 7.85±1.42, endometrium

kalınlığı 3.98 ± 0.30 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 10.61 ± 0.89 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 1996.42 ± 246.60 (IU), indüksiyon süresi 8.28 ± 0.52 (gün), toplam oosit sayısı 13.0 ± 1.09 , matür oosit sayısı 8.57 ± 0.61 olarak hesaplandı.

İki grup arasında yukarıdaki parametreler açısından belirgin anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 4.33.).

Tablo 4.33. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalanlarda XbaI polimorfizmi

	XbaI - AA genotipi (n=3) $\bar{X} \pm Se$	XbaI - AG genotipi (n=7) $\bar{X} \pm Se$	Z değeri	P değeri
FSH (mIU/ml)	6.15±1.07	5.13±0.68	-0.570	0.569
E₂ (pg/ml)	45.63±10.73	35.27±6.35	-1.029	0.304
AFC Sağ	7.66±4.05	6.42±0.92	-0.115	0.909
AFC Sol	7.33±3.84	7.85±1.42	-0.577	0.564
EK (mm)	3.83±0.52	3.98±0.30	-0.229	0.819
hCG GÜNÜ EK (mm)	9.06±1.02	10.61±0.89	-0.798	0.425
Gonadotropin Dozu (IU)	2504.16±725.58	1996.42±246.60	-0.798	0.425
İndüksiyon Süresi (gün)	9.0±0.57	8.28±0.52	-0.823	0.410
Toplam Oosit Sayısı	19.0±5.68	13.0±1.09	-0.803	0.422
Matür Oosit Sayısı	10.0±4.16	8.57±0.61	-0.808	0.419
Embriyo Sayısı	1.66±0.33	1.57±0.20	-0.267	0.789

Açıklanamayan infertil grupta gebelik oluşmayan 30 kişi içinde AA genotipine sahip 14 kişi, AG genotipine sahip 13 kişi, GG genotipine sahip 3 kişi bulundu.

AA genotipi için ortalama FSH değeri 5.04 ± 0.52 (mIU/ml), serum estradiol düzeyi 42.00 ± 6.37 (pg/ml), AFC sağ 5.42 ± 0.83 , AFC sol 6.50 ± 1.07 , endometrium kalınlığı 4.12 ± 0.29 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 9.69 ± 0.55 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2421.42 ± 263.28 (IU), indüksiyon süresi 8.07 ± 0.46 (gün), toplam oosit sayısı 9.85 ± 2.43 , matür oosit sayısı 5.57 ± 1.18 olarak hesaplandı.

AG genotipi için ortalama FSH değeri 6.64 ± 0.73 (mIU/ml), serum estradiol düzeyi 42.24 ± 5.63 (pg/ml), AFC sağ 5.92 ± 0.70 , AFC sol 6.76 ± 0.90 , endometrium

kalınlığı 3.73 ± 0.27 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 8.89 ± 0.47 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2391.34 ± 205.99 (IU), indüksiyon süresi 8.46 ± 0.26 (gün), toplam oosit sayısı 13.23 ± 3.24 , matür oosit sayısı 8.61 ± 2.51 olarak hesaplandı

GG genotipi için ortalama FSH değeri 4.71 ± 1.49 (mIU/ml), serum estradiol düzeyi 108.86 ± 80.56 (pg/ml), AFC sağ 5.33 ± 1.33 , AFC sol 6.33 ± 0.88 , endometrium kalınlığı 4.03 ± 0.77 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 9.86 ± 0.92 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2162.50 ± 208.04 (IU), indüksiyon süresi 8.0 ± 0.57 (gün), toplam oosit sayısı 12.66 ± 1.76 , matür oosit sayısı 7.0 ± 0.57 olarak hesaplandı (Tablo 4.34.).

Tablo 4.34. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalamayanlarda XbaI polimorfizmi

	XbaI – AA genotipi (n=14) $\bar{x} \pm Se$	XbaI – AG genotipi (n=13) $\bar{x} \pm Se$	t/Z değeri	P değeri
FSH (mIU/ml)	5.04 ± 0.52	6.64 ± 0.73	Z= -1.456	0.145
E ₂ (pg/ml)	42.00 ± 6.37	42.24 ± 5.63	Z= -0.679	0.497
AFC Sağ	5.42 ± 0.83	5.92 ± 0.70	t= -0.541	0.656
AFC Sol	6.50 ± 1.07	6.76 ± 0.90	Z= -0.318	0.751
EK (mm)	4.12 ± 0.29	3.73 ± 0.27	Z= -1.099	0.272
hCG GÜNÜ EK (mm)	9.69 ± 0.55	8.89 ± 0.47	t= 1.092	0.285
Gonadotropin Dozu (IU)	2421.42 ± 263.28	2391.34 ± 205.99	t= 0.089	0.930
İndüksiyon Süresi (gün)	8.07 ± 0.46	8.46 ± 0.26	t= -0.715	0.481
Toplam Oosit Sayısı	9.85 ± 2.43	13.23 ± 3.24	Z= -1.023	0.306
Matür Oosit Sayısı	5.57 ± 1.18	8.61 ± 2.51	Z= -0.855	0.392
Embriyo Sayısı	1.0 ± 0.20	1.15 ± 0.19	Z= -0.752	0.425

GG genotip sayısı yetersiz olduğundan değerlendirmeye alınmazken, AA ve AG genotipleri açısından yukarıdaki parametreler açısından belirgin anlamlı farklılık saptanmadı.

RsaI için,

Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebelik oluşan 10 kişinin hepsi GG genotipine sahip olarak bulundu. GA ve AA genotipine sahip kişiler bulunmadı.

GG genotipi için ortalama FSH değeri 6.39 ± 1.15 (mIU/ml), serum estradiol düzeyi 31.69 ± 4.09 (pg/ml), AFC sağ 5.20 ± 0.62 , AFC sol 5.50 ± 1.34 , endometrium kalınlığı 4.73 ± 0.50 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 10.58 ± 0.53 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 3481.25 ± 577.42 (IU), indüksiyon süresi 9.30 ± 0.59 (gün), toplam oosit sayısı 9.20 ± 2.00 , matür oosit sayısı 6.20 ± 1.39 olarak hesaplandı.

Genotip sayıları yetersiz olduğundan belirgin anlamlı farklılık olup olmadığı konusunda değerlendirme yapılamadı.

Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebelik oluşmayan 30 kişi içinde GG genotipine sahip 22 kişi, GA genotipine sahip 7 kişi, AA genotipine sahip 1 kişi bulundu. AA genotipi için herhangi bir karşılaştırma yapılamadı.

GG genotipi için ortalama FSH değeri 5.82 ± 0.58 (mIU/ml), serum estradiol düzeyi 41.0 ± 5.01 (pg/ml), AFC sağ 7.0 ± 0.89 , AFC sol 5.63 ± 0.86 , endometrium kalınlığı 4.25 ± 0.36 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 9.54 ± 0.47 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2385.22 ± 230.79 (IU), indüksiyon süresi 8.09 ± 0.33 (gün), toplam oosit sayısı 10.95 ± 1.66 , matür oosit sayısı 6.72 ± 1.22 olarak hesaplandı.

GA genotipi için ortalama FSH değeri 6.0 ± 0.55 (mIU/ml), serum estradiol düzeyi 53.87 ± 29.82 (pg/ml), AFC sağ 7.71 ± 2.13 , AFC sol 6.71 ± 2.12 , endometrium kalınlığı 4.31 ± 0.42 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 9.80 ± 0.54 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2957.14 ± 553.82 (IU), indüksiyon süresi 10.0 ± 0.81 (gün), toplam oosit sayısı 10.71 ± 3.04 , matür oosit sayısı 6.71 ± 2.02 olarak hesaplandı.

Bu iki grup arasında indüksiyon süresi açısından belirgin anlamlı farklılık saptandı ($Z = -2.175$, $p < 0.05$) (Tablo 4.35.).

Tablo 4.35. Diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalamayanlarda RsaI polimorfizmi

	Rsa I - GG genotipi (n=22) $\bar{X}\pm Se$	Rsa I - GA genotipi (n=7) $\bar{X}\pm Se$	t/Z değeri	P değeri
FSH (mIU/ml)	5.82±0.58	6.0±0.55	t= -1.167	0.869
E₂ (pg/ml)	41.0±5.01	53.87±29.82	Z= -1.099	0.272
AFC Sağ	7.0±0.89	7.71±2.13	Z= -0.311	0.756
AFC Sol	5.63±0.86	6.71±2.12	Z= -0.052	0.959
EK (mm)	4.25±0.36	4.31±0.42	Z= -0.791	0.429
hCG GÜNÜ EK (mm)	9.54±0.47	9.80±0.54	t= -0.287	0.776
Gonadotropin Dozu (IU)	2385.22±230.79	2957.14±553.82	t= -1.118	0.273
İndüksiyon Süresi (gün)	8.09±0.33	10.0±0.81	Z= -2.175	0.030*
Toplam Oosit Sayısı	10.95±1.66	10.71±3.04	t= 0.070	0.944
Matür Oosit Sayısı	6.72±1.22	6.71±2.02	t= 0.005	0.996
Embriyo Sayısı	0.95±0.12	1.0±0.30	Z= -0.147	0.883

*p<0.05

Açıklanamayan infertil grupta gebelik oluşan 10 kişinin hepsi GG genotipine sahip olarak bulundu. GA ve AA genotipine sahip kişiler bulunmadı.

GG genotipi için ortalama FSH değeri 5.44±0.56 (mIU/ml), serum estradiol düzeyi 38.38±5.39 (pg/ml), AFC sağ 6.80±1.23, AFC sol 7.70±1.39, endometrium kalınlığı 3.94±0.25 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 10.15±0.70 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2148.75±263.61 (IU), indüksiyon süresi 8.50±0.40 (gün), toplam oosit sayısı 14.80±1.88, matür oosit sayısı 9.0±1.17 olarak hesaplandı.

Genotip sayıları yetersiz olduğundan belirgin anlamlı farklılık olup olmadığı konusunda değerlendirme yapılamadı.

Açıklanamayan infertil grupta gebelik oluşmayan 30 kişi içinde GG genotipine sahip 26 kişi, GA genotipine sahip 3 kişi, AA genotipine sahip 1 kişi bulundu. AA genotipi için herhangi bir karşılaştırma yapılamadı.

GG genotipi için ortalama FSH değeri 5.82±0.48 (mIU/ml), serum estradiol düzeyi 49.18±9.28 (pg/ml), AFC sağ 5.34±0.52, AFC sol 6.38±0.69, endometrium kalınlığı 4.09±0.19 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 9.25±0.37 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2379.32±140.84 (IU), indüksiyon süresi 8.23±0.24

(gün), toplam oosit sayısı 11.34 ± 2.03 , matür oosit sayısı 6.96 ± 1.40 olarak hesaplandı.

GA genotipi için ortalama FSH değeri 5.14 ± 1.44 (mIU/ml), serum estradiol düzeyi 21.70 ± 3.01 (pg/ml), AFC sağ 6.66 ± 1.45 , AFC sol 7.33 ± 1.76 , endometrium kalınlığı 3.03 ± 0.79 (mm), hCG günü endometrium kalınlığı 10.83 ± 0.55 (mm), uygulanan gonadotropin dozu 2879.16 ± 821.34 (IU), indüksiyon süresi 9.0 ± 1.0 (gün), toplam oosit sayısı 14.0 ± 4.16 , matür oosit sayısı 8.0 ± 1.52 olarak hesaplandı.

Bu iki grup arasında serum estradiol düzeyleri arasında belirgin anlamlı farklılık saptanmıştır ($Z = -2.363$, $p < 0.05$) (Tablo 4.36.).

Tablo 4.36. Açıklanamayan infertil grupta gebe kalamayanlarda RsaI polimorfizmi

	RsaI - GG genotipi(n=26) $\bar{X} \pm Se$	RsaI - GA genotipi(n=3) $\bar{X} \pm Se$	Z değeri	P değeri
FSH (mIU/ml)	5.82 ± 0.48	5.14 ± 1.44	-0.143	0.886
E₂ (pg/ml)	49.18 ± 9.28	21.70 ± 3.01	-2.363	0.018*
AFC SAĞ	5.34 ± 0.52	6.66 ± 1.45	-0.867	0.386
AFC SOL	6.38 ± 0.69	7.33 ± 1.76	-0.721	0.471
EK (mm)	4.09 ± 0.19	3.03 ± 0.79	-1.260	0.208
hCG GÜNÜ EK (mm)	9.25 ± 0.37	10.83 ± 0.55	-1.504	0.133
Gonadotropin Dozu (IU)	2379.32 ± 140.84	2879.16 ± 821.34	-0.430	0.667
İndüksiyon Süresi (gün)	8.23 ± 0.24	9.0 ± 1.0	-0.699	0.484
Toplam Oosit Sayısı	11.34 ± 2.03	14.0 ± 4.16	-0.970	0.332
Matür Oosit Sayısı	6.96 ± 1.40	8.0 ± 1.52	-1.153	0.249
Embriyo Sayısı	1.07 ± 0.14	1.33 ± 0.33	-0.544	0.587

* $p < 0.05$

5.TARTIŞMA

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

Over rezervinin YÜT tedavisine başlamadan önce mutlaka değerlendirilmesi gerekir. Over rezervi kadının reproduktif potansiyelini gösterir, follikül sayısı ve oosit kalitesini yansıtır. Bu rezervin azalması yaşla ilişkili olmasına rağmen başlangıç zamanı çok değişken olabilmektedir. Over rezervini değerlendirmede kullanılacak ideal belirteç ucuz, kolay ölçülebilen, minimal invaziv, prediktif değeri iyi olmalıdır. Adetin üçüncü günü bakılan FSH ve E₂ değerleri over rezervini gösteren indirekt belirteçlerdir. Fakat normal bazal hormonal değerler over rezervinin normal olduğunu garanti etmez. İleri yaşlarda zaten E₂ hipofizer FSH sekresyonu ile korelasyon göstermemektedir. Bu nedenle klomifen sitrat challenge test, GnRH agonist stimülasyon testi gibi provakatif testler geliştirilmiştir. Fakat bunların da sonuçlarının değeri tartışmalıdır ve over rezervini direkt yansıtmazlar. Halen over rezervinin tayininde daha iyi belirleyiciler bulmak için çalışmalar devam etmektedir. Bunlara örnek olarak, aktivin, folistatin, İnhibin B sayılabilir. Son yıllarda ise AMH'nın over rezervinini belirlemedeki önemi gittikçe daha fazla anlaşılmaya başlanmıştır (82, 228-231).

Ovaryen rezervin ölçülmesi YÜT'e alınacak kadında tedavi öncesi değerlendirilmesinde önemli bir parça haline gelmiştir (161). Ovaryen follikülogenez, pituiter gonadotropinlerin stimülasyonuna cevap veren seçilmiş follikülerde, uzamış sellüler proliferasyon periodunu takip eden hızlı sellüler diferansiasyonu içeren uzun gelişimsel süreçtir (230).

Uzun yıllardır yaş ve gün 3 FSH seviyeleri yardımcı üreme tekniklerine ovaryen cevapta indikatör olarak kullanılmaktaydı. Yaş ve FSH ovaryen rezervin indirekt belirteçleridir ve IVF'de ovaryen cevabı öngörmede rölatif insensivite gösterir. Son zamanlarda çeşitli çalışmalar antral follikül sayısı ve ovaryen volümün hormon stimülasyonuna ovaryen yanıtı öngörmede yararlı olduğunu rapor etmiştir

(158,159,232,233). Pek çok çalışmada antral follikül sayısının primordial follikül popülasyonunu yansıttığı varsayılmış ayrıca ovaryen cevabı daha iyi öngördüğü, toplanan oosit sayısı ve ovaryen hiperstimülasyon sendromu insidansı ile güçlü korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (231-235). Bir meta-analizin yazarları zayıf ovaryen cevaba karşı ovaryen volümün prediktif değerinin AFC ile karşılaştırıldığında belirgin düşük olduğunu belirtmişlerdir (236). Onun için kantitatif ovaryen rezervi öngörmek için IVF öncesi AFC kabul edilebilir bir parametredir. AFC etkili bir şekilde kadının ovaryen stimülasyonuna cevabını toplam toplanan oosit sayısını ve matür oosit sayısını belirleyerek öngörebilir (236). Sonuç olarak AFC, kolay uygulanabilir, non invaziv olması ve bazal FSH'dan daha iyi prediktif değeri olmasından dolayı IVF öncesi ovaryen rezervi öngörmede tercih edilebilir bir test olarak dikkate alınmalıdır.

Bizim hasta grubumuzda gebe kalamayan 60 kişide antral follikül sayısı ile toplanan toplanan oosit ve matür oosit sayıları arasında belirgin korelasyon saptanırken, gebe kalan 20 kişilik grupta korelasyon görülmemiştir. Ayrıca hem açıklanamayan infertil grup hem de diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalamayan 30'ar kişi değerlendirildiğinde antral follikül sayıları (sağ-sol) ile toplanan oosit sayıları arasında belirgin korelasyon saptanmıştır. Her iki grupta gebe kalan 10'ar kişide benzer korelasyon görülmemesinin nedeni olgu sayısının yetersiz olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Tufan ve ark. yaptığı çalışmada 81 infertil kadın çalışmaya dahil edilmiştir. Yaşın ovaryen rezerv testleri ile korelasyonu değerlendirildiğinde, yaşla antral follikül sayısı, ovaryen volüm, serum FSH ve östradiol seviyelerinin belirgin korelasyon gösterdiği belirtilmiştir (237). 80 kişiyi içeren bizim çalışmamızda ise açıklanamayan infertil grupta ve diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalanlar ve kalamayanlar kendi arasında ayrı ayrı değerlendirildiğinde yaş ile serum FSH ve östradiol seviyesi, antral follikül sayısı ve over volümü arasında belirgin korelasyon saptanmamıştır.

Erken folliküler fazda serum FSH ve östradiol seviyeleri ve çeşitli stimülasyon testleri ve ayrıca USG'ye dayalı ölçümler, örneğin antral follikül sayısı ve ovaryen volüm overin yaşlanmasını ve infertil popülasyonlarda tedavi başarı

olasılığını öngörmek için kullanılır (76,82,85,229-232,234,235,237). AFC'nin IVF tedavisinde kontrollü ovaryen hiperstimülasyona cevapta bazal gonadotropin ölçümlerine göre üstünlüğü son meta-analizlerde kabul edilmiştir (161). Konvansiyonel 2D (238,239) ve 3D (239,240) transvajinal USG ile ölçülen 2-10 mm çapındaki antral follikül sayısı ile toplanan oosit sayısı arasında belirgin korelasyon rapor edilmiştir. Jayaprakasan ve ark. 40 yaş altı YÜT tedavisine alınan 100 kadının dahil edildiği çalışmada gebe kalanlarla kalamayanlar arasında yaş, bazal FSH ve ortalama over volümü arasında belirgin fark saptanmamıştır. Ancak toplam antral follikül sayısı gebe kalamayan grupta kalanlarla karşılaştırıldığında belirgin düşüktür. Toplam antral follikül sayısı toplanan oosit sayısını en iyi öngören belirteçtir ve bunu FSH takip ederken, yaş ve ovaryen volüm ovaryen cevabı öngörmemektedir sonucuna varılmıştır (241). Hasta grubumuzdaki toplam 80 olguda gebe kalan 20 kişilik grup ile gebelik oluşmayan 60 kişi karşılaştırıldığında benzer şekilde yaş, gün 2-5 FSH, antral follikül sayısı ve over volümü açısından belirgin anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Bazal FSH ile gebelik oranlarını ilk araştıranlardan Muasher ve ark. bazal gonadotropin tayarının stimulasyon kalitesi için iyi fakat gebelik oranları için iyi olmayan prediktif değere sahip olduğunu vurgulamışlardır (80). Fakat bu çalışma az sayıda olgu ile yapılmıştır. Scott ve ark. 758 IVF siklusunda yaptıkları geniş çalışma sonucunda bazal FSH'yı yüksek olanlarda gebelik oranını düşük bulmuşlardır. Devam eden gebeliklerin hepsinde de FSH 15 mlu/ml altında idi, gebelik oranını FSH 25 mlu/ml üzerinde olan olgularda %5'lere düşmekteydi. FSH 15-24.5 mlu/ml arasında olan grup orta grup olarak isimlendirildiğinde, devam eden gebelik oranları düşük, orta ve yüksek FSH gruplarında sırasıyla %17, %9.3, %3.6 olarak bulunmuştur (55). Bizim çalışmamızdaki olgular arasında gebe kalanlar ve kalamayan grupların FSH seviyelerine bakıldığında gebe kalan grupta FSH seviyeleri kalamayanlara göre literatür bilgilerine ters olarak daha yüksekti ancak belirgin anlamlı farklılık yoktu. Bu sonuç gebe kalan olgu sayısının gebe kalamayanlara göre az sayıda olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Normal fertilite ve regüler menstrüel siklusu olan sağlıklı kadınlarda transvajinal USG ile tahmin edilen toplam antral follikül sayısı kronolojik yaşı

öngörür (242). Çalışmamızdaki gebe kalamayan 60 kişide yaş ile antral follikül sayısı, uygulanan gonadotropin dozu, toplanan toplam oosit sayısı ve matür oosit sayısı arasında belirgin anlamlı fark saptanırken, gebe kalan 20 kişide benzer farka rastlanmamıştır. Buna göre gebelik oluşmayan infertil grupta antral follikül sayısı, toplanan toplam oosit sayısı, matür oosit sayısı ve gonadotropin dozu yaş arttıkça azalmaktaydı.

Overler yaşla birlikte sayıları azalan primordial follikülleri içerir. Pek çok method ovaryen volümün saptanması için kullanılmıştır (365). Ovaryen volüm transvajinal ultrasonografi ile kolay ve hızlı ölçülebilir ve gözlemciler arası değişkenlik azdır. Ancak IVF'in prognostik başarısında gebelik sonuçları ve siklus iptalini değerlendirmek için kullanıldığında over volümü çok az bilgi sunmaktadır (242). Lass ve ark. yaptığı, ovulasyon indüksiyonuna alınan 465 anovulatuvar hastanın retrospektif analizinde küçük overli olan kadınların ($OV < 7.25 \text{ cm}^3$) gebe kalma ihtimali geniş overlere (ortalama ovaryen volüm $x = 11.55 \pm 6.0 \text{ cm}^3$) sahip kadınlarla eşit bulunmuştur (243,244). Ayrıca 80 infertil kadının ovulasyon indüksiyon programına alındığı Luis ve ark. yaptığı çalışmada gösterilmiştir ki ovaryen volüm gebe kalan grupta kalamayanlarla karşılaştırıldığında belirgin büyüktür (245). Bizim çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında da gebe kalan grupta over volümleri kalamayanlara göre daha genişti ancak belirgin anlamlı farklılık yoktu.

İnhibin B ve AMH overlerde küçük folliküller tarafından üretilir ve ovarian rezervin sensitif direkt belirteçleridir (246). Birkaç çalışma, yardımcı üreme tekniklerinde ovaryen cevabı öngörmeye bazal İnhibin B kullanımını araştırmıştır (247-251). Şu ana kadarki veriler uyumsuzdur.

Corson ve ark. granüloza hücre ürünü olan İnhibin B'nin folliküler gelişimde rol alırken serum konsantrasyonları folliküler fonksiyonları ve oosit sayısını yansıtmaya olasılığı ile birlikte sonucuna varmıştır (252). Klein ve ark. yaptığı çalışmada ise azalmış İnhibin B sekresyonunun yaşlı kadınlarda azalan ovaryen folliküler havuzu yansıttığı belirtilmiştir (253).

Seifer ve ark. yaptığı 178 yardımcı üreme tekniği siklusuna alınan 156 kadını kapsayan çalışmada ovulasyon indüksiyonuna zayıf cevaplıları öngörmeye İnhibin B'nin yerini açıklamak için gün 3 İnhibin B konsantrasyonları ölçülmüştür. FSH ve

östradiol konsantrasyonları da çalışmaya dahil edilmiştir. İnhibin B değeri >45 pg/ml olarak kullanılmış ve bu değer altındaki kadınlarda siklusu tamamlayan normal değerlere sahip kadınlara göre stimülasyona östrojen cevabında azalma, toplanan oosit sayısında azalma ve sadece %28 oranında klinik gebelik oranı saptanmıştır. Bu çalışmada ve önceki çalışmalarda İnhibin B'nin standart uluslararası assay olmadığı için laboratuvarlar arasında sonuçların farklı olmasına neden olduğu görülmüştür. Sonuçlar gün 3 İnhibin B kullanımının IVF sonuçlarını öngören bir belirteç olduğunu desteklememektedir. İnhibin B verileri gebelik başlangıcı ile istatistiksel olarak korelasyon göstermemektedir (85).

Bizim çalışma grubumuzda gebe kalan 20 olgunun İnhibin B düzeyi ortalaması ($75,81 \pm 10,15$ pg/ml) gebelik oluşmayan 40 kişiden ($127,77 \pm 37,61$ pg/ml) düşük ancak over rezervinin yeterlilik sınırı olan 45 pg/ml'nin üzerinde bulundu. Bu uyumsuzluk olgu gruplarının sayısının ve özelliklerinin farklı olmasından kaynaklandığını düşündürmektedir.

Muttukrishna ve ark.'nın çalışmasındaki sonuçlar göstermiştir ki over rezervi tayininde %100 sensitivite veya spesifiteye sahip tek belirteç ya da kombine belirteç yoktur. FSH, AMH ve İnhibin B toplanan oosit sayısı ile belirgin doğrusal ilişkiye sahipken, serum AMH toplanan oosit sayısı ile en belirgin doğrusal ilişkiye sahiptir (246). Bazı çalışmalar İnhibin B ölçümünün IVF hastalarında ovaryen rezervi öngörmeyi geliştirdiğini rapor etmiştir (85, 239, 247). Ancak diğer çalışmalar İnhibin B'nin ovaryen rezervin mevcut belirteçlerinin (yaş ve FSH) prediktif değerini arttırmadığını belirtmiştir (248,249). Çalışmamızda gebe kalan ve kalamayan grup kendi arasında değerlendirildiğinde FSH, İnhibin B ve AMH ile toplanan oosit sayısı arasında korelasyon saptanmamıştır.

Pahalı IVF tedavisine alınmadan önce ovaryen rezervin belirlenmesi önemlidir. Tedaviden önce düşük ve yüksek cevaplıların ayırdedilmesi siklus iptal hızını ve yan etkileri, örneğin OHSS, azaltabilir. Ancak ovaryen rezervi veya gebelik olasılığını gösteren methodlar konusunda konsensus yoktur (254). Gebelik hızının azalmasındaki en yaygın neden yaşlanmadır çünkü folliküler havuzun sayı ve kalitesinde yavaş yavaş azalma olur (255). Çeşitli çalışmalarda erken folliküler fazda bazal FSH (249,256), İnhibin B (248), antral follikül sayısı (AFC) (232,257-259) ve

ovaryen volüm (159,164,234) gibi morfometrik ultrasonografik parametrelerin hepsinin IVF hastalarında ovaryen cevap ile korele olduğu gösterilmiştir. Ancak bazı meta-analizlerde, siklus içi değişiklik göstermesinden (260,261) dolayı bazal FSH'nın IVF sonuçları için yararlı prediktif belirteç (261) olmadığı sonucuna varılmıştır. Bazı çalışmalar bazal erken follüküler İnhibin B ölçümünün IVF hastalarında gebeliği göstermedeki rolünü yok ya da sınırlı olarak bulmuştur. (248,249,262-264). AFC ise ovaryen cevabı öngörmeye bazal hormon belirteçlerine göre daha kullanışlıdır. (259, 261, 265, 266).

Eldar-Geva ve ark. 2005 yılında yaptığı çalışmada yüksek cevaplular belirgin yüksek AFC ve ovaryen volümüne sahip bulunmuştur. Toplanan oosit sayısı AFC, AMH ve follüküler faz İnhibin B ile belirgin yüksek pozitif korelasyon gösterirken, yaş ve bazal FSH ile de negatif korelasyon göstermekteydi. Over volümünün maternal yaştan ayrı tutularak toplanan oosit sayısı ve siklus iptal oranı yanında ölçülmesi gonadotropinlere ovaryen cevabı öngördüğü belirtilmiştir (254). Over volümü ayrıca IVF tedavisi sonrası klinik gebelik ortaya çıkışını da öngörmektedir (87,164).

Van Rooij ve ark. follükül sayısı ile ilişkili AFC ve diğer endokrin belirteçlerin oosit sayısını öngörebilirken kaçınılmaz bir şekilde oosit kalitesini öngöremediği sonucuna varmıştır. Ayrıca küçük serilerde oosit sayısını öngören faktörlerin aynı istatistiksel farklılıkta gebelik olasılığını öngöremediği bulunmuştur (267). IVF'te, oosit kalitesi ile korele kadın yaşının gebeliği öngörmeye İnhibin B seviyelerine göre üstün olduğu gösterilmiştir (248, 249).

Bizim çalışmamızda açıklanamayan infertilite yada diğer faktörleri içeren infertilite olgularında gebe kalan ve kalamayan gruplarda AMH ve İnhibin B ile AFC arasında belirgin korelasyon saptanmamıştır. Bu durum laboratuvar çalışmasında standardizasyonun sağlanamamasından kaynaklanıyor olabilir.

Seifer ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, erken follüküler faz serum AMH düzeyleri ile ovulasyon induksiyonu sonucu elde edilen oosit sayısı arasında ilişki bulmuşlardır. Özellikle yüksek serum AMH düzeylerinde daha çok sayıda oosit toplanmış, matür oosit elde edilmiştir. Primordial follükül havuzunun hacmi serum

AMH düzeylerini yansıtır. AMH serum düzeyinin IVF sırasında yapılan kontrollü hipersitülmasyonu sonrasında elde edilecek oosit sayısının tahmininde yol gösterici olduğu bulunmuştur (268). Çalışmamızda ise AMH düzeyleri ile toplanan oosit sayısı arasında korelasyon saptanmadı.

Fanchin ve arkadaşları yaptıkları çalışmada follükülogenezde etkili olan AMH ile erken antral follükül sayısı arasında ve diğer hormonlarla (FSH, LH, E₂, İnhibin-B) direkt veya indirekt bir ilişki olduğunu belirtmişlerdir. Erken foliküler fazda overdeki foliküllerle serum AMH düzeyleri arasındaki ilişki follüküler fonksiyonda etkili olan diğer hormonlardan daha fazla olduğu bulunmuştur (269). Bizim çalışma grubumuzda erken antral follükül sayısı ile FSH, LH, E₂ ve İnhibin B arasında direkt veya indirekt bir ilişki bulunmadı.

Annemarie de Vet ve ark. yaptıkları çalışmada ilerleyen yaşla birlikte küçük-gelişen follükül sayısının azaldığını, azalmış primordial follükül stoğu ile küçük-gelişen follükül sayısı arasında bir ilişki olduğunu gösterdiler. AMH sadece küçük-gelişen follüküllerde sentezlenir ve sirkülasyona katılır. Over yaşlanması ile ilişkili olarak FSH, İnhibin-B düzeyleri ve antral follükül sayısında bir değişiklik bulmamışlardır. Ancak ilerleyen yaşla AMH yapımında azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Böylece AMH'nın primordial follükül hacmini gösterdiğini ve erken evrelerde follükül gelişimini sağladığını ortaya koymuşlardır. AMH düzeyi ve yaş, AMH düzeyi ve follükül sayısı arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermişlerdir. Antral follükül sayısı küçük-gelişen follükül sayısını yansıtır. Yaş ile primordial follükül sayısının azalması USG'de overde follükül sayısının azalması şeklinde görülür. Bu çalışma sonucunda AMH ile antral follükül sayısı arasında ilişki olduğu ve AMH'nın over yaşlanmasını gösteren iyi bir belirteç olduğu bulunmuştur (270). Çalışmamızda ise AMH düzeyi ile yaş arasında korelasyon saptanmamıştır.

Rooij ve arkadaşları yaptıkları çalışmada IVF tedavisi sırasındaki ovaryen cevap ve AMH düzeylerin araştırmışlardır. Over cevabı, dolayısıyla elde edilen oosit sayısı ile AMH arasında kuvvetli bir ilişki olduğunu bulmuşlardır. Over cevabını, yüksek düzeyde gonadotropin seviyeleri olduğunda önceden tespit edilmiş antral follükül sayısı gösterir. Antral follükül sayısı primordial follükül hacmi ile ilişkilidir, bunun da over rezervini yansıttığı kabul edilir. IVF tedavisinde başlangıçtaki AMH

düzeyleri ve sonuçtaki over cevabı arasında güçlü bir ilişki vardır. AMH over rezervini gösteren ümit verici bir prediktördür (93). Biz ise AMH düzeyleri ile antral follikül sayısı arasında belirgin anlamlı ilişki saptamadık.

AMH, İnhibin-B, FSH düzeyleri ve antral follikül sayısı gebeliğin oluşmasının tahmininde kullanılan parametrelerdir. Gebelik oluşumu oosit kalitesine de bağlıdır. Normal over rezervi olan hastalarda gebelik oluşmayabilir. Kötü cevaplı hastalar düşük olasılıkla da olsa gebe kalabilirler. Bu hastalarda başlangıç gonadotropin dozunu artırarak gebelik hızının artıp artmayacağı araştırılmaktadır. Bu konuda daha geniş ve daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır. Çalışmamızda AMH, İnhibin-B, FSH düzeyleri ve antral follikül sayıları ile uygulanan gonadotropin dozları arasında korelasyon saptanmadı.

Creus ve ark. yaptığı 120 kadını içeren bir çalışmada gün 3 İnhibin B YÜT başarısını öngörmek için FSH ile birlikte değerlendirildiğinde yaş ve FSH'nın İnhibin B seviyelerine göre daha iyi prediktörler olduğu sonucuna varılmıştır (263). Ancak Hall ve ark. yaptığı diğer bir çalışmada İnhibin B ve gonadotropin stimülasyonu sonrası toplanan oosit sayısı arasında pozitif korelasyon rapor edilmiştir (248). Biz ise çalışmamızda İnhibin B düzeyleri ile toplanan oosit sayıları arasında korelasyon saptamadık.

Tüm bu bilgiler doğrultusunda oosit kalitesini gösterebilecek daha ileri belirteçlerin araştırılmasına ihtiyaç vardır. Kompleks birçok molekülün birlikte salınması, implantasyonun başarısı için gereklidir. Ovaryen hormonların etkisiyle endometriümden salgılanan çok sayıda adezyon molekülü, sitokinler, büyüme faktörleri ve lipidler saptanmıştır. Bu faktörler gebeliğin erken safhasında fetomaternal ilişkide önemli olabilirler. Bugüne kadar ki çalışmalardan elde edilen bilgiler ışığında, henüz gebeliği öngörmeye yardımcı olabilecek bir biyokimyasal belirteç bulunamamıştır. İmplantasyon başarısızlığı, üreme tıbbında çözüme kavuşmamış en önemli sorunlardan biridir.

IVF sikluslarında implantasyon oranı yaklaşık %25 düzeyindedir. İmplantasyon başarısızlığının üçte ikisinden endometrial reseptivite sorumluyken, üçte birinden embriyonun kendisi sorumludur (7,8).

İmplantasyonun biyokimyasal belirteçlerinin bulunmasıyla infertilite tedavisinde, çoğul gebeliklerin ve erken gebelik kayıplarının önlenmesinde önemli bir aşama sağlanabilir. Embriyo implantasyonunu öngörebilecek bir biyokimyasal belirteç, kolay saptanabilmeli ve IVF siklusuna zarar vermemesi için non-invaziv olmalıdır. Kanda saptanabilen bir belirteç ideal olarak düşünülebilir. Ancak implantasyon penceresi döneminde salgılanan birçok sitokin ve büyüme faktörünün vücutta başkaca görevleri olması nedeniyle, kanda implantasyona özgü belirteçleri bulmak zordur. Endometrial reseptivite belirteçleri lokal olarak salgılandıkları için serum düzeyleriyle de korelasyon göstermeyebilir. Endometrial biyopsi örnekleme, implantasyon belirteçleri için en özgün yöntem olmasına rağmen IVF sikluslarında embriyo transferi öncesi uygulanması etik sorunları beraberinde getirir (1,5,8). İmplantasyon belirteçlerinden biri olan glycodelin son zamanlarda araştırmalara konu olmuştur. Biz de çalışmamızda glycodelin düzeylerini adetini ikinci ile beşinci günü arasında ve OPU günü kandan saklanan serumlarda ve ayrıca follikül sıvısında araştırdık ve karşılaştırdık.

Liu ve arkadaşları ICSI yapılan hastaların OPU ve ET günü serum glycodelin konsantrasyonlarını IVF sonuçlarıyla değerlendirdiklerinde gebe kalan ve kalamayan gruplar arasında anlamlı fark saptamamışlardır ancak yine de OPU ve ET günü arasındaki serum glycodelin artışı ve glycodelin oranları gebe kalan gruplarda daha fazla bulunmuştur (271). Çalışma grubumuzdaki gebe kalan kişilerle kalamayanlar arasında serum glycodelin düzeyleri açısından belirgin anlamlı fark saptamadık. Ancak gebe kalan grupta serum düzeylerinin ortalaması kalamayanlara göre yüksekti. Ayrıca açıklanmayan infertilite olgularında serum glycodelin düzeyleri diğer faktörleri içeren infertilite olgularından daha yüksek saptandı ve belirgin anlamlı farklılık bulundu. Glycodelin ile ilişkili çalışmaların sayısının az olmasından dolayı yeterli karşılaştırma ve tartışma yapılamamıştır.

Sitokinlerin insan vücudundaki bütün fizyolojik işlemlerde pekçok görevi vardır. Pekçok sitokinin folliküler gelişim, ovulasyon, fertilizasyon, implantasyon ve embriyo gelişimi gibi reproduktif işlemlerde kritik önem taşıdığı hatırlanmalıdır. Kadın reproduktif sisteminde kontrollü overayan hiperstimülasyon (KOH) sırasında sitokinlerin rolü geniş olarak araştırılmaktadır. KOH'da kadın reproduktif sistem

normal siklusa göre belirgin farklıdır ve genellikle KOH tipi reproduktif fonksiyonları farklı etkilemektedir. Bugüne kadar en yaygın KOH tipi long agonist protokol iken son 5 yılda GnRH antagonistleri altyapı kazanmaktadır (272). Her iki KOH tipi klinik sonuçlar açısından geniş olarak çalışılmış ve karşılaştırılmıştır (273-280).

Ancak 2006 yılındaki Byron ve ark. yaptığı çalışmaya kadar sitokin seviyelerinin olabilecek değişimleri hakkında hiçbir araştırma yapılmamıştır. Bu çalışmada long agonist protokol veya GnRH antagonist protokol ile KOH'a alınan olgularda 6 sitokin serum ve follikül sıvısı seviyeleri ilk defa araştırılmış ve karşılaştırılmıştır. Araştırılan sitokinler üç tane proinflamatuvar sitokin IL-1 β , IL 6 ve TNF α , iki tane büyüme faktörü VEGF ve bFGF ve leptin idi (272).

Kanda sitokin konsantrasyonları hakkında iki grup arasında istatistiksel olarak belirgin farklılıklar saptanmamıştır. Kan örneklemeinin iki zamanında (hCG günü ve oosit toplama günü) da istatistiksel olarak sitokin seviyeleri değişiminde fark bulunmamıştır. Proinflamatuvar sitokinlerin ve VEGF'nin intrafolliküler konsantrasyonlarında da istatistiksel olarak fark saptanmamıştır. Genel olarak, çalışılan altı sitokinin folliküler sıvıdaki konsantrasyonları kan örneklerinden daha yüksek bulunmuştur. Bu durum altı sitokinin folliküler kompartmandaki lokal regülasyonunun önemini altını çizmektedir (272).

Bizim çalışma grubumuzda diğer faktörleri içeren infertil grupta adetini ikinci ile beşinci günü arasında ve OPU günü alınan kandan saklanan serum örnekleri ile follikül sıvısından çalışılan VEGF, IL-1 β ve glycodelin düzeyleri değerlendirildiğinde diğer faktörleri içeren ve açıklanamayan infertil grupta serum VEGF ve glycodelin düzeyleri OPU günü kanda ve follikül sıvısında daha yüksekken, IL-1 β düzeyleri OPU günü kanda ve follikül sıvısında daha düşüktü. Ancak belirgin anlamlı farklılık saptanmadı.

Sitokinlerin daha çok parakrin ve otokrin işlev modu olduğundan, intrafolliküler konsantrasyonları ovaryen işlevlerdeki rollerini kan konsantrasyonlarından daha iyi yapmaktadır sonucuna varılmaktadır (272). Burdan da anlaşılacağı üzere uygulanan ovulasyon indüksiyon ilaçlarının serum VEGF, IL-1 β ve glycodelin düzeyleri üzerinde etkisi olmaktadır.

80 kişilik çalışma grubumuz agonist ve antagonist kullananlar olmak üzere incelendiğinde her iki grupta gebe kalanlar ve kalamayanlar arasında adetini ikinci ile beşinci günü ve OPU günü serumda ve follikül sıvısında çalışılan VEGF, IL-1 β ve glycodelin düzeylerinde belirgin anlamlı farklılık saptanmazken, diğer faktörleri içeren 40 kişilik infertil grupta GnRH agonisti kullananlar ile GnRH antagonisti kullananlar arasında yapılan karşılaştırmada OPU günü serumda çalışılan glycodelin miktarları arasında belirgin anlamlı fark saptandı. Agonist kullanan grupta ortalama serum glycodelin miktarı antagonist kullananlara göre daha düşüktü. GnRH agonist/antagonistlerinin serum ya da follikül sıvısı glycodelin düzeyleri ve gebelik sonuçlarına etkisinin değerlendirilebilmesi için daha önce yapılmış çalışmaya rastlanılmamış olup bu konuda yorum yapılamadı. Yapılacak çalışmalar yol gösterici olacaktır.

Açıklanamayan infertilitesi olan 40 kişilik grupta toplanan follikül sıvılarından çalışılan VEGF değerleri belirgin anlamlı farklılık gösteriyordu. Agonist kullanan grupta antagonist kullanan gruba göre değerler daha yüksekti. Ancak gerek glycodelin gerekse VEGF seviyelerinde saptanan farklılıklar açıklanamayan infertil olgular yada diğer faktörleri içeren infertil olgularda olsun gebelik oluşma olasılığını öngörmede yeterli gözükmemektedir.

Diğer faktörleri içeren ve açıklanamayan infertil grubun her ikisinde de gebe kalan 10'ar kişide agonist ve antagonist kullananlar arasında serum ve follikül sıvısı arasında VEGF, IL-1 β ve glycodelin düzeyleri açısından belirgin anlamlı fark saptanmadı.

VEGF, oosit kalitesi embriyo kalitesini belirleyen faktörlerden biridir. İnsan oositinin folliküler mikroçevresi onun gelişim yeteneği için kritik faktördür. Oositin kalitesi ve matüritesi intrafolliküler oksijen içeriğinden etkilenmektedir ve oksijen içeriği folliküler vaskülarite derecesi ile orantılıdır. VEGF folliküler granüloza ve teka hücrelerinde üretilmektedir. Bu büyüme faktörü overin anjiogenetik işlemlerinde santral rol alırken ovaryen follikül gelişiminde kritik role sahiptir. Ayrıca follikülogenez sırasında gonadotropinlerle indüklenen VEGF sekresyonu follikülün teka hücre tabakasının vasküler ağının düzenlenmesini belirler. VEGF ve östradiol seviyeleri paralel olarak artmaktadır (102). Çalışmamızda da serum VEGF

ve östradiol seviyelerinin paralel olarak arttığı görülmüş ancak belirgin anlamlı fark saptanmamıştır.

Van Blerkom ve arkadaşları follikül sıvısında çözülmüş oksijen içeriği %3'ün altında olan olgularda >%3 olanlara göre oositlerde spindle organizasyonunda, sitoplazmik yapıda ve kromozom sayısında belirgin defektler ortaya çıktığını rapor etmişlerdir. Ancak yazar folliküler sıvı VEGF ile oksijen içeriği arasında direkt korelasyon bulamamıştır. Yüksek derecede vaskülarize ve yüksek VEGF seviyelerine sahip folliküllerden toplanan oositler daha yüksek fertilizasyon hızı göstermişlerdir. VEGF granüloza ve teka hücrelerinden salgılandığı için yüksek VEGF seviyeleri follikülün kendi vasküler ağını düzenlemede ve oosit gelişimi için daha iyi folliküler mikroçevre oluşturmada büyük önem taşır (281).

Hipotez olarak, oosit kalitesi, follikül ve vasküler ağı birbiriyle koreledir ve perivasküler vaskülarizasyon ve folliküler VEGF seviyeleri oosit kalitesinin sağlam indirekt belirteçleri olabilir. Ancak bizim çalışma grubumuzda gebe kalanlar hem diğer faktörleri içeren infertil grup hem de açıklanamayan infertil grup içinde ayrı ayrı değerlendirildiğinde follikül sıvılarındaki VEGF düzeyleri açısından belirgin anlamlı fark saptanmadı. Aynı şekilde tüm grup içinde gebe kalanların kalamayanlarla karşılaştırılması sonucunda da fark saptanmazken gebe grupta follikül sıvısı ortalama VEGF değerleri daha düşük bulundu.

Overde VEGF, granüloza ve teka hücreleri tarafından eksprese edilir ve premenopozal dönemde menstrüel siklus boyunca gonadotropin sekresyonu ile regüle olur (282). VEGF normal ovaryen fonksiyon için kritiktir ama VEGF artışı aktif gonadotropin ovaryen stimülasyonu ve OHSS ile ilişkilidir. Çok sayıda çalışma IVF sikluslarında VEGF'nin periferal kan konsantrasyonlarını kontrollü ovaryen hiperstimülasyona over cevabının belirteci olarak kullanımına odaklanmıştır (280-299) veya OHSS için prediktör olarak kabul edilmiştir (300-320).

Çalışmada periferal VEGF konsantrasyonları ile toplanan oosit ve follikül sayısı arasında belirgin fark saptanmamıştır (321). İnsan overinde VEGF ekspresyonu ovulasyon ve luteal faz esnasında LH/hCG bağlı bir prosestir (282). Biz de çalışmamızda benzer şekilde gerek açıklanamayan infertilite gerekse diğer faktörleri içeren infertilite grubunda gebe kalan ve kalamayan olgularda serum

VEGF konsantrasyonları ile toplanan oosit ve follikül sayıları arasında belirgin korelasyon saptamadık. Ancak diğer faktörleri içeren 40 kişilik infertili grupta gebe kalan 10 kişi arasında serum VEGF ve LH seviyeleri korelasyon göstermekteydi.

VEGF, anjiogeneizde önemli bir faktör olarak embriyonun implantasyonunda görev alması muhtemeldir. Bir çalışmada, VEGF düzeyinin kan örneklerinde gonadotropin uygulamasıyla düştüğü ve embriyo transfer zamanı serum VEGF düzeyi yüksek olan IVF hastalarında gebelik oranlarının daha yüksek olduğu gösterilmiştir. VEGF ölçümlerinin implantasyonda belirteç olarak diagnostik değerinin olabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (322).

Son 10 yılda sitokinler, aktiviteleri normal şartlar altında veya eksternal ovarian stimülasyona cevapta kadın üreme sisteminin fizyolojisini değerlendirmede anahtar noktayı temsil ettiğinden yoğun araştırmaların hedefi haline gelmiştir (101). Çeşitli sitokinler özellikle VEGF, TNF α ve Leptin' nin oosit matürasyonu, fertilizasyon ve embriyo implantasyonunu artırıcı üzerine araştırılmış ancak sonuçlar çelişkili olarak rapor edilmiştir (323-345).

Asimakopoulos ve ark. yaptığı çalışmada oosit aspirasyon günü alınan serumdan çalışılan sitokinlerin serum seviyeleri gebelik oluşan ve gebelik oluşmayan sikluslarda belirgin farklı bulmamışlardır. Sitokin seviyeleri ve sikluskardaki klinik parametreler arasında belirgin korelasyon gösterilememiştir. Bu bulgular TNF α , VEGF ve leptinin oosit aspirasyon günü alınan serum konsantrasyonlarının IVF sonuçları üzerine prognostik değerinin olmadığını ortaya koymaktadır. VEGF ve leptinin folliküler sıvı seviyeleri ilişkili serum seviyelerinden belirgin yüksek saptanmıştır. Ayrıca folliküler sıvıdaki VEGF düzeyleri gebe kalamayan grupta gebe kalanlarla karşılaştırıldığında belirgin yüksekti (101). Bizim çalışmamızda da folliküler sıvı VEGF düzeyleri serum düzeylerinden belirgin yüksekti. Diğer faktörleri içeren infertilite grubunda gebe kalanlarda folliküler sıvı VEGF düzeyleri yüksekken, açıklanamayan infertilite grubunda ise gebe kalanlarda folliküler sıvı VEGF düzeyleri kalamayanlara göre daha düşük saptandı.

Çalışmamızdaki sonuçlar da gösteriyor ki VEGF, IL-1 β ve glycodeinin gerek serum gerekse follikül sıvısından çalışılan değerleri arasında gebe kalanlar ile

kalamayanlar arasında belirgin anlamlı farklılık saptanmamıştır. Ayrıca gebelik sonuçlarına etkisi hala çalışma ve tartışma konusudur.

ICSI siklusuna alınan 95 hastanın dahil edildiği çalışmada serum ve follikül sıvısında IL-1 β , VEGF, Leptin ve TNF α düzeyleri araştırılmıştır. Serum VEGF ve leptin konsantrasyonları folliküler sıvı seviyelerinden düşükken, TNF α düzeyleri serum ve follikül sıvısında benzer, IL-1 β konsantrasyonları ise serumda follikül sıvısından yüksek bulunmuştur (346). Biz de benzer şekilde 80 kişilik çalışma grubumuzda hem açıklanamayan infertilite hem de diğer faktörleri içeren infertilite gruplarında gebe kalanlar ve kalamayanlarda serum VEGF seviyelerini follikül sıvısından düşük, serum IL-1 β seviyelerini follikül sıvısından yüksek saptadık. Ancak belirgin anlamlı farklılık yoktu.

Nikolettos ve ark. yaptığı çalışmada follikül sıvısı IL-1 β ve TNF α seviyeleri de iki grup arasında benzer bulunmuştur. Bunun tam tersi follikül sıvısı VEGF ve follikül sıvısı leptin seviyeleri gebe kalamayan grupta kalanlarla karşılaştırıldığında belirgin yüksek saptanmıştır (346). Serum sitokin konsantrasyonları follikül sıvısındaki sitokin konsantrasyonları ile belirgin korelasyon göstermemiştir. Bu bulgu folliküler sitokin seviyelerinde lokal regülasyonun önemini altını çizer. Folliküler sıvıda kana göre yüksek VEGF ve leptin seviyeleri diğer araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir (283,284,287,347-350). Çalışılan sitokinlere göre sadece folliküler sıvıdaki leptin ve VEGF ICSI sonrası gebelik oluşumu ile belirgin ilişkili bulunmuştur. Önceki çalışmalarda her iki sitokinin gebelik oluşumu ile ters ilişkilidir (346). Çalışmamızda gerek açıklanamayan infertilite gerekse diğer faktörleri içeren infertilite gruplarında gebelik oluşumu ile folliküler sıvı VEGF düzeyleri arasında belirgin anlamlı ilişki saptanmadı.

VEGF overde granüloza ve teka hücrelerinin ikisinden de üretilir (351,352). Granüloza hücreleri FSH, LH, hCG ve hipokside olduğu gibi VEGF yapımını artırır (353). Pek çok çalışma grupları gonadotropin stimülasyonu ve hCG uygulaması sonrası oldukça yüksek folliküler sıvı VEGF konsantrasyonları göstermişlerdir (285, 354). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde gerek açıklanamayan infertilite gerekse diğer faktörleri içeren infertilite olgularında serum VEGF düzeyi gonadotropin stimülasyonu sonrası OPU günü alınan kanda ve toplanan follikül sıvılarında adet

ikinci ile beşinci günü arasında alınan serumdan çalışılan değerlere göre yüksek konsantrasyonlarda saptanmıştır. Bu durum VEGF yapımının hormonal uyarılara cevabı olduğunu göstermektedir.

Öcal ve ark. 58 hastanın IVF programına alındığı ve 15 gebe kalan ve 43 gebe kalamayan kadın arasında yaptığı çalışmada transfer edilen toplam embriyo sayıları açısından istatistiksel olarak belirgin farklılık saptanmıştır (297). Benzer şekilde biz de gebe kalan grubumuzla kalamayan grubumuz arasında transfer edilen embriyo sayısı açısından belirgin anlamlı farklılık saptadık.

Embriyo transferi yapılan 71 kadının değerlendirildiği Coppola ve ark. yaptığı çalışmada follüküler parakrin çevrede eksprese edilen follikül sıvısı VEGF seviyeleri gebe olmayanlarda embriyo transferi sonrası gebe kalan kadınlarla karşılaştırıldığında belirgin yüksek saptanmıştır (355). Biz de benzer şekilde gebe kalamayan grupta follikül sıvısı VEGF seviyelerini yüksek saptadık ancak belirgin anlamlı farklılık yoktu.

Bu sonuçlardan da görüldüğü gibi yardımcı üreme tekniklerine alınan hastalardan elde edilen serum follüküler sıvı gebelik ve implantasyona etkili bazı ovaryen faktörlerin araştırılması için kullanılabilir.

Diğer yandan follüküler sıvı VEGF konsantrasyonları ile elde edilen oosit sayıları arasında hem pozitif hemde negatif korelasyonlar rapor edilmiştir (235). Biz çalışmamızda follüküler sıvı VEGF düzeyleri ile toplanan oosit sayıları arasında pozitif yada negatif yönde belirgin anlamlı fark saptamadık. Bazı çalışmalar VEGF'nin iyi vaskülarizasyon ve oksijenizasyon gösteren follüküller ve sonuçta yüksek gebelik potansiyeline sahip oositlerle ilişkili olduğunu gösterirken (356) diğer çalışmalar yükselen follüküler sıvı VEGF düzeylerinin follüküler hipoksiyi yansıttığını ve hastanın kronolojik yaşı ile pozitif korelasyon gösterdiğini sunmuştur (357,358). Biz ise çalışmamızda follüküler sıvı VEGF düzeyleri ve yaş arasında korelasyon saptamadık.

Sonuç olarak IVF'e alınan hastalarda oosit toplama günü ölçülen serum ve follüküler sıvıda düşük VEGF konsantrasyonları, daha iyi ovaryen cevap, daha iyi implantasyon ve gebelik sonuçlarını işaret eden belirteçler olarak kabul edilebilir.

Bizim de gebe grubumuzda OPU günü serum ve follikül sıvısı VEGF düzeyleri gebe kalamayanlara göre düşük saptanmıştır ancak belirgin anlamlı farklılık görülmemiştir.

Ferrari ve ark. yaptığı çalışmada GnRH agonist ve antagonist protokol uygulanan 60 kişilik IVF programına alınan hastanın folliküler sıvı VEGF konsantrasyonları değerlendirilmiş ve antagonist uygulanan grupta belirgin anlamlı artış saptanmıştır (104). Çalışma grubumuzda ise ters olarak antagonist kullanan grupta folliküler sıvı VEGF konsantrasyonları daha düşük saptandı.

Birkaç yazar östrojen seviyeleri benzerken GnRH antagonistleri ile tedavi edilenleri GnRH agonistleri ile tedavi edilenlerle karşılaştırıldığında antagonist kullanan grupta daha yüksek gebelik ve implantasyon hızı rapor etmiştir (359-361). Ancak diğer çalışmalar GnRH agonist yada antagonistleri ile tedavide folliküler recruitment, oosit kalitesi ve fertilizasyon hızında herhangi bir farklılık göstermemişlerdir sadece gebelik ve implantasyon hızları ve östradiol seviyeleri GnRH antagonistleri ile tedavi edilen grupta düşük saptanmıştır (279,362-364). Biz ise çalışmamızda GnRH agonist yada antagonistleri ile tedavi edilen gruplarda gebelik hızlarını benzer saptadık.

İmplantasyon hızı serum IL-1 β varlığından pozitif etkilenmektedir. Serum IL-1 β varlığı gebelik oluşum şansını arttırmaktadır (112). Sitokinlerin daha çok parakrin ve otokrin işlev modu olduğundan intrafolliküler konsantrasyonları ovaryen işlevlerdeki rollerini kan konsantrasyonlarından daha iyi yapmaktadır (110,111,365-370).

Bazı yeni çalışmalar in vitro fertilizasyonda embriyo gelişim safhasında intrafolliküler IL-1 seviyeleri ve oosit kalitesi arasında korelasyon gösterilmiştir. (110,111). Çalışmamızda hem diğer faktörleri içeren infertilite hem de açıklanamayan infertilite gruplarında follikül sıvılarında çalışılan IL-1 β varlığı ile gebelik oluşumu arasında herhangi belirgin anlamlı farklılık saptanmadı.

Birkaç çalışma IVF sonuçları ile kan sitokin seviyelerini araştırmıştır (110, 346, 367, 369-371). Dolaşımda IL-1 β varlığı, ICSI sikluslarına alınan hastalarda gebelik oluşumunu öngörmeye önemli olabilir. Kadın infertilite faktörleri mevcut olan kadınlarda IL-1 β düzeylerinin çok az saptanması infertilite faktörlerinin

tedavinin ovaryen ve endometrium cevaplarını etkilediği şeklinde açıklanabilir. Bu bulgu kadın infertilite faktörlerini taşıyan çok sayıda hastada doğrulanmalıdır (112). Bizim çalışmamızda kadın infertilite faktörü taşıyan olguların sayısının yetersiz olması nedeniyle belirgin anlamlı farklılık saptanmadı ve sonuç olarak karşılaştırma yapılamadı.

Karagouni ve arkadaşları IVF yapılan hastaların yaklaşık %20'sinde ölçülebilir düzeyde IL-1 β saptamışlardır (110). Bu çalışmada küçük oranda hastada saptanabilen IL-1 β seviyelerine rağmen, IL-1 β ile IVF hastalarında klinik sonuçlar arasında önemli ilişki gözlemlenmiştir.

Ayrıca Karagouni ve arkadaşları saptanabilir sitokin konsantrasyonları olmayan IVF-ET yapılan kadınlara göre hCG günü saptanabilir IL-1 α ve IL-1 β konsantrasyonları olan IVF-ET yapılan hastalardan daha fazla implantasyon hızına sahiptir (110). IL-1'in implantasyondaki rolü iyi dökümanite edilmiştir. IL-1 endometrial sekresyonlar olan prostaglandin ve LIF'de artış sağlar, integrin ekspresyonunu artırır ve trofoblastlarda stimüle matrix metaloproteinaz 9 aktivitesini artırır (372). Ayrıca IL-1'in insan endometrial stromal ve desidual hücrelerden in vitro LIF yapımını indüklediği gösterilmiştir. IL-1 ve LIF'in blastokist implantasyonunun kontrolü üzerinde sinerjistik etkisi mevcuttur (373).

Yardımcı üreme tekniklerinde sonuçları optimize etmede kritik karar implantasyon penceresine en iyi karşılık gelen ET zamanına karar vermektir. İmplantasyon döneminde endometrial fonksiyonun biyokimsal değerlendirmesi yıllardır yapılmaktadır ancak YÜT sonrası endometrial reseptivitenin kliniksel farklılığı ile ilgili sonuçlar şu ana kadar çizilememiştir (374). İmplantasyon penceresi döneminde endometriumun kapasitesinin değerlendirilmesinde uteroovaryen kan akımının ölçümü potansiyel olarak değerli bir methodtur (375).

İmplantasyon için ultrasonografik prognostik indikatörlerin değerlendirilmesi perioovuluar endometrial kalınlık ve paterni ile uterin arter kan akımının dopler ölçümlerini içerir (376). Uterin arter PI düşük, orta ve yüksek şeklinde şu aralıklarda sınıflandırılabilir: 0.00-1.99, 2.00-2.99 ve 3 (177). Gebelik hızı uterin pulsatilite indeksi (PI) ile ters orantılıdır. Üçün üzerindeki değerlerde gebelik hızı belirgin azalmaktadır. Ortalama uterin arterial impedans sonuçları konsepsiyon sikluslarında

nonkonsepsiyon siklulara göre daha düşük bulunmuştur (377). Biz de açıklanamayan infertil grup ve diğer faktörleri içeren infertil grupta gebe kalanların uterin arter pulsatilite indekslerini gebe kalamayanlarla karşılaştırdığımızda daha düşük olarak saptadık ancak belirgin anlamlı farklılık yoktu.

hCG günü endometrium kalınlığının gebelik oranlarına etkisi tartışmalıdır. Endometrium 6 mm'nin altındaysa gebelik elde edilme olasılığı çok düşer (155). Endometriumun, implantasyon yönünden risk oluşturduğu bir üst kalınlık sınırının olup olmadığı tartışmalıdır. Bazı yayınlarda endometrial kalınlık 14 mm'nin üstünde ise implantasyon ve klinik gebelik oranları belirgin derecede düşüş ve abortus olasılığında artış (378) bildirilmekle beraber farklı yayınlarda da endometrial kalınlık artışı ile implantasyon oranlarında bir azalma meydana gelmediği ve implantasyon açısından risk taşıyan bir üst sınırın mevcut olmadığı belirtilmektedir (379, 380).

Çalışmamızda açıklanamayan infertilite ve diğer faktörleri içeren infertilite grupları ayrı ayrı değerlendirildiğinde gebe kalanlar ve kalamayanlar arasında hCG günü endometrium kalınlıkları açısından belirgin anlamlı farklılık saptanmadı. Ancak gebe kalan grupta endometrium kalınlıkları her iki grupta da gebe kalamayanlara göre daha fazlaydı.

Östrojen reseptörü (ÖR) hedef dokulardaki östrojenik aktivitenin güçlü medyatörüdür (381). Granüloza hücrelerinde otokrin östrojen aktivitesini düzenlediğine inanılır (382). Östrojen ve FSH folliküler gelişim ve matürasyonla sonuçlanan granüloza hücrelerindeki FSH reseptörlerini arttırmada over üzerinde sinerjistik etkiye sahiptir (383, 384). Sayısız ÖR gen polimorfizmi ve mutasyonu tanımlanmıştır ve ÖR'deki genetik variabilite meme kanserinde, spontan abortuslarda, osteoporoz ve antiöstrojenik tedavi direnciyle ilişkilendirilmiştir (385-391).

Georgiou ve ark. yaptığı çalışmada tek başına follikül ve oosit sayıları ile Pvu II genotipleri arasında istatistiksel olarak belirgin farklılık saptanmamıştır. Tubal veya açıklanamayan infertilite gruplarında PvuII genotipi ile uygulanan gonadotropin dozu ve süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır (392). Biz de çalışmamızda gerek açıklanamayan infertilite gerekse diğer faktörleri içeren

infertilite gruplarında PvuII genotipleri arasında uygulanan gonadotropin dozu ve süresi arasında belirgin anlamlı farklılık saptamadık.

ÖR genindeki genetik varyabilite fetal yaşamdan erişkin döneme kadar folliküler gelişim ve farklılaşmada östrojenlere cevabın altını çizebilmektedir. Ovaryen cevabı follikül başına toplam toplanan oosit sayısını arttırarak etkilediği düşünülmektedir. ÖR polimorfizmi fertilitiyi direkt etkilemeyebilir ama infertilite problemleri ortaya çıktığında genetik varyabilite ovaryen cevabı ve IVF sonrası gebelik hızını öngörmeye yararlı olabilir (392).

ÖR 1 PvuII lokusu endometriosis şüphesinde (217) ve gebelik/KOH sonuçları ile ilişkili olabilir. Ayrıca ÖR 2 RsaI lokusu ovulatuvar disfonksiyonun nedeni bilinmeyen etyolojisi ile bağlantılıdır (188). Önceki bulgular ÖR gen polimorfizminin anlaşılmasının infertilite tanısı ve tedavisinin geliştirilmesinde önemli olabileceğini önermektedir. Signe ve ark. yaptığı çalışmanın amacı ÖR1 PvuII ve XbaI ile ÖR2 RsaI varyasyonlarının kadın infertilitesindeki önemi ile KOH ve IVF'in gebelik sonuçları üzerine dağılımını belirlemektir. ÖR gen varyantları ile klinik gebelik oluşumu arasındaki ilişki lojistik regresyon modellerinde yaş, infertilite nedeni ve oosit fertilizasyonu için kullanılan prosedür (IVF/ICSI) ile desteklenerek değerlendirilmiştir. ÖR1 yada ÖR2 mikrosatellitleri ET başına gebelik olasılığını öngörmemektedir. Açıklanamayan infertil kadınlar hastaların heterojen grubunu oluştururken sonuçlar göstermiştir ki ÖR1 varyasyonları açıklanamayan infertilitede duyarlı bir faktördür (392). Çalışmamızdaki açıklanamayan infertilite grubunda hasta sayısının ve gebelik sayısının yeterli olmayışı belirgin anlamlı farklılıkların ortaya çıkmamasına neden olmuş olabilir.

Östrojen embriyonik ve fetal gelişim gelişimde kadın sekonder seksüel karakteristikleri, reproduktif siklusu, fertilitiyi ve gebelik oluşumunu arttırmada kritik role sahiptir (392). Kadın üremesinin pek çok yönü östrojen ve onun fonksiyonlarıyla ilişkilidir. LH aracılığıyla androjenden sentezlenen kadın seks hormonu oosit matürasyonuna katkıda bulunur ve fertilizasyon optimizasyonu ve embriyo kalitesi ile ilişkili rol oynar (393). RsaI için diğer faktörleri içeren infertilite grubunda gebelik oluşmayan 30 kişi içinde GG genotipine sahip 22, GA genotipine sahip 7 kişi, AA genotipine sahip 1 kişi bulundu. Bu iki grup arasında indüksiyon süresi

açısından belirgin anlamlı farklılık saptandı. GG genotipinde indüksiyon süresi daha kısayken GA genotipinde sürenin uzadığı görüldü. Açıklanamayan infertilite grubunda gebelik oluşmayan 30 kişi içinde GG genotipine sahip 26, GA genotipine sahip 3 kişi, AA genotipine sahip 1 kişi bulundu. Bu iki grup arasında serum östradiol düzeyleri arasında istatistiksel olarak belirgin farklılık saptandı. GG genotipine sahip kişilerde östradiol seviyesi GA genotipine göre daha yüksekti. Ancak tüm bu bulgular genotip sayılarında olgu sayısına bağlı yeterli dağılım olmadığından IVF başarısını predikte etmede yetersiz kalmaktadır.

Östrojen reseptörleri oositte (193) granüloza hücreleri (394) ve ovaryen epitelyal hücrelerde (395) tanımlanmıştır. Georgiou ve ark.yaptığı çalışmanın amacı da ÖRα genindeki PvuII ve BstUI polimorfizmlerinde follüküler ve oosit kalitesi ve gebelik sonuçları ile ilişki bulmaktır. Ortalama follükül sayısı polimorfizmin olmadığı grup ile heterozigot grup arasında belirgin farklı bulunmamıştır (392).

Çalışmamızda açıklanamayan infertilite grubunda gebelik oluşan 10 kişi içinde TT genotipine sahip 4, TC genotipine sahip 3 kişi, CC genotipine sahip 3 kişi bulundu. Üç grup içinde ortalama antral follükül sayıları (sağ ve sol) arasında belirgin anlamlı farklılık saptandı. Ortalama antral follükül sayısı ile olan bu ilişki ÖR polimorfizmlerinin ovaryen cevabı follükül sayısı üzerinden de etki ettiği yönündedir.

Sundarrajan ve ark. yaptığı çalışmada PvuII genotiplerinin ciddiyeti ile ortalama matür oosit sayısı arasında belirgin negatif korelasyon bulmuşlardır. Her üç PvuII genotipinde ortalama serum östradiol seviyeleri arasında belirgin farklılık bulunmuştur (396). Biz ise çalışmamızda açıklanamayan infertilite grubunda gebe kalamayanlarda RsaI genotipleri arasında E₂ düzeyleri açısından belirgin anlamlı farklılık saptadık. XbaI için ise, diğer faktörleri içeren infertilite grubunda gebelik oluşmayan 30 kişi içinde AA genotipine sahip 8, AG genotipine sahip 17 kişi, GG genotipine sahip 5 kişi bulundu. Üç grup arasında toplanan toplanan oosit sayısı ve matür oosit sayısı açısından belirgin anlamlı farklılık saptandı. Polimorfizmin olmadığı AA genotipi içeren olgularda toplanan toplanan oosit sayısı ve matür oosit sayısı daha fazlaydı. AG genotipinde sayılar hemen hemen yarıya düşerken GG genotipinde ise yaklaşık dörtte birlik bir azalma saptandı.ÖR polimorfizmleri

ovaryen cevabı follikül sayısı ile ilişkili olan final matür oositlerin sayısını değiştirerek etkiler sonucuna varılmıştır (396).

ÖR1 geni PvuII ve XbaI polimorfizmleri ve kadın infertilitesinin ilişkisinin değerlendirildiği Ayvaz ve ark. yaptığı çalışmaya 104 infertil ve 107 fertil kadın dahil edilmiştir. ÖR1 genotipleri matürasyon, fertilizasyon, gebelik hızları ve embriyo kalitesi ile ilgisi açısından karşılaştırılmıştır. Gebelik hızları açısından fark bulunmazken, matürasyon ve fertilizasyon hızları pp ve xx genotiplerinde belirgin düşük saptanmıştır. Ayrıca pp genotipleri belirgin az sayıda iyi kalitede embriyolara sahip bulunmuştur. ÖR1 genindeki ciddi PvuII polimorfizmi ile embriyo kalitesi arasında güçlü negatif ilişki saptanmıştır (397). Kadınlarda ÖR1 PvuII polimorfizminin IVF'i izleyen gebelik hızlarına etkisinin bulunduğu çalışmalar mevcuttur (392,396). Çalışmamızda PvuII polimorfizmi ile gebelik hızları arasında korelasyon saptamadık. Bunun nedeninin olgu sayımızın sınırlı sayıda olmasından kaynaklandığı düşünülebilir.

PvuII polimorfizmi östrojen fonksiyonlarını düzenleyen östrojen reseptör etkinliğini bozabilir. Bu durum da folliküllerin oluşum ve gelişmesini etkileyerek küçük çaplarda kalmalarına neden olabilir. Çalışmadaki bütün bulguların analizi polimorfizmin IVF sonuçlarını follikülogenezi, oosit matürasyonunu, embriyo kalitesini ve endometrial reseptiviteyi etkilediğini belirtmektedir. PvuII polimorfizmi IVF/embriyo transfer programına alınan hastalarda ovaryen cevabı ve gebelik hızlarını öngören belirteç olarak yeterli olabilir (397). Bizim çalışmamızdaki hasta grubunda PvuII için, diğer faktörleri içeren infertilite grubunda gebelik oluşan 10 kişi içinde TT genotipine sahip 5, TC genotipine sahip 4 kişi, CC genotipine sahip 1 kişi bulundu. TT ve TC genotipi için hCG günü endometrium kalınlıkları açısından belirgin anlamlı farklılık saptandı. Polimorfizm göstermeyen grupta (TT) endometriumlar daha kalındı. Bu sonuç bize gebelik oluşumunda etkili faktörler arasında sayılan endometrium kalınlığının dolayısıyla endometrial reseptivitenin östrojene bağlı bir belirteç olduğunu göstermektedir. Ve endometrium kalınlığı östrojen reseptör aktifliğine bağlı değişebilmektedir.

Yardımcı üreme tekniklerinde bugüne kadar östrojen reseptör polimorfizmlerinin gelişen follikül sayısı, oosit kalitesi ve olgunluğu, fertilizasyon ve

gebelik oranlarına etkisi incelenmiş, bu polimorfizmlerin ovaryumların uyarılması sonucu folliküllerin kalitesine ve dolayısıyla implantasyona etkili olabileceğine dikkat çekilmiştir. Bir diğer grup tarafından yapılan çalışmada östrojen hormonunun işlevinin oosit sitoplazmasının ve oolemma olgunlaşması için gerekli olduğu belirlenmiştir. Olgun oositlerde fertilizasyon oranının yüksek olduğu ve östrojenden yoksun foliküllerde düşük kalitede oositler elde edildiği gözlenmiştir. ÖR1 genindeki genetik varyasyonlar, fetal dönemden yetişkin döneme kadar büyüme ve farklılaşmada östrojenlerin farklı yanıtlarına yol açabilmektedir. Östrojen varyasyonları aynı zamanda üreme hayatı boyunca germ hücrelerinin azalma hızında çeşitliliğe neden olmaktadır (394).

Literatürde östrojen reseptör geni polimorfizmleri ile tüp bebek tedavisinde elde edilen olgunlaşma ve fertilizasyon oranlarının karşılaştırılması ile ilgili bir veri bulunmamaktadır. ÖR1 polimorfizmlerinin fertilité üzerine doğrudan etkisi olmamakla birlikte infertilite problemleri ortaya çıktığında ve tüp bebek tedavileri sonrası ovaryum cevabı ve tedavi başarısını öngörmede ÖR1 polimorfizmleri önemli rol oynayabilmektedir. Çalışmada bu polimorfizmlerin özellikle oositlerin olgunlaşması ve fertilizasyonunda negatif yönde etki gösterdiği belirlenmiştir. Tüp bebek tedavileri sonucu elde edilen implantasyon ve gebelik oranlarına olan doğrudan katkısını belirleyebilmek için şüphesiz daha fazla çalışmaya gereksinim duyulmaktadır.

Sonuç olarak incelediğimiz östrojen reseptör gen polimorfizmlerinin gerek infertilite gerek ise yardımcı üreme tekniklerinde elde edilen sonuçlara etkisi olduğu ortaya çıkmıştır. Bu sonuçların daha fazla çalışma ile desteklenmesi neticesinde gelecekte bu polimorfizmlerin analizinin yapılması ve kadınlarda infertilite riskinin polimorfik dağılımlar göz önünde bulundurularak hesaplanması mümkün olabilecektir. Aynı şekilde genotipleme yapılarak infertil kadınların tüp bebek tedavilerinde elde edilebilecek klinik parametrelerin iyileştirilmesi ve tedavide daha başarılı sonuçlar elde edilmesi amaçlanabilecektir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yardımcı üreme teknolojilerinin kullanımı 1978 yılında doğan ilk IVF bebeğinden sonra gelişmeye devam etmektedir. Artık yüksek kalitedeki embriyolar seçilebilmekte ve endometrium değerlendirilebilmektedir. Daha yüksek gebelik oranları, daha az çoğul gebelikler ve genetik olarak sağlıklı bebekler yardımcı üreme tekniklerinin günümüzdeki hedefleridir (2,5,7). Günümüzde infertil çiftlerin çocuk sahibi olma umudunu artıran yardımcı üreme teknikleri, mutlu sonuçları ile beraber maddi ve manevi olarak hastalara ve topluma yük getirmekte, zaman ve enerji gerektirmektedir. Bu nedenle uygun hastaların tedavi programına alınması ve bireysel özelliklere uygun tedavinin seçilmesi çok önemlidir. Böylece over rezervinin tayini ile başarı oranı artırılabilir.

IVF, foliküllerin uyarılması, olgun folliküllerin aspire edilmesi, oositlerin toplanması, oositlerin sperm ile birleştirilmesi ve döllenmiş embriyoların rahim içerisine yerleştirilmesi işlemlerini içermektedir. Her ne kadar her hastaya aynı protokoller uygulansa da hastaların folliküler yanıtı birbirinden farklılık göstermektedir. Tüp bebek tedavisinin başarısında pek çok faktör rol oynamaktadır. Bu faktörlerin de en çok folliküler büyümeye, steroidogenez ve oositlerin olgunlaşmasına etki ettiği bilinmektedir. Bütün gelişmelere rağmen, son 10 yılda gebelik oranlarında anlamlı bir artış olmamıştır. Henüz açıklığa kavuşturulamamış faktörler muhtemelen bu duruma neden olmaktadır (222).

Yardımcı üreme tekniklerinin uygulandığı sikluslarda embriyo gelişim ve kalitesi ile implantasyon oranlarını arttırabilmek için endometrial reseptiviteyi gösteren ve invaziv olmayan yöntemler bulmak gerekir. Çalışmamızda olduğu gibi çeşitli sitokinlerin ve endometrial implantasyonu arttırıcı belirteçlerin araştırılması yol gösterici olacaktır.

Tüp bebek tedavilerinde öncelikli hedef gebelik ve doğum oranlarının arttırılması olup bu amaçla gamet hücrelerinin embriyo oluşturma potansiyelini çoğaltmaya yönelik olgunlaşma ve fertilizasyon oranlarının arttırılması oldukça önem taşımaktadır. Bu doğrultuda yapılan çalışmalarda bu oranlara etki edebilecek faktörlere odaklanılmaktadır. Bu konuyla ilgili çeşitli gen polimorfizmleri ile ilgili

çalışmalar giderek artmaktadır. Özellikle ÖR α 'yı kodlayan ÖR1 geni ile ilgili çalışmalar başta olmak üzere bu genin polimorfizmlerini ortaya koyan çalışmalar gündemdedir.

Biz çalışmamızda açıklanamayan infertilite grubunda IVF başarisını predikte edebilecek belirteçleri araştırdık. Bulduğumuz verileri gebelik sonuçları ile karşılaştırdık. Ancak başarıyı predikte edebilecek belirtece rastlamadık. Sonuçlar yeni çalışmaların önünü açmakla birlikte daha fazla sayıda hasta popülasyonu ile yapılmasını önermek daha doğru olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Speroff L, Fritz MA, İnfertilite. İç: Erk A, Günalp S, editörler; Klinik Jinekolojik Endokrinoloji Ve İnfertilite. Ankara-İstanbul: Güneş Tıp Kitapevleri; 2007.s.1013-1274.
2. Ayhan, Durukan, Günalp, Gürkan, Önderoğlu, Yaralı, Yüce. İnfertilite. İç: Ayhan ve ark. editörler; Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. 2.basım. Ankara-İstanbul: Güneş Tıp Kitabevleri; 2008.s.1453-1753.
3. Miller JH, Weinberg RK, Canino NL, Klein NA, Solues MR. The pattern of infertility diagnoses in women of advanced reproductive age. Am J Obstet Gynecol 1999;181(4):952-7.
4. Hoff JD, Quigley ME, Yen SS. Hormonal dynamics at midcycle: a reevaluation. J Clin Endocrinol Metab 1983;57(4):792-6.
5. Berek JS. Infertility. In: JS Berek, editör. Berek and Novak's Gynecology, 14th ed., Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.2007. p. 1185–1275.
6. Ecochard R, Marret H, Rabilloud M, Bradai R, Boehringer H, Girotto S, Barbato M. Sensitivity and specificity of ultrasound indices of ovulation in spontaneous cycles. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2000;91(1):59-64.
7. Çiçek MN, Mollamahmutoğlu L, A'dan Z'ye Yardımcı Üreme Teknikleri, Ankara: Palme Yayıncılık; 2009.s.121-125.
8. Hassa H. İnfertil Olgulara Klinik Yaklaşım Ve IVF Laboratuvar Uygulamaları. Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi Basımevi;2003.
9. Stein IF, Leventhal ML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. Am J Obstet Gynecol.1935;29:181-91.
10. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). Hum Reprod.2004;19(1):41-7.

11. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*.2004;81(1):19-25.
12. Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab*.2004;89:2745-9.
13. Attar E, Ata B, Polikistik Over Sendromu. İç: Attar E, Ata B, ed. *Gomel'in Jinekolojisi*. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri;2007.s.293-304
14. Blacker CM, Diamond MP. Pelvic adhesions and infertility. In: *Infertility: A comprehensive text*. Seibel MM (ed). 2. Baskı, Appleton & Lange, Connecticut, ABD, 1997;655-68.
15. The American Fertility Society. The American Fertility Society classifications of adnexal adhesions, distal tubal occlusion, tubal occlusion secondary to tubal ligation, tubal pregnancies, müllerian anomalies and intrauterine adhesions. *Fertil Steril*.1988;49(6):944-55
16. Zeyneloğlu HB, Arici A, Olive DL. Adverse effects of hydrosalpinx on pregnancy rates after in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril*. 1998;70(3):492-9.
17. Marana R, Catalano GF, Muzii L, Caruana P, Margutti F, Mancuso S. The prognostic role of salpingoscopy in laparoscopic tubal surgery. *Hum Reprod*. 1999;14(12):2991-5.
18. Awonuga AO, Fletcher NM, Saed GM, Diamond MP. Postoperative adhesion development following cesarean and open intra-abdominal gynecological operations: a review. *Reprod Sci*. 2011;18(12):1166-85.
19. Revel A. Defective endometrial receptivity. *Fertil Steril*.2012;97(5):1028-32.
20. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Endometriosis and Infertility. *Fertil Steril*.2004;82(1):40-45.
21. Giudice LC, Kao LC. Endometriosis. *Lancet*. 2004;364(9447):1789-99.

22. Mahutte NG, Arici A. New advances in the understanding of endometriosis related infertility. *J Reprod Immunol.*2002;55(1-2):73-83.
23. Kim AH, Adamson GD. Surgical treatment options for endometriosis. *Clin Obstet Gynecol.*1999;42(3):633-44.
24. Winkel CA. Combined medical and surgical treatment of women with endometriosis. *Clin Obstet Gynecol.*1999;42(3):645-63.
25. Hooghe MT, Debrock S, Hill AJ, Meuleman C. Endometriosis and subfertility: Is the relationship Resolved? *Seminars in Reprod Med.*2003;21(2):243-253
26. Olive DL, Pritts EA. Treatment of endometriosis. *N Engl J Med.* 2001;345(4):266-75.
27. Hughes E, Fedorkow D, Collins J, Vanderkerckhone P. Ovulation suppression for endometriosis (Cochrane review). In: *The Cochrane library*, issue 1. Oxford, England: Update Software,2000.
28. Mahutte NG, Arici A. Endometriosis and assisted reproductive technologies: are outcomes affected? *Curr Opin Obstet Gynecol.*2001;13(3):275-9.
29. Pabucu R, Onalan G, Goktolga U, Kucuk T, Orhon E, Ceyhan T. Aspiration of ovarian endometriomas before intraszytoplazmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2004;82(3):705-711.
30. Garcia Velasco JA, Mahutte NG, Corona J. Removal of endometriomas before in vitro fertilization does not improve fertility outcomes: a matched, case-control study. *Fertil Steril.*2004;81(5):1194-7.
31. Alasiri SA, Ghahremani M, McComb PF. Cornual polyps of the fallopian tube are associated with endometriosis and anovulation. *Obstet Gynecol Int.*2012;561306.
32. Mansour R, Aboulghar M, Serour GI. Controversies in the surgical management of hydrosalpinx. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2000;12(4):297-301.

33. Camus E, Poncelet C, Goffinet F. Pregnancy rates after in-vitro fertilization in cases of tubal infertility with and without hydrosalpinx; a meta-analysis of published comparative studies. *Hum Reprod.* 1999;14(5):1243-9.
34. Glatstein IZ, Best CL, Palumbo A, Sleeper LA, Friedman AJ, Hornstein MD. The reproducibility of the postcoital test: a prospective study. *Obstet Gynecol.* 1995;85(3):396-400.
35. Forti G, Krausz C. Evaluation and treatment of the infertile couple. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 1998;83(129):4177-88.
36. Homer HA, Li TC, Cooke ID. The septate uterus: review of management and reproductive outcome. *Fertil Steril.* 2000;73(1):1-14
37. Kaufman RH, Adam E, Binder GL, Gerthoffer E. Upper genital tract changes and pregnancy outcome in offspring exposed in utero to diethylstilbestrol. *Am J Obstet Gynecol.* 1980;137(3):299-308.
38. Pal L, Shifren JL, Isaacson KB, Chang Y, Marean M, Leykin L, Toth TL. Outcome of IVF in DES-exposed daughters: experience in the 90s. *J Assist Reprod Genet.* 1997;14(9):513-7.
39. Donnez J, Jadoul P. What are the implications of myomas on fertility? A need for a debate? *Hum Reprod.* 2002 Jun;17(6):1424-30.
40. Shalev J, Meizner I, Bar-Hava I, Dicker D, Mashiach R, Ben-Rafael Z. Predictive value of transvaginal sonography performed before routine diagnostic hysteroscopy for evaluation of infertility. *Fertil Steril.* 2000;73(2):412-7.
41. Ismajovich B, Lidor A, Confino E, David MP. Treatment of minimal and moderate intrauterine adhesions (Asherman's syndrome). *J Reprod Med.* 1985;30(10):769-72.
42. De los Santos MJ, Mercader A, Galan A, Albert C, Romero JL, Pellicer A. Implantation rates after two, three or five days of embryo culture. *Placenta.* 2003;24(Suppl B):13-9.

43. Bernard Jegou, Charles Pineau, Jorna Toppari. Spermatogenesis in vitro in mammals. In Assisted Reproductive Technology. Jonge CD, Barrat CLR, eds. ,Cambridge University Pres: Cambridge. 2002;3-25.
44. World Health Organization: WHO manual for the standarized investigation and diagnosis of the infertil couple. P:7, Cambridge University Pres 1993, Cambridge.
45. Anthony V Hirsh. The investigation and therapeutic options for infertile men presenting in assisted reproduction: the Bourn Hall quide the clinical and laboratory practice. Second ed, Brinsden PR, ED. New York: Parthenon Publishing. 1999; 27-52.
46. Acosta A, Khalifa E, Oehninger S. Pure human follicle stimulating hormone has a role in the treatment of severe male infertility by assisted reproduction. Norfolk's total experil 1992.
47. Alexander Quaas, MD, PhD, Anuja Dokras, MD, PhD, Diagnosis and Treatment of Unexplained Infertility ; Rev Obstet Gynecol. 2008;1(2):69-76
48. American society for reproductive medicine, Optimal evaluation of the infertile female. A practice committee report, Birmingham, AL, 2000
49. Crosignani PG, Rubin BL. Optimal use of infertility diagnostic tests and treatments. The ESHRE Capri Workshop Group. Hum Reprod. 2000;15(3):723-32.
50. Tanahatoe SJ, Hompes PG, Lambalk CB. Investigation of the infertile couple: should diagnostic laparoscopy be performed in the infertility work up programme in patients undergoing intrauterine insemination? Hum Reprod.2003;18(1):8-11.
51. Huang H, Hansen KR, Factor-Litvak P, Carson SA, Guzick DS, Santoro N, Diamond MP, Eisenberg E, Zhang H. Predictors of pregnancy and live birth after insemination in couples with unexplained or male-factor infertility. Fertil Steril. 2012;97(4):959-67.
52. Pandian Z, Gibreel A, Bhattacharya S. In vitro fertilisation for unexplained subfertility. Cochrane Database Syst Rev. 2012 Apr 18;4:CD003357.

53. Fishel S, Aslam I, Lisi F, Rinaldi L, Timson J, Jacoboson M, Gobetz L, Green S, Campbell A, Lisi R. Should ICSI be the treatment of choice for all cases of in vitro conception? *Hum Reprod* 2000;15(6):1278-83.
54. Nikolaou D, Templeton A. Early ovarian ageing: a hypothesis. Detection and clinical relevance. *Hum Reprod.*2003;18(6):1137-9.
55. Scott RT, Toner JP, Muasher SJ, Oehninger S, Robinson S, Rosenwaks Z. Follicle-stimulating hormone levels on cycle day 3 are predictive of in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.*1989;51(4):651-4.
56. 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(6):1136-40.
57. Balasch J. Investigation of the infertile couple, *Human Reproduction.* 2000;15(11):2251-7
58. Günalp S, Aktan E, Yücel A (eds). WHO laboratuvar el kitabı: insan semeni ve sperm servikal mukus etkileşimi değerlendirilmesi. Ankara: Tıp Teknik Yayınevi; 4.baskı, 2002.s. 6-7-60-61-
59. Işık AZ, Vicdan K. In Vitro Fertilizasyon ve Mikromanüplasyon Uygulamalarında Laboratuvar,1999;79:129-151.
60. Anthony V Hirsh. The investigation and therapeutic options for infertile men presenting in assisted reproduction: the Bourn Hall guide the clinical and laboratory practice. Second ed, Brinsden PR, ED. New York:Parthenon Publishing.1999; 27-52.
61. Van Steirteghem A, Liu J, Nagy Z, Joris H, Tournaye H, Liebaers I, Devroey P. Use of assisted fertilization. *Hum Reprod.*1993;8(11):1784-5.
62. Sigman M. Assisted reproductive techniques and male infertility.*Urol Clin North Am.*1994;21(3):505-15

63. Letoon J, Parazzini F. A controlled study between the use of gamete intrafallopian transfer and invitro fertilization and embriyo transfer in the management of idiopathic and male infertility. *Fertil Steril*.1987;48(3):605-9.
64. Testart J, Plachot M. World Colloborative report on IVF-ET and GIFT: 1989 results *Hum Reprod*.1992;72(2):362-7.
65. Gürbüz R. İnfertilite ile ilgili kavramlar ve infertilite sebepleri . Bölüm: 2. Erkek infertilitesi (Yaklaşım ve tedavi) Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul.1994, 23-25.
66. Macklin VM. Ovarian Stimulation and ovulation induction. In: Brooks A Keel JVM, Christopher J. De Jonge, ed: CRC pres LLC, 2001.
67. Biljan MM, Buckett WM, Dean N, Philips SJ, Tan SL. The outcome of IVF-embriyo transfer treatment in patients who develop three follicles or less. *Hum Reprod*.2000;15(10):2140-4.
68. The Boston IVF Handbookof infertility: a practical guide for practitioners who care for infertile couples. In: Bayer SR, Alper MM, Penzias AS, eds. New York: The Parthenon Publishing Group,2002.
69. Tıraş MB, Aybar F. İnvitro Fertilizasyon (İVF)-intrasitoplazmik Sperm İnjeksiyonu (İCSİ) Endikasyonları. *Turkiye Klinikleri, J Surg Med Sci*. 2006;5:37-41
70. Inaba Y, Fujisawa M, Okada H, Arakawa S, Kamidono S. Clinical outcome of microsurgeryfor obstructive azoospermia. *Int J Uro*.1999;6(3):139-144.
71. Levin HS. Testicular biopsy in the study of male infertility: its current usefulness, histologic techniques, and prospects for the future. *Hum Pathol*.1979;10(5):569-84.
72. Su LM, Palermo GD, Goldstein M, Veeck LL, Rosenwaks Z, Schlegel PN. Testicular spermextraction with intracytoplasmic sperm injection for nonobstructive azoospermia: testicular histology can predict success of sperm retrieval. *J Urol*.1999;161(1):112-116.

73. Djahanbakhch O, Ezzati M, Zosmer A. Reproductive ageing in women. *J Pathol.* 2007;211(2):219-31.
74. Maheshwari A, Hamilton M, Bhattacharya S. Effect of female age on the diagnostic categories of infertility. *Hum Reprod.* 2008;23(3):538-42.
75. George K, Kamath MS. Fertility and age. *J Hum Reprod Sci.* 2010;3(3):121-3.
76. Roudebush WE, Kivens WJ, Mattke JM. Biomarkers of Ovarian Reserve. *Biomark Insights.* 2008;3:259-268.
77. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Artenisio AC, Stabile G, Volpe A. Anti-Mullerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Hum Reprod Update.* 2010;16:113-130.
78. Chien LW, Lee WS, Au HK, Tzeng CR. Assessment of changes in utero-ovarian arterial impedance during the peri-implantation period by Doppler sonography in women undergoing assisted reproduction. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004;23:496-500.
79. Cevrioğlu AS, Ovarian fizioloji, Ovaryan rezerv testleri. İç: Çiçek MN, editör. *Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. İkinci basım, Ankara:Güneş Tıp Kitapevi; 2006.s.1413-1432.*
80. Muasher SJ, Abdallah RT, Hubayter ZR. Optimal stimulation protocols for in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2006;86(2):267-73.
81. Gleicher N, Weghofer A, Barad DH. Discordances between follicle stimulating hormone (FSH) and anti-Müllerian hormone (AMH) in female infertility. *Reprod Biol Endocrinol.* 2010;8:64.
82. Bukman A, Heineman MJ. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility. *Hum Reprod Update.* 2001;7(6):581-90.
83. Loumaye E, Billion JM, Mine JM, Psalti I, Pensis M, Thomas K. Prediction of individual response to controlled ovarian hyperstimulation by means of a clomiphene citrate challenge test. *Fertil Steril.* 1990;53(2):295-301.

84. Jee BC, Ku SY, Suh CS, Kim KC, Lee WD, Kim SH. Seoul National University College of Medicine Assisted Reproductive Technology (SMART) Study Group. Serum anti-Müllerian hormone and inhibin B levels at ovulation triggering day can predict the number of immature oocytes retrieved in in vitro fertilization cycles. *J Korean Med Sci.*2008;23(4):657-61.
85. Seifer DB, Scott RT Jr, Bergh PA, Abrogast LK, Friedman CI, Mack CK, Danforth DR. Women with declining ovarian reserve may demonstrate a decrease in day 3 serum inhibin B before a rise in day 3 follicle-stimulating hormone. *Fertil Steril.* 1999;72(1):63-5.
86. Flaws JA, Langenberg P, Babus JK, Hirshfield AN, Sharara FI. Ovarian volume and antral follicle counts as indicators of menopausal status. *Menopause* 2001;8(3):175-80.
87. Lass A, Silye R, Abrams DC, Krausz T, Hovatta O, Margara R, Winston RM. Follicular density in ovarian biopsy of infertile women: a novel method to assess ovarian reserve. *Hum Reprod* 1997;12(5):1028-31.
88. Picon P. Action of the fetal testis on the development in vitro at müllerian duct in the rat. *Arc Anat Micrise Morphol Exp.*1983;58(1):19.
89. Teixeira J, Maheswaran S, Donahoe PK. Müllerian inhibiting substance, an instructive developmental hormone with diagnostic and possible therapeutic applications. *Endoc Rev.* 2001;22(5):657-74.
90. Matzuk MM, Burns KH, Viverios MM, Eppig JJ. Intercellular communication in the mammalian ovary: oocytes carry the conversation. *Science* 2002;296(5576):2178-80.
91. Knight PG, Glister C. TGF- β super family members and ovarian follicle development. *Reproduction* 2006;132:191-206.
92. Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, Cranfield M, Groome NP, Visser JA, Kramer P, Fauser BC, Themmen AP. Anti-müllerian Hormone expression pattern in the human ovary, potential implications for initial and acyclic follicle recruitment. *Mol human Reprod* 2004;10(2):77-83.

93. 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;17:3065-71.
94. Velde ER, Van Leusden HA. Hormonal treatment for the climacteric: alleviation of symptoms and prevention of past menopausal disease. *Lanset*.1994; 343:654-58.
95. Durlinger ALL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Kumar TR, Matzuk MM, Rose UM, de Jong FH, Uilenbroek JT, Grootegoed JA, Themmen AP. Anti-müllerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology*. 2001;142(11):4891-99.
96. Durlinger ALL, Visser JA, Themmen APN. Regulation of ovarian function; The role of Anti-Müllerian Hormone. *Reproduction*. 2002;124:601-9.
97. Ledger WL: Clinical utility of measurement of anti-mullerian hormone in reproductive endocrinology. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95:5144-54.
98. Teixeira J, Maheswaran S, Donahoe PK. Mullerian inhibiting substance: An instructive developmental hormone with diagnostic and possible therapeutic applications. *Endocr Rev*. 2001;22(5):657-74.
99. Picon R. Action of the fetal testis on the development in vitro of the Mullerian ducts in the rat. *Arch Anat Microsc Morphol Exp*.1969;58(1):1-19.
100. Gruijters MJ, Visser JA, Durlinger AL, Themmen AP. Anti-Mullerian hormone and its role in ovarian function. *Mol Cell Endocrinol*.2003;211(1-2):85-90.
101. Asimakopoulos B, Nikolettos N, Papachristou DN, Simopoulou M, Al-Hasani S, Diedrich K. Follicular fluid levels of vascular endothelial growth factor and leptin are associated with pregnancy outcome of normal women participating in intracytoplasmic sperm injection cycles. *Physiol Res*. 2005;54(3):263-70.
102. Monteleone P, Giovanni Artini P, Simi G, Casarosa E, Cela V, Genazzani AR. Follicular fluid VEGF levels directly correlate with perifollicular blood flow in normoresponder patients undergoing IVF. *Assist Reprod Genet*. 2008;25(5):183-

103. Rizk B, Aboulghar M, Smitz J, Ron-El R. The role of vascular endothelial growth factor and interleukins in the pathogenesis of severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod Update*.1997;3(3):255-66.
104. Ferrari B, Pezzuto A, Barusi L, Coppola F. Gonadotropin-releasing hormone antagonists increase follicular fluid insulin-like growth factor-I and vascular endothelial growth factor during ovarian stimulation cycles. *Gynecol Endocrinol*. 2006;22(6):289-96.
105. Bahar L, Baykal T, Endometriyal Reseptivitenin İmplantasyondaki Rolü, Mersin Üniv Sağlık Bilim Dergisi.1(2):2008
106. Dimitriadis E, White CA, Jones RL, Salamonsen LA. Cytokines, chemokines and growth factors in endometrium related to implantation. *Hum Reprod Update*. 2005;11(6):613-30.
107. Makrigiannakis A, Minas V. Mechanisms of implantation. *Reprod Biomed Online*. 2007;14(1):102-9.
108. Gérard N, Caillaud M, Martoriati A, Goudet G, Lalmanach AC. The interleukin-1 system and female reproduction. *J Endocrinol*.2004;180(2):203-12
109. Carlberg M, Nejaty J, Fröysa B, Guan Y, Söder O, Bergqvist A. Elevated expression of tumour necrosis factor alpha in cultured granulosa cells from women with endometriosis. *Hum Reprod*.2000;15(6):1250-5.
110. Karagouni EE, Chryssikopoulos A, Mantzavinos T, Kanakas N, Dotsika EN. Interleukin-1beta and interleukin-1alpha may affect the implantation rate of patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril*. 1998;70(3):553-9.
111. Hammadeh ME, Fischer-Hammadeh C, Amer AS, Rosenbaum P, Schmidt W. Relationship between cytokine concentration in serum and preovulatory follicular fluid and in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection outcome. *Chem Immunol Allergy*. 2005;88:80-97.
112. Bonetti TC, Salomao R, Brunialti M, Braga DP, Borges E Jr, Silva ID. Cytokine and Hormonal profile in serum samples of patients undergoing controlled ovarian

- stimulation: interleukin-1beta predicts ongoing pregnancy. *Hum Reprod.* 2010;25(8):2101-6.
113. Halttunen M, Kämäräinen M, Koistinen H. Glycodelin: a reproduction-related lipocalin. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1482(1-2):149-56.
 114. Seppälä M, Taylor RN, Koistinen H, Koistinen R, Milgrom E. Glycodelin: a major lipocalin protein of the reproductive axis with diverse actions in cell recognition and differentiation. *Endocr Rev.* 2002;23(4):401-30.
 115. Seppala M, Koistinen H, Koistinen R, Dell A, Morris HR, Oehninger S, Clark GF: Glycodelins as regulators of early events of reproduction. *Clin Endocrinol. (Oxf)* 1997;46(4):381-386
 116. Tse JY, Chiu PC, Lee KF, Seppala M, Koistinen H, Koistinen R, Yao YQ, Yeung WS. The synthesis and fate of glycodelin in human ovary during folliculogenesis. *Mol Hum Reprod.* 2002;8(2):142-8.
 117. Stewart DR, Erikson MS, Erikson ME, Nakajima ST, Overstreet JW, Lasley BL, Amento EP, Seppala M. The role of relaxin in glycodelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(3):839-46
 118. Westergaard LG, Wiberg N, Andersen CY, Laursen SB, Kliem A, Westergaard JG, Teisner B. Circulating concentrations of placenta protein 14 during the natural menstrual cycle in women significantly reflect endometrial receptivity to implantation and pregnancy during successive assisted reproduction cycles. *Hum Reprod.* 1998;13(9):2612-2619
 119. Wheeler T, Chard T, Anthony F, Osmond C. Relationships between the uterine Environment and maternal plasma concentrations of insulin-like growth factor binding protein-1 and placental protein 14 in early pregnancy. *Hum Reprod.* 1995;10(10):2700-2704
 120. Tseng L, Zhu HH, Mazella J, Koistinen H, Seppala M. Relaxin stimulates glycodelin mRNA and protein concentrations in human endometrial glandular epithelial cells. *Mol Hum Reprod.* 1999;5(4):372-375

121. Uchida H, Maruyama T, Ohta K, Ono M, Arase T, Kagami M, Oda H, Kajitani T, Asada H, Yoshimura Y: Histone deacetylase inhibitor-induced glycodefin enhances the initial step of implantation. *Hum Reprod.* 2007;22(10):2615-2622
122. Bolden JE, Peart MJ, Johnstone RW. Anticancer activities of histone deacetylase Inhibitors. *Nat Rev Drug Discov.*2006;5(9):769-84.
123. Adashi EY. Clomiphene citrate-initiated ovulation: a clinical update. *Semin Reprod Endocrinol.*1986;4:255-76.
124. Kessel B, Hsueh AJ. Clomiphene citrate augments follicle-stimulating hormone-induced luteinizing hormone receptor content in cultured rat granulosa cells. *Fertil Steril.*1987;47(2):334-40.
125. Eden JA, Place J, Carter GD, Jones J, Alagband-Zadeh J, Pawson ME. The effect of clomiphene citrate on follicular phase increase in endometrial thickness and uterine volume. *Obstet Gynecol.*1989;73(2):187-90.
126. Weinstein D, Shenker JG. Ovarian hyperstimulation syndrome. A current survey. *Fertil Steril.*1978;30(3):225-268
127. Kettel LM, Rosef SH, Berga SL, Mortola JF. Hypothalamic-pituitary-ovarian response to clomiphene citrate in women with polycystic ovarian syndrome *Fertil Steril.*1993;59(3):532-8
128. Suchanek E, Simunic V, Juretic D, Grizelj V. Follicular fluid contents of hyaluronic acid, follicle-stimulating hormone and steroids relative to the success of in vitro fertilization of human oocytes. *Fertil Steril.*1994;62(2):347-52.
129. Hammond MG. Induction of ovulation with clomiphene citrate. In Sciarra JJ, Speroff L, Simpson JL. ed, *Gynecology and Obstetrics*. Philadelphia: Hrapert-Row,1987: s5.
130. Porcile A, Gallardo E, Venagas E. Normprolactinemic anovulation nonresponsive to clomiphene citrate: ovulation induction with bromocriptine. *Fertil Steril.*1990;53(1):50-5.

131. Ron-El R, Herman A, Golon A. The comparison of early follicular and midluteal administration of long acting gonadotropin releasing hormone agonist. *Fertil Steril.*1990;54(2):233.
132. Dor J, Itzkowic DH, Mashiach S, Lunenfeld B, Serr DM. Cumulative conception rates following gonadotropin therapy. *Am J Obstet Gynecol.* 1980;136(1):102-5.
133. Kistner RW. Sequential use of clomiphene citrate and human menopausal gonadotropin in ovulation induction. *Fertil Steril.* 1976;27(1):72-82.
134. Lu PY, Lee SH, Chen ALJ, Erickson LD, Atkinson EJ, Ory SJ. Minimal stimulation achieves pregnancy rates comparable to human menopausal gonadotropins in the treatment of fertility. *Fertil Steril.* 1996;65(3):583-7.
135. Lunenfeld B, Insler V. Human gonadotropins. In Wallach EE, Zacur AH. Ed. *Reproductive medicine and surgery.* St Louise, Mosby;1995;s. 611.
136. Freour T, Masson D, Dessolle L, Allaoua D, Dejoie T, Mirallie S, Jean M, Barriere P. Ovarian reserve and in vitro fertilization cycles outcome according to women smoking status and stimulation regimen. *Arch Gynecol Obstet.* 2012;285(4):1177-82.
137. Kelly AC, Jewelewicz R. Alternate regimens for ovulation induction in polycystic ovarian disease. *Fertil Steril.*1990;54(2):195-202
138. March CM, Tredway DR, Mishell DR. Effect of pretreatment with clomiphene citrate upon human menopausal gonadotropin therapy for anovulation. *Am J Obstet Gynecol.*1976;125(5):699-704.
139. Chetkowski RJ, Druse LR, Nass TE. Improved pregnancy outcome with the addition of leuprolide acetate to gonadotropins for in vitro fertilization. *Fertil Steril.*1989;52(2):250-5
140. Kettel LM, Rosef SH, Berga SL, Mortola JF. Hypotalamic-pituitary-ovarian response to clomiphene citrate in women with polycystic ovarian syndrome *Fertil Steril.*1993;59(3):532-8

141. Houmard BS, Juang MP, Soules MR, Fujimoto VY. Factors influencing pregnancy rates with a combined clomiphene citrate/gonadotropin protocol for non-assisted reproductive technology fertility treatment. *Fertil Steril.* 2002;77(2):384-6.
142. Hughes E, Collins J, Vandekerckhove P. Clomiphene citrate for ovulation induction in women with oligo-amenorrhoea. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; 2:CD000056.
143. Blacker CM. Ovulation stimulation and induction. In: Moghissi KS. Ed, *Endocrinology and metabolism clinics of north America: Reproductive Endocrinology.* WB Saunders, 1992.
144. Hughes SM, Huang ZH, Morris ID, Matson PL, Buck P, Lieberman BA. A double blind, crossover, controlled study to evaluate the effect of human biosynthetic growth hormone on ovarian stimulation in previous poor responders to in vitro fertilization. *Hum Reprod.* 1994;9(1):3-8.
145. Ibrahim ZH, Matson PL, Buck P, Lieberman BA. The use of biosynthetic human growth hormone to augment ovulation induction in with buserelin acetate/human menopausal gonadotropin in women with a poor ovarian response. *Fertil Steril.* 1991;55(1):202-4.
146. Kemmann E, Jones JR. Sequential clomiphene citrate-menotropin therapy for induction or enhancement of ovulation. *Fertil Steril.* 1983; 39(6):772-9.
147. Kistner RW. Ovulation: clinical aspects. In Balin H. And Glasser S. (eds) *Reproductive Biology.* Amsterdam: Excerpta Medica; 1972. s.477.
148. Carmina E, Lobo RA. In In Strauss FJ, Barbieri RL (eds), *Reproductive endocrinology.* Pennsylvania: Elsevier Inc., 5th ed, 2004, pp 939-961
149. Hugues JN. Ovarian stimulation for assisted reproductive technologies. In Vayana E, Rowe PS, Griffin PD (eds), *Current practices and controversies in assisted reproduction: report of a WHO meeting.* Geneva: WHO, 2002, pp 102-125.

150. The European Recombinant Human Chorionic Gonadotrophin Study Group. Induction of final follicular maturation and early luteinization in women undergoing ovulation induction for assisted reproduction treatment-recombinant HCG versus urinary HCG. *Human Reproduction*. 2000;15(7):1446-51.
151. Driscoll GL, Tyler JP, Hangan JT, Fisher PR, Birdsall MA, Knight DC. A prospective, randomized, controlled, double-blind, double-dummy comparison of recombinant and urinary HCG for inducing oocyte maturation and follicular luteinization in ovarian stimulation. *Hum Reprod*. 2000;15(6):1305-10.
152. Itskovitz-Eldor J, Kol S, Mannaerts B. Use of a single bolus of GnRH agonist triptorelin to trigger ovulation after GnRH antagonist ganirelix treatment in women undergoing ovarian stimulation for assisted reproduction, with special reference to the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: preliminary report: short communication. *Hum Reprod*. 2000;15(9):1965-8.
153. Pritts EA, Atwood AK. Luteal phase support in infertility treatment: a meta-analysis of the randomized trials. *Human Reproduction*. 2002;17(9):2287-2299
154. Phelps JY, Levine AS, Hickman TN, Zacur HA, Wallach EE, Hinton EL. Day 4 estradiol levels predict pregnancy success in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for IVF. *Fertility and Sterility*. 1998;69(6):1015-19.
155. Dietterich C, Check JH, Choe JK, Nazari A, Lurie D. Increased endometrial thickness on the day of human chorionic gonadotropin injection does not adversely affect pregnancy or implantation rates following in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril*. 2002;77(4):781-6.
156. Al-Ghamdi A, Coskun S, Al-Hassan S, Al-Rejjal R, Awartani K. The correlation between endometrial thickness and outcome of in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) outcome. *Reprod Biol Endocrinol*. 2008;6:37.
157. Buyru F. In vitro Fertilizasyonda Ultrasonografi: Sedaroglu H, çeviri editörü. In vitro Fertilization Pratik Yaklaşım, İstanbul: Doğan Tıp Kitabevi; 2009.s.91-116
158. 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(2):328-36.
159. 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(2):294-7.
 160. 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(4):1073-8.
 161. Hendriks DJ, Mol BW, Bancsi LF, Te Velde ER, Broekmans FJ. Antral follicle count in the prediction of poor ovarian response and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level. *Fertil Steril*. 2005;83(2):291-301
 162. Vladimirov IK, Tacheva DM, Kalinov KB, Ivanova AV, Blagoeva VD. Prognostic value of some ovarian reserve tests in poor responders. *Arch Gynecol. Obstet* 2005;272(1):74-9.
 163. Erdem M, Erdem A, Gursoy R, Biberoglu K. Comparison of basal and clomiphene citrate induced FSH and inhibin B, ovarian volume and antral follicle counts as ovarian reserve tests and predictors of poor ovarian response in IVF. *J Assist Reprod Genet*. 2004;21(2):37-45
 164. 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(7):1752-6.
 165. Wallace WH, Kelsey TW. Ovarian reserve and reproductive age may be determined from measurement of ovarian volume by transvaginal sonography. *Hum Reprod*. 2004;19(7):1612-7.
 166. Cohen J, Debache C, Pez JP, Junca AM, Cohen-Bacrie P. Transvaginal sonographically controlled ovarian puncture for oocyte retrieval for in vitro fertilization. *J In Vitro Fert Embryo Transf*. 1986;3(5):309-13.

167. Gembruch U, Diedrich K, Welker B, Wahode J, van der Ven H, Al-Hasani S, Krebs D. Transvaginal sonographically guided oocyte retrieval for in-vitro fertilization. *Hum Reprod.*1988;3(Suppl 2):59-63.
168. Schulman JD, Dorfmann AD, Jones SL, Pitt CC, Joyce B, Patton LA. Outpatient in vitro fertilization using transvaginal ultrasound-guided oocyte retrieval. *Obstet Gynecol.*1987;69(4):665-8.
169. Wiseman DA, Short WB, Pattinson HA, Taylor PJ, Nicholson SF, Elliott PD, Fleetham JA, Mortimer ST. Oocyte retrieval in an in vitro fertilization-embryo transfer program: comparison of four methods. *Radiology.*1989;173(1):99-102.
170. Noyes N, Liu HC, Sultan K, Schattman G, Rosenwaks Z. Endometrial thickness appears to be a significant factor in embryo implantation in in-vitro fertilization. *Hum Reprod.*1995;10(4):919-22.
171. Stuart B, Drumm J, FitzGerald DE, Duignan NM. Fetal blood velocity waveforms in normal pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol.*1980;87(9):780-5.
172. Karande VC, Scott RT, Jones GS, Muasher SJ. Non-functional ovarian cysts do not affect ipsilateral or contralateral ovarian performance during in vitro fertilization, *Hum Reprod.*1990;5(4):431-3.
173. Thompson RS, Trudinger BJ, Cook CM. A comparison of Doppler ultrasound waveform indices in the umbilical artery. I: indices derived from the maximum velocity waveform. *Ultrasound Med Biol.*1986;12(11):835-44.
174. Thompson RS, Trudinger BJ, Cook CM. Doppler ultrasound waveform indices. AB ratio, pulsatility index and Pourcelot ratio. *Br J Obstet Gynaecol.* 1988;95(6):581-8.
175. Thompson RS, Trudinger BJ, Cook CM. A comparison of Doppler ultrasound waveform indices in the umbilical artery. II: indices derived from the mean velocity and first moment waveforms. *Ultrasound Med Biol.*1986;12(11):845-54.
176. Maulik D, Saini VD, Nanda NC, Rosenzweig MS. Doppler evaluation of fetal hemodynamics. *Ultrasound Med Biol.*1982;8(6):705-10.

177. Steer CV, Campbell S, Tan SL, Crayford T, Mills C, Mason BA, Collins WP. The use of transvaginal color flow imaging after in vitro fertilization to identify optimum uterine conditions before embryo transfer. *Fertil Steril.*1992;57(2):372-6.
178. Serafini P, Batzofin J, Nelson J, Olive D. Sonographic uterine predictors of pregnancy in women undergoing ovulation induction for assisted reproductive treatments. *Fertil Steril.*1994;62(4):815-22
179. Bassil S, Magritte JP, Roth J, Nisolle M, Donnez J, Gordts S. Uterine vascularity during stimulation and its correlation with implantation in in-vitro fertilization. *Hum Reprod.*1995;10(6):1497-1501.
180. Kurjak A, Kupesic-Urek S, Schulman H, Zalud I. Transvaginal color flow Doppler in the assessment of ovarian and uterine blood flow in infertile women. *Fertil Steril.*1991;56(5):870-3.
181. Goswamy RK, Steptoe PC. Doppler ultrasound studies of the uterine artery in spontaneous ovarian cycles. *Hum Reprod.*1988;3(6):721-6.
182. Tsai YC, Chang JC, Tai MJ, Kung FT, Yang LC, Chang SY. Relationship of uterine perfusion to outcome of intrauterine insemination. *J Ultrasound Med.* 1996;15(9):633-6.
183. Zaidi J, Campbell S, Pittrof R, Tan SL. Endometrial thickness, morphology, vascular penetration and velocimetry in predicting implantation in an in vitro fertilization program. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1995;6(3):191-8.
184. Bourne TH, Jurkovic D, Waterstone J, Campbell S, Collins WP. Intrafollicular blood flow during human ovulation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1991;1(1):53-9.
185. Brown BW, Emery MJ, Mattner PE. Ovarian arterial blood velocity measured with Doppler ultrasonic transducers in conscious ewes. *J Reprod Fertil.* 1980;58(2):295-300.
186. Maruyama T, Sachi Y, Furuke K, Kitaoka Y, Kanzaki H, Yoshimura Y, Yodoi J. Induction of thioredoxin, a redox-active protein, by ovarian steroid hormones

- during growth and differentiation of endometrial stromal cells in vitro. *Endocrinology*.1999;140(1):365-72.
187. Gruber CJ, Wieser F, Gruber IM, Ferlitsch K, Gruber DM, Huber JC. Current concepts in aesthetic endocrinology. *Gynecol Endocrinol*.2002;16(6):431-41.
188. Sundarrajan C, Liao W, Roy AC, Ng SC. Association of oestrogen receptor gene polymorphisms with outcome of ovarian stimulation in patients undergoing IVF. *Mol Hum Reprod*.1999;5(9):797-802.
189. Dahlman-Wright K, Cavailles V, Fuqua SA, Jordan VC, Katzenellenbogen JA, Korach KS, Maggi A, Muramatsu M, Parker MG, Gustafsson JA. International Union of Pharmacology. LXIV. Estrogen receptors. *Pharmacol Rev*. 2006;58(4):773-81.
190. Enmark E, Gustafsson JA. Oestrogen receptors - an overview. *J Intern Med*.1999;246(2):133-8.
191. Dubey RK, Jackson EK, Keller PJ, Imthurn B, Rosselli M. Estradiol metabolites inhibit endothelin synthesis by an estrogen receptorindependent mechanism. *Hypertension*.2001;37(2):640-4.
192. Klinge CM. Estrogen receptor interaction with estrogen response elements. *Nucleic Acids Res*.2001;29(14):2905-19.
193. Wu TC, Wang L, Wan YJ. Detection of estrogen receptor Messenger ribonucleic acid in human oocytes and cumulus-oocyte complexes using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Fertil Steril*.1993;59(1):54-9.
194. Hurst BS, Zilberstein M, Chou JY, Litman B, Stephens J, Leslie KK. Estrogen receptors are present in human granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80(1):229-32.
195. Hillier SG, Smyth CD, Whitelaw PF, Miro F, Howles CM. Gonadotrophin control of follicular function. *Horm Res*.1995;43(5):216-23.
196. Klinge CM. Estrogen receptor interaction with co-activators and co-repressors. *Steroids*.2000;65(5):227-51.

197. Hall JM, Couse JF, Korach KS. J Biol Chem. The multifaceted mechanisms of estradiol and estrogen receptor signaling. *J Biol Chem.*2001;276(40):36869-72.
198. Metzger D, Ali S, Bornert J, Chambon P. Characterization of the Amino-terminal Transcriptional Activation Function of the Human Estrogen Receptor in Animal and Yeast Cells. *J Biol Chem.*1995;270(16): 9535-42
199. Ogawa S, Inoue S, Watanabe T, Hiroi H, Orimo A, Hosoi T, Ouchi Y, Muramatsu M. The complete primary structure of human estrogen receptor beta (hER beta) and its heterodimerization with ER alpha in vivo and in vitro. *Biochem Biophys Res Commun.*1998;243(1):122-6.
200. Babiker FA, De Windt LJ, Eickels M, Grohe C, Meyer R, Doenemdans PA. Estrogenic Hormone Action in The Heart: Regulatory Network and Function. *Cardiovasc Res.*2002;53(3):709-19.
201. Kong EH, Pike ACW, Hubbard RE, Structure and Mechanism of the Oestrogen Receptor, *Biochem Soc Trans.*2003;31(Pt 1):56-9.
202. Nilsson S, Mäkelä S, Treuter E, Tujague M, Thomsen J, Andersson G, Enmark E, Pettersson K, Warner M, Gustafsson JA. Mechanisms of Estrogen Action. *Physiol. Rev* 2001;81(4):1535-65.
203. Walter P, Green S, Greene G, Krust A, Bornert JM, Jeltsch JM, Staub A, Jensen E, Scrace G, Waterfield M, Chambon P. Cloning of the human estrogen receptor cDNA. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1985;82(23):7889-93.
204. Andersen TI, Heimdal KR, Skrede M, Tveit K, Berg K, Borresen AL, Oestrogen Receptor (ESR) Polymorphisms and Breast Cancer Susceptibility. *Hum. Genet.* 1994;94(6):665-670.
205. Schuur ER, Loktev AV, Sharma M, Sun Z, Roth RA, Weigel RJ. Ligand-dependent interaction of estrogen receptor-alpha with members of the forkhead transcription factor family. *J Biol Chem.* 2001;276(36):33554-60.
206. Kos M, Reid G, Denger S, Gannon F. Minireview: genomic organization of the human ER alpha gene promoter region. *Mol Endocrinol.* 2001;15(12):2057-63.

207. Passarge E. Renkli Genetik Atlası, Formal Genetik: Polimorfizm. Luleci G, Sakizli M. 2.baskı, İstanbul: Nobel Tıp - Yuce Yayınları; 2000. s.156
208. Altmäe S, Haller K, Peters M, Hovatta O, Stavreus-Evers A, Karro H, Metspalu A, Salumets A. Allelic estrogen receptor 1 (ESR1) gene variants predict the outcome of ovarian stimulation in in vitro fertilization. *Mol Hum Reprod.* 2007;13(8):521-6
209. Georgiou I, Konstantelli M, Syrrou M, Messinis IE, Lolis DE. Oestrogen receptor gene polymorphisms and ovarian stimulation for in-vitro fertilization. *Hum Reprod.*1997;12(7):1430-3.
210. Lehrer SP, Schmutzler RK, Rabin JM, Schachter BS. An estrogen receptor genetic polymorphism and a history of spontaneous abortion--correlation in women with estrogen receptor positive breast cancer but not in women with estrogen receptor negative breast cancer or in women without cancer. *Breast Cancer Res Treat.*1993;26(2):175-80.
211. Syrrou M, Georgiou I, Patsalis PC, Bouba I, Adonakis G, Pagoulatos GN. Fragile X premutations and (TA)_n estrogen receptor polymorphism in women with ovarian dysfunction. *Am J Med Genet.*1999;84(3):306-8.
212. Bretherick KL, Hanna CW, Currie LM, Fluker MR, Hammond GL, Robinson WP. Estrogen receptor alpha gene polymorphisms are associated with idiopathic premature ovarian failure. *Fertil Steril.*2008;89(2):318-24.
213. Pollak A, Rokach A, Blumenfeld A, Rosen LJ, Resnik L, Dresner Pollak R. Association of oestrogen receptor alpha gene polymorphism with the angiographic extent of coronary artery disease. *Eur Heart J.*2004;25(3):240-5.
214. Shearman AM, Cupples LA, Demissie S, Peter I, Schmid CH, Karas RH, Mendelsohn ME, Housman DE, Levy D. Association between estrogen receptor alpha gene variation and cardiovascular disease. *JAMA.* 2003; 290(17):2263-70.
215. Matsubara Y, Murata M, Kawano K, Zama T, Aoki N, Yoshino H, Watanabe G, Ishikawa K, Ikeda Y. Genotype distribution of estrogen receptor polymorphisms in men and postmenopausal women from healthy and coronary populations and

- its relation to serum lipid levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17(11):3006-12.
216. Mosselman S, Polman J, Dijkema R. ER beta: identification and characterization of a novel human estrogen receptor. *FEBS Lett.* 1996;392(1):49-53
217. Hsieh YY, Wang YK, Chang CC, Lin CS. Estrogen receptor alpha-351 XbaI*G and -397 PvuII*C-related genotypes and alleles are associated with higher susceptibilities of endometriosis and leiomyoma. *Mol Hum Reprod.* 2007;13(2):117-22
218. Sundarajan C, Liao WX, Roy AC, Ng SC. Association between estrogen receptor-beta gene polymorphisms and ovulatory dysfunctions in patients with menstrual disorders. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(1):135-9.
219. Altmäe S, Haller K, Peters M, Hovatta O, Stavreus-Evers A, Karro H, Metspalu A, Salumets A. Allelic estrogen receptor 1 (ESR1) gene variants predict the outcome of ovarian stimulation in in vitro fertilization. *Mol Hum Reprod.* 2007;13(8):521-6.
220. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet.* 1978;2(8085):366.
221. Swain EJ, Smith; Mechanism of oocyte maturation . In: Tan SL, Chian RC, Buckett WM editors. *In-Vitro Maturation of Human Oocytes, Basic Science to Clinical Application*, 1st ed. Montreal, Informa Health Care press. 2007; p:83–101
222. Özcan C. Embriyoner Gelişim. Delilbaşı L. editör. *İn Vitro Fertilizasyon (IVF) Laboratuvar Yöntemleri (Yeni Uygulamalar Ve Güncel Yaklaşımlar)*, 1. baskı. 2008; s:117–125
223. Jurisicova A, Varmuza S, Casper RF. Programmed cell death and human embryo fragmentation. *Mol Hum Reprod* 1996;2:93-8.
224. Giorgetti C, Terriou P, Auquier P, Hans E, Spach JL, Salzmann J, Roulier R. Embryo score to predict implantation after in-vitro fertilization: based on 957 single embryo transfers. *Hum Reprod.* 1995;10(9):2427–31.

225. Antczak M, Van Blerkom J. Temporal and spatial aspects of fragmentation in early human embryos: possible effects on developmental competence and association with the differential elimination of regulatory proteins from polarized domains. *Hum Reprod.*1999;2:429–47.
226. Haris SE, Picton HM. Metabolism of follicles and oocytes during growth and maturation. In: Tan SL, Chian RC, Buckett WM editors. *In-Vitro Maturation of Human Oocytes, Basic Science to Clinical Application*, 1st ed. Montreal, Informa Health Care press.2007; p:15–36
227. Kowaltowski AJ, Vercesi AE. Mitochondrial damage induced by conditions of oxidative stress. *Free Radic Biol Med.*1999;26(3-4):463–71.
228. Maheshwari A, Fowler P, Bhattacharya S. Assessment of ovarian reserve--should we perform tests of ovarian reserve routinely? *Hum Reprod.* 2006;21(11):2729-35.
229. Johnson NP, Bagrie EM, Coomarasamy A, Bhattacharya S, Shelling AN, Jessop S, Farquhar C, Khan KS. Ovarian reserve tests for predicting fertility outcomes for assisted reproductive technology: the International Systematic Collaboration of Ovarian Reserve Evaluation protocol for a systematic review of ovarian reserve test accuracy. *BJOG.* 2006;113(12):1472-80.
230. Gougeon A. Ovarian follicular growth in humans: ovarian ageing and population of growing follicles. *Maturitas.*1998;30(2):137–142.
231. Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. *Endocr Rev.*1996;17(2):121-155.
232. 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(3):505-10.
233. Tomas C, Nuojua-Huttunen S, Martikainen H. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in in-vitro fertilisation. *Hum Reprod.*1997;12:220-3

234. Frattarelli JL, Lauria-Costab DF, Miller BT, Bergh PA, Scott RT. Basal antral follicle number and mean ovarian diameter predict cycle cancellation and ovarian responsiveness in assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril*. 2000;74(3):512-7.
235. Ng EH, Tang OS, Ho PC. The significance of the number of antral follicles prior to stimulation in predicting ovarian responses in an IVF programme. *Hum Reprod*. 2000;15(9):1937-42.
236. Bukulmez O, Arici A. Assessment of ovarian reserve. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2004;16(3):231-7.
237. Tufan E, Elter K, Durmusoglu F. Assessment of reproductive ageing patterns by hormonal and ultrasonographic ovarian reserve tests. *Hum Reprod*. 2004;19(11):2484-9.
238. Hsieh YY, Chang CC, Tsai HD. Antral follicle counting in predicting the retrieved oocyte number after ovarian hyperstimulation. *J Assist Reprod Genet*. 2001;18(6):320-4.
239. Ng EH, Tang OS, Chan CC, Ho PC. Ovarian stromal blood flow in the prediction of ovarian response during in vitro fertilization treatment. *Hum Reprod*. 2005;20(11):3147-51.
240. Kupesic S, Kurjak A, Bjelos D, Vujisic S. Three-dimensional ultrasonographic ovarian measurements and in vitro fertilization outcome are related to age *Fertil Steril*. 2003;79(1):190-7.
241. Jayaprakasan K, Hilwah N, Kendall NR, Hopkisson JF, Campbell BK, Johnson IR, Raine-Fenning NJ. Does 3D ultrasound offer any advantage in the pretreatment assessment of ovarian reserve and prediction of outcome after assisted reproduction treatment?. *Hum Reprod*. 2007;22(7):1932-41.
242. Gupta S, Sharma D, Surti N, Kesavan S, Khanna P, Agarwal A. Ovarian reserve testing: systematic review of the literature *Arch Med Sci*. 2009; 5(1A):143-50.
243. Lass A, Vassiliev A, Decosterd G, Warne D, Loumaye E. Relationship of baseline ovarian volume to ovarian response in World Health Organization II

- anovulatory patients who underwent ovulation induction with gonadotropins. *Fertil Steril*.2002;78(2):265-9.
244. Lass A, Brinsden P. The role of ovarian volume in reproductive medicine. *Hum Reprod Update*.1999;5(3):256-66.
245. Mercé LT, Bau S, Barco MJ, Troyano J, Gay R, Sotos F, Villa A. Assessment of the ovarian volume, number and volume of follicles and ovarian vascularity by three-dimensional ultrasonography and power Doppler angiography on the HCG day to predict the outcome in IVF/ICSI cycles. *Hum Reprod*.2006;21(5):1218-26.
246. Muttukrishna S, Suharjono H, McGarrigle H, Sathanandan M. Inhibin B and anti-Mullerian hormone: markers of ovarian response in IVF/ICSI patients? *BJOG*.2004;111(11):1248-53.
247. Danforth DR, Arbogast LK, Mroueh J, Kim MH, Kennard EA, Seifer DB, Friedman CI. Dimeric inhibin: a direct marker of ovarian aging. *Fertil Steril*. 1998;70(1):119-23.
248. Hall JE, Welt CK, Cramer DW. Inhibin A and inhibin B reflect ovarian function in assisted reproduction but are less useful at predicting outcome. *Hum Reprod*.1999;14(2):409-15.
249. Creus M, Peñarrubia J, Fábregues F, Vidal E, Carmona F, Casamitjana R, Vanrell JA, Balasch J. Day 3 serum inhibin B and FSH and age as predictors of assisted reproduction treatment outcome. *Hum Reprod*.2000;15(11):2341-6.
250. Kligman I, Rosenwaks Z. Differentiating clinical profiles: predicting good responders, poor responders and hyper responders. *Fertil Steril*.2001;76(6):1185-90.
251. Fiçicioğlu C, Kutlu T, Demirbaşoğlu S, Mulayim B. The role of inhibin B as a basal determinant of ovarian reserve. *Gynecol Endocrinol*. 2003;17(4):287-93.
252. Corson SL, Gutmann J, Batzer FR, Wallace H, Klein N, Soules MR. Inhibin-B as a test of ovarian reserve for infertile women. *Hum Reprod*. 1999; 14(11): 2818-2821.

253. Klein NA, Illingworth PJ, Groome NP, McNeilly AS, Battaglia DE, Soules MR. Decreased inhibin B secretion is associated with the monotropic FSH rise in older, ovulatory women: a study of serum and follicular fluid levels of dimeric inhibin A and B in spontaneous menstrual cycles. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(7):2742-5.
254. Eldar-Geva T, Ben-Chetrit A, Spitz IM, Rabinowitz R, Markowitz E, Mimoni T, Gal M, Zylber-Haran E, Margalioth EJ. Dynamic assays of inhibin B, anti-Mullerian hormone and estradiol following FSH stimulation and ovarian ultrasonography as predictors of IVF outcome. *Hum Reprod.* 2005;20(11):3178-83.
255. Faddy MJ, Gosden RG. A model conforming the decline in follicle numbers to the age of menopause in women. *Hum Reprod.* 1996;11(7):1484-6.
256. 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(1):63-8.
257. Tomas C, Nuojua-Huttunen S, Martikainen H. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in in vitro fertilization. *Hum Reprod.* 1997;12(2):220-3.
258. Pellicer A, Ardiles G, Neuspiller F, Remohi J, Simon C and Bonilla-Musoles F. Evaluation of the ovarian reserve in young low responders with normal basal levels of follicle-stimulating hormone using three-dimensional ultrasonography. *Fertil Steril.* 1998;70(4):671-5.
259. Dumesic DA, Damario MA, Session DR, Famuyide A, Lesnick TG, Thornhill AR, McNeilly AS. Ovarian morphology and serum hormone markers as predictors of ovarian follicle recruitment by gonadotropins for in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(6):2538-43.
260. Scott RT Jr, Hofmann GE, Oehninger S, Muasher SJ. Intercycle variability of day 3 follicle-stimulating hormone levels and its effect on stimulation quality in in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 1990;54(2):297-302.

261. 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(5):1091-1100.
262. Tinkanen H, Blauer M, Laippala P, Tuohimaa P, Kujansuu E. Prognostic factors in controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril.*1999; 72(5):932-6
263. Creus M, Penarrubia J, Fabregues F, Vidal E, Carmona F, Casamitjana R, Vanrell JA, Balasch J. Day 3 serum inhibin B and FSH and age as predictors of assisted reproduction treatment outcome. *Hum Reprod.*2000;15(11):2341-6.
264. Ravhon A, Lavery S, Michael S, Donaldson M, Margara R, Trew G, Winston R. Dynamic assays of inhibin B and oestradiol following buserelin acetate administration as predictors of ovarian response in IVF. *Hum Reprod.*2000; 15(11):2297-2301.
265. Popovic-Todorovic B, Loft A, Lindhard A, Bangsboll S, Andersson AM, Andersen AN. A prospective study of predictive factors of ovarian response in 'standard' IVF/ICSI patients treated with recombinant FSH. A suggestion for a recombinant FSH dosage normogram. *Hum Reprod.*2003;18(4):781-7.
266. Yong PY, Baird DT, Thong KJ, McNeilly AS, Anderson RA. Prospective analysis of the relationships between the ovarian follicle cohort and basal FSH concentration, the inhibin response to exogenous FSH and ovarian follicle number at different stages of the normal menstrual cycle and after pituitary down-regulation. *Hum Reprod.*2003;18(1):35-44.
267. Van Rooij IA, de Jong E, Broekmans FJ, Looman CW, Habbema JD, te Velde ER. High follicle-stimulating hormone levels should not necessarily lead to the exclusion of subfertile patients from treatment. *Fertil Steril.*2004;81(6):1478-85.
268. Seifer DB, MacLaughlin DT, Christian BP, Feng B, Shelden RM. Early follicular serum müllerian-inhibiting substance levels are associated with ovarian response during assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril.* 2002;77(3):468-71.

269. Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Mullerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum. Reprod.* 2003;18(2):323-7.
270. de Vet A, Laven JS, de Jong FH, Themmen AP, Fauser BC. Fertil Steril. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. 2002;77(2):357-62.
271. Liu HM, Xing FQ, Wu FL. Glycodelin in IVF-ET cycles: its association with endometrial receptivity and impact on the outcome of pregnancy. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.*2006;26(8):1227-9.
272. Asimakopoulos B, Köster F, Felberbaum R, Al-Hasani S, Diedrich K, Nikolettos N. Cytokine and hormonal profile in bloodserum and follicular fluids during ovarian stimulation with the multidose antagonist or the long agonist protocol. *Hum Reprod.*2006;21(12):3091-5.
273. Albano C, Felberbaum RE, Smits J, Riethmüller-Winzen H, Engel J, Diedrich K, Devroey P. Controlled ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the LHRH-antagonist cetrorelix (cetrotide) and the LHRH-agonist buserelin. *Hum Reprod.* 2000;15(3):526-31.
274. Borm G, Mannaerts BMJL. Treatment with the gonadotrophin releasing hormone antagonist ganirelix in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone is effective, safe and convenient: results of a controlled, randomized, multicentre trial. The European Orgalutran Study Group. *Hum Reprod.*2000;15(7);1490-98
275. Ludwig M, Felberbaum RE, Devroey P, Albano C, Riethmüller-Winzen H, Schüler A, Engel W, Diedrich K. Significant reduction of the incidence of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) by using the LHRH antagonist Cetrorelix (Cetrotide) in controlled ovarian stimulation for assisted reproduction. *Arch Gynecol Obstet.*2000;264(1):29-32.

276. Olivennes F, Belaisch-Allart J, Emperaire JC, Dechaud H, Alvarez S, Moreau L, Nicollet B, Zorn JR, Bouchard P, Frydman R. A prospective randomized controlled study in IVF-ET with a single dose of a LH-RH antagonist (cetorelix) or a depot formula of a LH-RH agonist (triptorelin). *Fertil Steril.*2000;73(2):314-20.
277. European-Middle East Orgalutran Study Group (2001) Comparable clinical outcome using the GnRH antagonist ganirelix or a long protocol of the GnRH agonist triptorelin for the prevention of premature LH surges in women undergoing ovarian stimulation. *Hum Reprod.*16,644-51.
278. Fluker M, Grifo J, Leader A, Levy M, Meldrum D, Muasher SJ, Rinehart J, Rosenwaks Z, Scott RT Jr, Schoolcraft W, Shapiro DB; North American Ganirelix Study Group. Efficacy and safety of ganirelix acetate versus leuprolide acetate in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation.*Fertil Steril.* 2001;75(1):38-45.
279. Al-Inany H, Aboulghar M. GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review. *Hum Reprod.*2002;17(4):874-85.
280. Roulier R, Chabert-Orsini V, Sitri MC, Barry B, Terriou P. Depot GnRH agonist versus the single dose GnRH antagonist regimen (cetorelix, 3 mg) in patients undergoing assisted reproduction treatment. *Reprod Biomed Online.* 2003;7(2),185-9.
281. Van Blerkom J, Davis PW, Lee J. ATP content of human oocytes and developmental potential and outcome after in-vitro fertilization and embryo transfer. *Hum Reprod.*1995;10(2):415-2
282. Geva E, Jaffe RB. Role of vascular endothelial growth factor in ovarian physiology and pathology. *Fertil Steril.*2000;74(3):429-38.
283. Lee A, Christenson LK, Stouffer RL, Burry KA, Patton PE. Vascular endothelial growth factor levels in serum and follicular fluid of patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril.*1997;68(2):305-11

284. Moncayo HE, Penz-Koza A, Marth C, Gastl G, Herold M, Moncayo R. Vascular endothelial growth factor in serum and in the follicular fluid of patients undergoing hormonal stimulation for in-vitro fertilization. *Hum Reprod.* 1998;13(12):3310-4.
285. Artini PG, Monti M, Fasciani A, Tartaglia ML, D'Ambrogio G, Genazzani AR. Correlation between the amount of follicle-stimulating hormone administered and plasma and follicular fluid vascular endothelial growth factor concentrations in women undergoing in vitro fertilization. *Gynecol Endocrinol.* 1998;12(4):243-7.
286. Pellicer A, Albert C, Mercader A, Bonilla-Musoles F, Remohí J, Simón C. The follicular and endocrine environment in women with endometriosis: local and systemic cytokine production. *Fertil Steril.* 1998;70(3):425-31.
287. Pellicer A, Albert C, Mercader A, Bonilla-Musoles F, Remohí J, Simón C. The pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome: in vivo studies investigating the role of interleukin-1beta, interleukin-6, and vascular endothelial growth factor. *Fertil Steril.* 1999;71(3):482-9.
288. Battaglia C, Genazzani AD, Regnani G, Primavera MR, Petraglia F, Volpe A. Perifollicular Doppler flow and follicular fluid vascular endothelial growth factor concentrations in poor responders. *Fertil Steril.* 2000;74(4):809-12.
289. Manau D, Balasch J, Jiménez W, Fábregues F, Cívico S, Casamitjana R, Creus M, Vanrell JA. Follicular fluid concentrations of adrenomedullin, vascular endothelial growth factor and nitric oxide in IVF cycles: relationship to ovarian response. *Hum Reprod.* 2000;15(6):1295-9.
290. Unkila-Kallio L, Vuorela-Vepsäläinen P, Titinen A, Halmesmäki E, Ylikorkala O (2000) No cyclicality in serum vascular endothelial growth factor during normal menstrual cycle but significant luteal phase elevation during an in vitro fertilization program. *Am J Reprod Immunol.* 2000;43(1):25-30.
291. Agrawal R, Jacobs H, Payne N, Conway G. Concentration of vascular endothelial growth factor released by cultured human luteinized granulosa cells is higher in

- women with polycystic ovaries than in women with normal ovaries. *Fertil Steril*.2002;78(6),1164-9.
292. Licht P, Neuwinger J, Fischer O, Siebzehnrübl E, Wildt L. VEGF plasma pattern in ovulation induction: evidence for an episodic secretion and lack of immediate effect of hCG. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*.2002;110(3):130-3.
293. Manau D, Arroyo V, Jiménez W, Fábregues F, Vanrell JA, Balasch J. Chronology of hemodynamic changes in asymptomatic in vitro fertilization patients and relationship with ovarian steroids and cytokines. *Fertil Steril*. 2002;77(6):1178-83
294. Tokuyama O, Nakamura Y, Muso A, Fujino Y, Ishiko O, Ogita S. Vascular endothelial growth factor concentrations in follicular fluid obtained from IVF-ET patients: a comparison of hMG, clomiphene citrate, and natural cycle. *J Assist Reprod Genet*.2002;19(1),19-23.
295. Dorn C, Reinsberg J, Kupka M, van der Ven H, Schild RL. Leptin, VEGF, IGF-1, and IGFBP-3 concentrations in serum and follicular fluid of women undergoing in vitro fertilization. *Arch Gynecol Obstet*.2003;268(3):187-93.
296. Molskness TA, Stouffer RL, Burry KA, Gorrill MJ, Lee DM, Patton PE. Circulating levels of free and total vascular endothelial growth factor (VEGF) -A, soluble VEGF receptors-1 and -2, and angiogenin during ovarian stimulation in non-human primates and women. *Hum Reprod*.2004;19(4):822-30.
297. Ocal P, Aydin S, Cepni I, Idil S, Idil M, Uzun H, Benian A. Follicular fluid concentrations of vascular endothelial growth factor, inhibin A and inhibin B in IVF cycles: are they markers for ovarian response and pregnancy outcome? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*.2004;115(2):194–199
298. Oliveira VA, Abreu LG, Ferriani RA, Reis RM, Moura MD. Vascular endothelial growth factor in the plasma, follicular fluid and granulosa cells of women with endometriosis submitted to in vitro fertilization – a pilot study. *Gynecol Endocrinol*.2005;20(5),284-8.

299. Babayof R, Margalioth EJ, Huleihel M, Amash A, Zylber-Haran E, Gal M, Brooks B, Mimoni T, Eldar-Geva T. Serum inhibin A, VEGF and TNF alpha levels after triggering oocyte maturation with GnRH agonist compared with HCG in women with polycystic ovaries undergoing IVF treatment: a prospective randomized trial. *Hum Reprod.*2006;21(5),1260-5.
300. Krasnow JS, Berga SL, Guzick DS, Zeleznik AJ, Yeo KT. Vascular permeability factor and vascular endothelial growth factor in ovarian hyperstimulation syndrome: a preliminary report. *Fertil Steril.*1996;65:552-5.
301. Abramov Y, Barak V, Nisman B, Schenker JG. Vascular endothelial growth factor plasma levels correlate to the clinical picture in severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril.*1997;67:261-5.
302. Agrawal R, Conway G, Sladkevicius P, Tan SL, Engmann L, Payne N, Bekir J, Campbell S, Jacobs H. Serum vascular endothelial growth factor and Doppler blood flow velocities in in vitro fertilization: relevance to ovarian hyperstimulation syndrome and polycystic ovaries. *Fertil Steril.*1998;70:651-8.
303. Artini PG, Fasciani A, Monti M, Luisi S, D'Ambrogio G, Genazzani AR. Changes in vascular endothelial growth factor levels and the risk of ovarian hyperstimulation syndrome in women enrolled in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril.*1998;70:560-4.
304. Ludwig M, Bauer O, Loens A, Jelkmann W, Diedrich K. Serum concentrations of vascular endothelial growth factor cannot predict the course of severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod.*1998;13:30-2.
305. Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI, El Helw BA, Shaarawy M. Elevated levels of interleukin-2, soluble interleukin-2 receptor alpha, interleukin- 6, soluble interleukin-6 receptors and vascular endothelial growth factor in serum and ascitic fluid of patients with severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.*1999;87:81-5.
306. Agrawal R, Tan SL, Wild S, Sladkevicius P, Engmann L, Payne N, Bekir J, Campbell S, Conway G, Jacobs H. Serum vascular endothelial growth factor

- concentrations in in vitro fertilization cycles predicts the risk of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril*.1999;71:287-93.
307. D'Ambrogio G, Fasciani A, Monti M, Cattani R, Genazzani AR, Arini PG. Serum vascular endothelial growth factor levels before starting gonadotropin treatment in women who have developed moderate forms of ovarian hyperstimulation syndrome. *Gynecol Endocrinol*.1999;13:311-5.
308. Geva E, Amit A, Lessing JB, Lerner-Geva L, Daniel Y, Yovel I, Azem F, Barak V. Follicular fluid levels of ovarian endothelial growth factor. Are they predictive markers of ovarian hyperstimulation syndrome? *J Reprod Med*. 1999;44:91-6.
309. Ludwig M, Jelkmann W, Bauer O, Diedrich K. Prediction of severe ovarian hyperstimulation syndrome by free serum vascular endothelial growth factor concentration on the day of human chorionic gonadotrophin administration. *Hum Reprod*.1999;14:2437-41.
310. Pellicer A, Garrido N, Albert C, Navarro J, Remohí J, Simón C. Cytokines in older patients undergoing in vitro fertilization: the relationship to the response to controlled ovarian hyperstimulation. *J Assist Reprod Genet*.1999;16:247-52.
311. Chen C, Chen H, Lu H, Chen S, Ho H, Yang Y. Value of serum and follicular fluid cytokine profile in the prediction of moderate to severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod*.2000;15:1037-42.
312. Enskog A, Nilsson L, Brännström M. Plasma levels of free vascular endothelial growth165 (VEGF165) are not elevated during gonadotropin stimulation in in vitro fertilization (IVF) patients developing ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): results of a prospective cohort study matched controls. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*.2001;96:196-201.
313. Ogawa S, Minakami H, Araki S, Ohno T, Motoyama M, Shibahara H, Sato I. A rise of the serum level of von Willebrand factor occurs before clinical manifestation of the severe form of ovarian hyperstimulation syndrome. *J Assist Reprod Genet*.2001;6:114-9.

314. Artini PG, Monti M, Fasciani A, Battaglia C, D'Ambrogio G and Genazzani AR. Vascular endothelial growth factor, interleukin-6 and interleukin-2 in serum and follicular fluid of patients with ovarian hyperstimulation syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.*2002;101:169-74.
315. Mathur R, Hayman G, Bansal A and Jenkins J. Serum vascular endothelial growth factor levels are poorly predictive of subsequent ovarian hyperstimulation syndrome in highly responsive women undergoing assisted conception. *Fertil Steril.*2002;78:1154-8.
316. Wang T, Horng S, Chang C, Wu H, Tsai Y, Wang H and Soong Y. Human chorionic gonadotropin-induced ovarian hyperstimulation syndrome is associated with up-regulation of vascular endothelial growth factor. *J Clin Endocrinol Metab.*2002;87:3300-8.
317. Mc Elhinney B, Ardill J, Caldwell C, Lloyd F and McClure N. Variations in serum vascular endothelial growth factor binding profiles and the development of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril.*2002;78:286-90.
318. García-Velasco JA, Zuñiga A, Pacheco A, Gómez R, Simón C, Remohí J and Pellicer A Coasting acts through down regulation of VEGF gene expression and protein secretion. *Hum Reprod.*2004;19:1530-8.
319. Tozer AJ, Iles RK, Iammarrone E, Gillott CM, Al-Shawaf T, Grudzinskas JG. The effects of 'coasting' on follicular fluid concentrations of vascular endothelial growth factor in women at risk of developing ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod.*2004;19:522-8.
320. Pau E, Alonso-Muriel I, Gomez R, Novella E, Ruiz A, Garcia-Velasco JA, Simón C, Pellicer A. Plasma levels of soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 may determine the onset of early and late ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod.*2006;21(6):1453-60.
321. Manau D, Fábregues F, Peñarrubia J, Creus M, Carmona F, Casals G, Jiménez W, Balasch J. Vascular endothelial growth factor levels in serum and plasma from

- patients undergoing controlled ovarian hyperstimulation for IVF. *Hum Reprod.*2007;22(3):669-75.
322. Ghosh D, Sharkey AM, Charnock-Jones DS, Dhawan L, Dhara S, Smith SK, Sengupta J. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and placental growth factor (PlGF) in conceptus and endometrium during implantation in the rhesus monkey. *Mol Hum Reprod.*2000;6(10):935-41
 323. Adashi EY, Resnick CE, Pinckman NJ, Hurwitz A, Payne DW. Cytokine mediated regulation of ovarian function: tumor necrosis factor- α inhibits gonadotropin supported-progesterone accumulation by differentiating and luteinized murine granulosa cells. *Am J Obstet Gynecol.*1990;162:889-9.
 324. Roby KF, Terranova PF. Effects of tumor necrosis factor- α in vitro on steroidogenesis of healthy and atretic follicles of the rat: theca as a target. *Endocrinology.*1990;126:2711-8.
 325. Barak V, Mordel N, Holzer H, Zajicek G, Treves AJ, Laufer N. The correlation of interleukin 1 and tumour necrosis factor to oestradiol, progesterone and testosterone levels in periovulatory follicular fluid of in-vitro fertilization patients. *Hum Reprod.*1992;7: 462-4.
 326. Wang LJ, Brännström M, Robertson SA, Norman RJ. Tumor necrosis factor α in the human ovary: presence in follicular fluid and effects on cell proliferation and prostaglandin production. *Fertil Steril.*1992;58:934-40.
 327. Putowski L, Kotarski J. The effect of TNF- α on progesterone synthesis in vitro by cells from ovarian follicular fluid in women. *Ginekol Pol.*1995;66:330-4.
 328. Cianci A, Calogero AE, Palumbo MA, Burello N, Ciotta L, Palumbo G, Bernardini R. Relationship between tumour necrosis factor α and sex steroid concentrations in the follicular fluid of women with immunological infertility. *Hum Reprod.*1996;11:265-268.
 329. Friedman CI, Arbogast L, Danforth DR, Alak B, Herbosa-Encarnacion C, Seifer DB. Follicular fluid vascular endothelial growth factor concentrations are

- elevated in women of advanced reproductive age undergoing ovulation induction. *Fertil Steril*.1997;68:607-12.
330. Loret De Mola JR, Goldfarb JM, Hecht BR, Baumgardner GP, Babbo CJ, Friedlander MA. Gonadotropins induce the release of interleukin-1 β , interleukin-6 and tumor necrosis factor- α from the human preovulatory follicle. *Am J Reprod Immunol*.1998;39: 387-90.
331. Moncayo HE, Penz-Koza A, Marth C, Gastl G, Herold M, Moncayo R. Vascular endothelial growth factor in serum and in the follicular fluid of patients undergoing hormonal stimulation for in-vitro fertilization. *Hum Reprod*. 1998;13:3310-4.
332. Barroso G, Barrionuevo M, Rao P, Graham L, Danforth D, Huey S, Abuhamad A, Oehninger S. Vascular endothelial growth factor, nitric oxide, and leptin follicular fluid levels correlate negatively with embryo quality in IVF patients. *Fertil Steril*.1999;72:1024-6.
333. Hazzard TM, Molskness TA, Chaffin CL, Stouffer RL. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and angiopoietin regulation by gonadotrophin and steroids in macaque granulosa cells during the peri-ovulatory interval. *Mol Hum Reprod*. 1999;5:1115-21
334. Johnson ML, Murdoch J, Van Kirk EA, Kaltenbach JE, Murdoch WJ. Tumor necrosis factor alpha regulates collagenolytic activity in preovulatory ovine follicles: relationship to cytokine secretion by the oocyte-cumulus cell complex. *Biol Reprod*.1999;61(6):1581-5.
335. Kitawaki J, Kusuki I, Koshiha H, Tsukamoto K, Honjo H. Leptin directly stimulates aromatase activity in human luteinized granulosa cells. *Mol Hum Reprod*.1999;5(8):708-13.
336. Lee KS, Joo BS, Na YJ, Yoon MS, Choi OH, Kim WW. Relationships between concentrations of tumor necrosis factor- α and nitric oxide in follicular fluid and oocyte quality. *J Assist Reprod Genet*.2000;17(4):222-228.

337. Mantzoros CHS, Cramer DW, Liberman RF, Barbieri RL. Predictive value of serum and follicular fluid leptin concentrations during assisted reproductive cycles in normal women and in women with the polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod.*2000;15(3):539-544.
338. Aboul Enien WM, Lewis-Jones ID, Vince GS. Follicular fluid cytokines and IVF outcome. *Middle East Fertil Soc J.*2001;6:206-211.
339. Benifla JL, Bringuier AF, Sifer C, Porcher R, Madelenat P, Feldmann G. Vascular endothelial growth factor, platelet endothelial cell adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in the follicular fluid of patients undergoing IVF. *Hum Reprod.*2001;16(7):1376-1381.
340. Brannian JD, Schmidt SM, Kreger DO, Hansen KA. Baseline non fasting serum leptin concentration to body mass index ratio is predictive of IVF outcomes. *Hum Reprod.*2001;16(9):1819-1826.
341. Malamitsi-Puchner A, Sarandakou A, Baka Sg, Tziotis J, Rizos D, Hassiakos D, Creatsas G. Concentrations of angiogenic factors in follicular fluid and oocyte-cumulus complex culture medium from women undergoing in vitro fertilization: association with oocyte maturity and fertilization. *Fertil Steril.* 2001;76(1): 98-101.
342. Mendoza C, Cremades N, Ruiz-Requena E, Martinez F, Ortega E, Bernabeu S, Tesarik J Relationship between fertilization results after intracytoplasmic sperm injection, and intrafollicular steroid, pituitary hormone and cytokine concentrations. *Hum Reprod.*1999;14(3):628-35.
343. Mendoza C, Ruiz-Requena E, Ortega E, Cremades N, Martinez F, Bernabeu R, Greco E, Tesarik J. Follicular fluid markers of oocyte developmental potential. *Hum Reprod.*2002;17(4):1017-1022.
344. Ryan NK, Woodhouse CM, Van Der Hoek KK, Gilchrist Rb, Armstrong DT, Norman RJ. Expression of leptin and its receptor in the murine ovary: possible role in the regulation of oocyte maturation. *Biol Reprod.*2002;66(5):1548-1554

345. Tsai EM, Yang CH, Chen SC, Liu YH, Chen HS, Hsu SC, Lee JN. Leptin affects pregnancy outcome of in vitro fertilisation and steroidogenesis of human granulosa cells. *J Assist Reprod Genet.*2002;19(4):169-176.
346. Nikolettos N, Asimakopoulos B, Nicolettos N, Efthimiadou A, Mourvati E, Demirel C. Evaluation of leptin, interleukin-1beta, tumor necrosis factor-alpha and vascular endothelial growth factor in serum and follicular fluids of women undergoing controlled ovarian hyperstimulation as prognostic markers of ICSI outcome. *In Vivo* 2004;18(5):667-73.
347. Artini PG, Fasciani A, Monti M, Luisi S, D'Ambrogio G, Genazzani A. Changes in vascular endothelial growth factor levels and the risk of ovarian hyperstimulation syndrome in women enrolled in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril.*1998;70(3):560-564
348. Pellicer A, Garrido N, Albert C, Navarro J, Remohí J, Simón C. Cytokines in older patients undergoing in vitro fertilization: the relationship to the response to controlled ovarian hyperstimulation. *J Assist Reprod Genet.*1999;16(5):247-52.
349. Asimakopoulos B, Schopper B, Simopoulou M, Diedrich K, Al-Hasani S, Nikolettos N. Serum and follicular fluid cytokine and hormonal levels after ovarian stimulation. *PhysPharm* 2003, Odense, Denmark, Book of abstracts, p.45,2003.
350. Nikolettos N, Asimakopoulos B, Schopper B, Tentes I, Diedrich K, Al-Hasani S. Serum and follicular fluid hormonal and cytokine levels as markers of IVF outcome. *Hum Reprod.*2003;18(1):118-122
351. Ravindranath L, Little-Ihring LL, Philips HS. Vascular endothelial growth factor messenger ribonucleic acid expression in primate ovary. *Endocrinology.* 1992;131(1):254–60.
352. Kamat BR, Brown LF, Manseau EJ, Senser DR. Expression of VPF/VEGF by human granulosa and theca lutean cells: role in corpus luteum development. *Am J Pathol.*1995;146(1):157-65.

353. Christenson LK, Stouffer RL. Follicle stimulating hormone and luteinizing hormone/chorionic gonadotropin stimulation of vascular endothelial growth factor production by macaque granulosa cells from pre-and periovulatory follicles. *J Clin Endocrinol Metab.*1997;82(7):2135-42.
354. Stouffer RL, Martinez-Chequer JC, Molskness TA, Xu F, Hazzard TM. Regulation and action of angiogenic factors in the primate ovary. *Arch Med Res.* 2001;32(6):567-75.
355. Coppola F, Ferrari B, Barusi L, Caccavari V, Salvarani MC, Piantelli G. Follicular fluid levels of vascular endothelial growth factor and early corpus luteum function during assisted reproductive technology cycles. *J Exp Clin Assist Reprod.*2005;2:13.
356. Neeman M, Abramovitch R, Schiffenbauer YS, Tempel C. Regulation of angiogenesis by hypoxic stress: from solid tumours to the ovarian follicle. *Int J Exp Pathol.*1997;78(2):57-70.
357. Koga K, Osuga Y, Tsutsumi O, Momoeda M, Suenaga A, Kugu K, Fujiwara T, Takai Y, Yano T, Taketani Y. Evidence for the presence of angiogenin in human follicular fluid and the up-regulation of its production by human chorionic gonadotropin and hypoxia. *J Clin Endocrinol Metab.*2000; 85(9):3352-55.
358. Gosden RG, Byatt-Smith JG. Oxygen concentration gradient across the ovarian follicular epithelium: model, predictions and implications. *Hum Reprod.* 1986;1(2):65-68.
359. Cheung LP, Lam PM, Lok IH, Chiu TT, Yeung SY, Tjer CC, Haines CJ. GnRH antagonist versus long GnRH agonist protocol in poor responders undergoing IVF: a randomized controlled trial. *Hum Reprod.*2005;20(3):616-21.
360. Akman MA, Erden HF, Tosun SB, Bayazit N, Aksoy E, Bahceci M. Addition of GnRH antagonist in cycles of poor responders undergoing IVF. *Hum Reprod.* 2000;15(10):2145-7.
361. Fasouliotis SJ, Laufer N, Sabbagh-Ehrlich S, Lewin A, Hurwitz A, Simon A. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-antagonist versus GnRH agonist in

- ovarian stimulation of poor responders undergoing IVF. *J Assist Reprod Genet.* 2003;20(11):455-60
362. European and Middle East Orgalutran Study Group. Comparable clinical outcome using the GnRH antagonist ganirelix or a long protocol of the GnRH agonist triptorelin for the prevention of premature LH surges in women undergoing ovarian stimulation. *Hum Reprod.*2001;16(4):644-51.
363. Albano C, Felberbaum RE, Smitz J, Riethmüller-Winzen H, Engel J, Diedrich K, Devroey P. Ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)- antagonist cetrorelix and the LHRH-agonist buserelin. European Cetrorelix Study Group. *Hum Reprod.*2000;15(3):526–31
364. Borm G, Mannaerts B. Treatment with the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone is effective, safe and convenient: results of a controlled, randomized, multicentre trial. The European Orgalutran Study Group. *Hum Reprod.*2000;15(7):1490-8.
365. Buscher U, Chen FC, Kentenich H, Schmiady H. Cytokines in the follicular fluid of stimulated and non-stimulated human ovaries; is ovulation a suppressed inflammatory reaction? *Hum Reprod.*1999;14(1):162-166.
366. Mendoza C, Ruiz-Requena E, Ortega E, Cremades N, Martinez F, Bernabeu R, Greco E, Tesarik J. Follicular fluid markers of oocyte developmental potential. *Hum Reprod.*2002;17(4):1017-1022.
367. Hammadeh ME, Fischer-Hammadeh C, Amer AS, Rosenbaum P, Schmidt W. Relationship between cytokine concentration in serum and preovulatory follicular fluid and in-vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection outcome. *Chem Immunol Allergy.*2005;88:80-97.
368. Asimakopoulos B, Abu-Hassan D, Metzen E, Al-Hasani S, Diedrich K, Nikolettos N. The levels of steroid hormones and cytokines in individual follicles

- are not associated with the fertilization outcome after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*.2008;90(1):60-64.
369. Asimakopoulos B, Koster F, Felberbaum R, Al-Hasani S, Diedrich K, Nikolettos N. Cytokine and hormonal profile in blood serum and follicular fluids during ovarian stimulation with the multidose antagonist or the long agonist protocol. *Hum Reprod*.2006;21(12):3091-3095
370. Nikolettos N, Asimakopoulos B, Koster F, Schopper B, Schulz C, Caglar GS, Efthimiadou A, Pagonopoulou O, Diedrich K, Al-Hasani S. Cytokine profile in cases with premature elevation of progesterone serum concentrations during ovarian stimulation. *Physiol Res*.2008;57(2):215-224.
371. Simon C, Frances A, Piquette G, Polan ML. Immunohistochemical localization of the interleukin-1 system in the mouse ovary during follicular growth, ovulation and luteinization. *Biology of Reproduction*.1994;50(2): 449-457.
372. Castro-Rendon WA, Castro-Alvarez JF, Guzman-Martinez C, Bueno-Sanchez JC. Blastocyst-endometrium interaction: intertwining a cytokine network. *Braz J Med Biol Res*.2006;39(11):1373-1385.
373. Sawai K, Matsuzaki N, Okada T, Shimoya K, Koyama M, Azuma C, Saji F, Murata Y. Human decidual cell biosynthesis of leukemia inhibitory factor: regulation by decidual cytokines and steroid hormones. *Biol Reprod*. 1997;56(5):1274–1280.
374. Lindhard A, Bentin-Ley U, Ravn V, Islin H, Hviid T, Rex S, Bangsbøll S, Sørensen S. Biochemical evaluation of endometrial function at the time of implantation. *Fertil Steril*.2002;78(2):221-33.
375. Fanchin R. Assessing uterine receptivity in 2001: ultrasonographic glances at the new millennium. *Ann N Y Acad Sci*.2001;943:185-202.
376. Friedler S, Schenker JG, Herman A, Lewin A. The role of ultrasonography in the evaluation of endometrial receptivity following assisted reproductive treatments: a critical review. *Hum Reprod Update*.1996;2(4):323-35.

377. Engels V, Sanfrutos L, Pérez-Medina T, Álvarez P, Zapardiel I, Bueno B, Godoy-Tundidor S, Bajo-Arenas JM. Evaluation of endometrial and subendometrial vascularization and endometrial volume by 3-D power Doppler ultrasound and its relationship with age and pregnancy in intrauterine insemination cycles. *Gynecol Obstet Invest.*2011;72(2):117-22.
378. Senturk LM, Erel CT. Thin endometrium in assisted reproductive technology. *Curr Opin Obstet Gynecol.*2008;20(3):221-8
379. Ueno J, Oehninger S, Brzyski RG, Acosta AA, Philput CB, Muasher SJ. Ultrasonographic appearance of the endometrium in natural and stimulated in-vitro fertilization cycles and its correlation with outcome. *Hum Reprod.* 1991;6(7):901-4.
380. Basir GS, O WS, So WW, Ng EH, Ho PC. Evaluation of cycle-to-cycle variation of endometrial responsiveness using transvaginal sonography in women undergoing assisted reproduction. *Ultrasound Obstet Gynecol.*2002;19(5):484-9
381. Yamamoto KR. Steroid receptor regulated transcription of specific genes and gene networks. *Annu Rev Genet.*1985;19:209-52
382. Richards JS. Content of nuclear estradiol receptor complex in rat granulosa cells during follicular development: modification by estradiol and gonadotropins. *Endocrinology.*1975;96(1):227-30.
383. Goldenberg RL, Vaitukaitis JL, Ross GT. Estrogen and follicle stimulation hormone interactions on follicle growth in rats. *Endocrinology.*1972;90(6):1492-8.
384. Ireland JJ, Richards JS. Acute effects of estradiol and folliclestimulating hormone on specific binding of human [125I]-iodo-folliclestimulating hormone to rat ovarian granulosa cells in vivo and in vitro. *Endocrinology.* 1978;102(3):876-83.
385. Yaich L, Dupont WD, Cavener DR, Parl FF. (1992) Analysis of the PvuII restriction fragment length polymorphism and exon structure of the estrogen

- receptor gene in breast cancer and peripheral blood. *Cancer Res.*1992;52(1):77-83.
386. Taylor JA, Li Y, You M, Wilcox AJ, Liu E. B region variant of the estrogen receptor gene. *Nucleic Acids Res.*1992;20(11):2895.
387. Fuqua SAW, Chamness GC, McGuire WL. (1993) Estrogen receptor mutations in breast cancer. *J Cell Biochem.*1993;51(2):135-9.
388. Lehrer SP, Schmutzler RK, Rabin JM, Schachter BS. An estrogen receptor genetic polymorphism and a history of spontaneous abortion--correlation in women with estrogen receptor positive breast cancer but not in women with estrogen receptor negative breast cancer or in women without cancer. *Breast Cancer Res Treat.*1993;26(2):175-80.
389. Andersen TI, Heimdal KR, Skrede M, Tveit K, Berg K, Børresen AL. Oestrogen receptor (ESR) polymorphisms and breast cancer susceptibility. *Hum Genet.*1994;94(6):665-70.
390. Wolf DM, Jordan VC. The estrogen receptor from a tamoxifen stimulated MCF-7 tumor variant contains a point mutation in the ligand binding domain. *Breast Cancer Res Treat.*1994;31(1):129-138.
391. Smith EP, Boyd J, Frank GR, Takahashi H, Cohen RM, Specker B, Williams TC, Lubahn DB, Korach KS. Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man. *N Engl J Med.*1994;331(16):1056-61.
392. Georgiou I, Konstantelli M, Syrrou M, Messinis IE, Lolis DE. Oestrogen receptor gene polymorphisms and ovarian stimulation for in-vitro fertilization. *Hum Reprod.*1997;12(7):1430-3.
393. Filicori M. The role of luteinizing hormone in folliculogenesis and ovulation induction. *Fertil Steril.*1999;71(3):405-14.
394. Hurst BS, Leslie KK. The role of oestrogen in follicular development. *Mol Hum Reprod.*1997;3(8):643-45.

395. Hillier SG, Anderson RA, Williams, ARW, Tetsuka M. Expression of oestrogen receptor α and β in cultured human ovarian surface epithelial cells *Mol Hum Reprod.*1998;4(8):811-15.
396. Sundarrajan C, Liao W, Roy AC, Ng SC. Association of oestrogen receptor gene polymorphisms with outcome of ovarian stimulation in patients undergoing IVF. *Mol Hum Reprod.*1999;5(9):797-802.
397. Ayvaz OU, Ekmekçi A, Baltacı V, Onen HI, Unsal EJ. Evaluation of in vitro fertilization parameters and estrogen receptor alpha gene polymorphisms for women with unexplained infertility. *Assist Reprod Genet.*2009;26(9-10):503-10.

