

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ENDOMETRİOMASI OLAN İNFERTİL HASTALARDA YARDIMCI ÜREME
SİKLUSLARINDA FOLİKÜL SIVISI SİTOKİN KONSANTRASYONLARININ VE
GEBELİK SONUÇLARI İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Leylim YALÇINKAYA

**KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

KOCAELİ

2019

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ENDOMETRİOMASI OLAN İNFERTİL HASTALARDA YARDIMCI ÜREME
SİKLUSLARINDA FOLİKÜL SIVISI SİTOKİN KONSANTRASYONLARININ VE
GEBELİK SONUÇLARI İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Leylim YALÇINKAYA

**KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. İzzet YÜCESOY

Etik Onay No: KÜ GOKAEK 2018/585

KOCAELİ

2019

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	1
TEŞEKKÜR	3
BEYAN.....	5
KISALTMALAR.....	6
TABLolar DİZİNİ	8
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	10
GİRİŞ VE AMAÇ.....	11
1.GENEL BİLGİLER.....	15
1.1. İnfertilite ve Yardımcı Üreme Teknikleri	15
1.1.1. Kadın İnfertilitesi	16
1.1.1.1. Ovaryen Nedenler	16
1.1.1.2. Servikal Faktör	19
1.1.1.3. Uterin Faktör	19
1.1.1.4. Tubal ve Peritoneal Faktör	20
1.1.2. Açıklanamayan İnfertilite	20
1.1.3. Erkeğe Ait Nedenler	21
1.1.3.1. Klasik semen analizi.....	22
1.2. Endometriozis.....	23
1.2.1. Tanım.....	23
1.2.2 Etyopatogenez.....	24
1.2.3 Epidemiyoloji.....	26
1.2.4 Semptom ve Bulgular	26
1.2.5. Tanı.....	27
1.2.6. Sınıflama.....	29
1.2.7. Endometriozis ve infertilite ilişkisi.....	31
1.3. İn Vitro Fertilizasyon.....	32
1.3.1. Tanımı ve Endikasyonları	32
1.3.2. Ovarian Stimülasyon Seçenekleri	33
1.3.2.1. Uzun Protokoller	34

1.3.2.2. Kısa Protokoller	35
1.3.2.2.1. Ultra-kısa Protokol :	35
1.3.2.2.2. Mikrodoz Protokolü	35
1.3.2.2.3. GnRH Agonist Stop Protokolü	36
1.3.2.3. Antagonist Protokolleri	36
1.3.3. Ovülasyon İndüksiyonu Monitorizasyonu	36
1.3.4. Folikül Aspirasyonu ve Fertilizasyon.....	37
1.3.5. Oogenezis	38
1.3.5.1. Oositlerin Preantral Olgunlaşması (Follikülogenezis).....	38
1.3.5.2. Oositlerin Doğum Sonrası Süreçte Olgunlaşması	39
1.3.6. Embriyoner Gelişim	41
1.3.6.1. Erken Embriyonel Gelişim	41
1.3.6.2. Morula ve Blastokist Gelişimi	41
1.3.7. Embriyo Kalitesinin Değerlendirilmesi	42
1.4. Sitokinler	43
1.4.1. Tümör Necrosis Factör (TNF- α)	46
1.4.2. İnterlökin-1 β	46
1.4.3. İnterlökin-6.....	47
1.4.4. İnterlökin-8.....	48
2. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	49
3. BULGULAR	53
4. TARTIŞMA.....	63
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	70
6. ÖZET	71
7. ABSTRACT.....	73
8. KAYNAKLAR	75

TEŞEKKÜR

Kadın Hastalıkları ve Doğum alanındaki uzmanlık eğitimim boyunca, değerli bilgi ve deneyimleriyle yetişmemde katkıda bulunan Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. İzzet YÜCESOY'a;

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde her türlü katkı ve desteğiyle yanımda olan değerli hocam ve abim Doç. Dr. Emek DOĞER'e;

İşini en iyi şekilde ve severek yapan, cerrahi yetenekleri ve keskin zekası ile her zaman örnek aldığım hocam Prof. Dr. Aydın ÇORAKÇI'ya;

Güleryüzü, tatlı dili ve anlayışı ile hep yanımda hissettiğim hocam Prof. Dr. Gülseren YÜCESOY'a;

Yakın zamanda kliniğimizden ayrılmış olan, hayatımda önemli yer edinmiş olan hocalarım Prof. Dr. Birol VURAL ve Doç. Dr. Ahmet Yiğit ÇAKIROĞLU'na;

Hem bilgilerini hem anlayış ve sevgilerini benimle her zaman paylaşan ablalarım Dr. Öğr. Üyesi Yasemin DOĞAN ve Dr. Öğr. Üyesi Özge ÇİÇEK'e;

Kliniğimizde görev yapan birlikte çalıştığım, hepsi birbirinden değerli asistan arkadaşlarıma, tüm görevli hemşire ve personele;

Eğitimimde, gelişmemde ve hayatımda önemli bir yeri bulunan, hekimlik ve insanlık sanatını öğrenmeme katkı sağlamış çok değerli abim ve hocam Prof. Dr. Eray ÇALIŞKAN'a;

Ablası olmaktan her zaman gurur duyduğum canım kardeşim Ezgi YALÇINKAYA'ya;

Uzun eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, her zaman ve her koşulda yanımda olan annem ve babama sonsuz sevgimi ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Son olarak bir kadın olarak hekimlik mesleğini icra edebilmemin önünü açan, ulu önder Mustafa Kemal Atatürk' ü minnet ve özlemle anıyorum.

Dr. Leylim YALÇINKAYA

2019, Kocaeli



BEYAN

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

Dr. Leylim YALÇINKAYA

KISALTMALAR

YÜT : Yardımcı Üreme Teknikleri

ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

ET : Embriyo Transferi

FSH : Folikül Stimüle Edici Hormon

GnRH : Gonadotropin Salgılatıcı Hormon

GnRH-a : Gonadotropin Salgılatıcı Hormon Analogu

hCG : İnsan Koryonik Gonadotropin hCG

hMG : Human Menapozal Gonadotropin

HSG : Histerosalpingografi

ICSI : İntra Sitoplazmik Sperm Enjeksiyonu

IVF : İn Vitro Fertilizasyon

Oİ : Ovulasyon İndüksiyonu

IUI : İntrauterin İnseminasyon

KOH : Kontrollü Ovarian Hiperstimülasyon

LH : Lüteinize Edici Hormon

E2 : Estradiol

OCI : Ovum Yakalama İnhibitörü

OMİ : Oosit Matürasyon İnhibitörü

MI : Metafaz I

MII : Metafaz II

OHSS : Ovarian Hiperstimülasyon Sendromu

OPU : Yumurta Toplama İşlemi

PCOS : Polikistik Over Sendromu

AMH : Antimüllerian Hormon

TESE : Testiküler Sperm Ekstraksiyon

TVUSG : Transvaginal Ultrason

USG : Ultrasonografi

WHO : Dünya Sağlık Örgütü

NK : Natural Killer

ICAM-1 : İntraselüler Adezyon Molekül-1

TGF- β : Transforming Growth Factor-Beta

BMP : Bone Morphogenetic Protein

GDF-9 : Growth Differentiation Factor-9

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Klasik semen analizi	22
Tablo 2:Endometriozisin sınıflandırılması	30
Tablo 3:Fragmantasyon oranları ve blastomer büyüklüğüne göre embriyo kalitesinin sınıflaması.....	43
Tablo 4: Hastaların demografik ve laboratuvar özelliklerinin endometrioması olan ve endometrioması olmayan gruplarda karşılaştırılması.....	55
Tablo 5: Endometrioması olan ve endometrioması olmayan her iki grupta toplam gonadotropin dozunun karşılaştırılması.....	55
Tablo 6: Endometrioması olan ve endometrioması olmayan her iki grubun hCG günü ultrasonografik ve laboratuvar bulgularına göre karşılaştırılması.....	56
Tablo 7: Endometrioması olan ve endometrioması olmayan her iki grubun hCG günü ultrasonografik ve laboratuvar bulgularına göre karşılaştırılması.....	57
Tablo 8: Endometrioması olan ve olmayan her iki grupta OPU günü toplanan folikül sıvısında sitokin düzeyleri karşılaştırılması.....	58
Tablo 9: Endometrioması olan grubun uzun protokol uygulanan subgrubu (Grup A1) ve kısa protokol uygulanan subgrubu (Grup A2) arasında OPU günü toplanan folikül sıvısında sitokin düzeyleri karşılaştırılması.....	59
Tablo 10: Endometrioması olan ve olmayan grupta gebelik oranlarının karşılaştırılması..	60
Tablo 11: ET yapılan hastalar arasında uzun ve kısa protokol uygulanmış olan hastaların gebelik oranlarının karşılaştırılması	60
Tablo 12: ET yapılan hastalarda kimyasal gebelik sonuçlarıyla folikül sıvısı sitokin değerlerinin karşılaştırılması	61

Tablo 13: ET yapılan hastalarda klinik gebelik sonuçlarıyla folikül sıvısı sitokin değerlerinin karşılaştırılması 62



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1:Transvajinal ultrasonografi ile endometrioma görüntüsü	28
Şekil 2: Endometrioziste rol alan sitokinlerin hücrel kaynağı, rolleri ve birbirleriyle olan ilişkileri.....	45
Şekil 3:Grup A'daki hastaların infertilite nedenlerini gösteren çubuk grafik	53
Şekil 4: Grup B'deki hastaların infertilite nedenlerini gösteren çubuk grafik	54
Şekil 5: Grup A ve Grup B'deki hastaların folikül sitokin düzeylerini gösteren grafik.....	58
Şekil 6: Grup A1 ve Grup A2'deki hastaların folikül sitokin düzeylerini gösteren grafik .	59
Şekil 7: Kimyasal gebelik gelişen ve gelişmeyen hastalarda folikül sitokin düzeylerini gösteren grafik	61
Şekil 8: Klinik gebelik gelişen ve gelişmeyen hastalarda folikül sitokin düzeylerini gösteren grafi	62

GİRİŞ VE AMAÇ

İnfertilite, genellikle çiftlerin bir yıl süre ile korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebelik oluşmaması olarak tanımlanır. İnfertilite üreme çağındaki çiftlerde yaklaşık %10-15 oranında görülmektedir (1). Ovulatuvar faktör yaklaşık %20, utero-tubal-peritoneal faktör yaklaşık %30, erkek faktörü %30-40, açıklanamayan infertilite de yaklaşık olarak %15 oranında görülmektedir. İnfertilite nedeniyle başvuran çiftlerin ise yaklaşık %40'ında ise hem erkek hem de kadın faktörüne bağlı bozukluklar mevcuttur (2).

İnfertilite yönetiminde, yaşam tarzı değişiklikleri, altta yatan koşulların tıbbi ve cerrahi tedavisi, intrauterin inseminasyon (IUI) , in vitro fertilizasyon (IVF) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) gibi yardımcı üreme teknolojileri(YÜT) kullanılmaktadır. IVF, infertil çiftlerin tedavisinde günümüzde en çok tercih edilen yardımcı üreme tekniğidir (3). Sağlıklı bir çiftin düzenli cinsel ilişki ile bir siklus boyunca gebe kalma şansına fekundite denir. Normal çiftlerde fekundite ayda %15-20 arasında olup, yaşla birlikte azalır (4,5).

Endometriozis, endometrial bezler ve stromanın uterus dışına yerleşimiyle karakterize kronik inflamatuvar reaksiyon, skar dokusu ve pelvik anatomiye bozabilecek yapışıklıklara neden olabilecek kronik, benign ve toplumda yaygın görülen bir hastalıktır. Endometriozis primer olarak genç kadınlarda görülmekte olup, hastaların esas şikayetleri pelvik ağrı, dismenore ve disparoniadır. Endometriozis genel kadın popülasyonun % 6 ile 10'u arasında meydana gelir. Pelvik ağrı, infertilite veya her ikisi de görülen kadınlarda ise sıklığı yaklaşık %35-50'dir. İnfertil hastaların %25-50'sinde endometriozis görülürken, endometriozisli kadınların %30-50'si infertildir. Yakın zamanlı toplanan veriler endometriozis insidansının son 30 yılda artmadığını ve yaklaşık %6-8 prevalansına eşdeğer 2.37-2.49/1000/y'da kaldığını göstermektedir.

Endometriozis tipik olarak ağrı ve infertiliteye yol açar, hastaların %20-25'i asemptomatiktir. Endometriozis semptomlarının şiddeti ve tanı olasılığı yaşla birlikte artmaktadır ve insidansı 40'lı yaşlardaki kadınlarda pik yapar. Endometriozis uzunca bir süredir bilinmesine rağmen hastalığın patogenezi, doğal seyri ve infertilite ile ilişkisine dair bilgiler sınırlıdır. Endometriozisli hastalarda aylık fekundite azalmış olup yaklaşık % 2-10

civarındadır. Ek olarak endometriozis düşük canlı doğum oranıyla ilişkilidir. İnfertil kadınlarda fertil kadınlara göre endometriozis olma olasılığı 6 ile 8 kat daha fazladır. Birçok araştırmaya rağmen endometriozis ve infertilite arasındaki ilişki net olarak aydınlatılamamış ve bu konuda birçok mekanizma öne sürülmüştür. Bu mekanizmalar bozulmuş pelvik anatomi, endokrin ve ovulatuvar anormallikler, periton fonksiyonunda değişiklikler, endometriumda hormonal ve hücre aracılı fonksiyonlarda değişikliklerdir. Laparoskopik gözlemlere dayanarak saptanan pelvik faktör olarak adlandırılan pelvik anatomik bozukluklar ciddi endometriozis hastalarında infertiliteyi daha kolay açıklayabilir. Majör pelvik adezyonlar veya peritubal adezyonlar tubo-ovaryan bağlantıyı ve tubal açıklığı hasarlayarak, oositin overden salınımını, oosit toplanmasını ve oosit taşınımını engelleyebilir. Endometriozisli kadınlarda, lüteinize rüptüre olmamış folikül sendromu, bozulmuş folikülogenez, luteal faz defekti, prematüre veya multipl luteinize edici hormon (LH) dalgalanmalarını içeren endokrin ve ovulatuvar bozukluklar bulunabilir. Karmaşık bir hümmoral ve hücrenel bağışıklık ağı, ektopik endometrial implantların büyümesini ve enflamatuar davranışını değıştirirken eş zamanlı olarak embriyo implantasyonunu da etkiler.

Endometriozisli kadınlar yüksek konsantrasyonda aktive makrofaj, prostaglandin, IL-1, TNF α ve proteaz içeren artmış peritoneal sıvı volümüne sahiptirler. Bu değışiklikler oosit, sperm, embriyo veya fallop tüpünün işlevi üzerinde olumsuz etkileri olabilir. Ayrıca endometriozisli hastaların peritoneal sıvısında bir ovum yakalama inhibitörü (OCI) olduğı ve bunun fimbrial uçtan ovum yakalanmasını başarısızlığa uğrattığı düşünölmektedir. Endometriozisli kadınların endometriumunda IgG ve IgA antikorlarının (endometrial antijenlere karşı otoantikorlar) ve lenfositlerin seviyeleri yüksek bulunabilir. Bu anormallikler endometrial reseptiviteyi ve embriyo implantasyonunu değıştirebilir. Bazı kaynaklar uterin implantasyonun endometriozisli hastalarda reseptivitedeki değışikliklerden etkilendiğini bildirmiştir. Gecikmiş histolojik maturasyon ya da biyokimyasal bozukluklar endometrial disfonksiyona yol açabilir (5).

Endometriozis ile ilişkili inflamatuvar yanıt, doku tamiri ve neo-vaskularizasyon peritoneal sıvıdaki makrofajlar ve sitokinlere bağıdır. İnterlökinler (IL-1, IL-2, IL-6, IL8, IL-18) ve TNF- α 'yı içeren birkaç sitokinin endometriozisin patogenezi ile ilişkisi daha önce çalışılmıştır (6). Sitokinler inflamasyon mediatörleridir ve plazmada veya diğer vücut

sıvılarındaki yükselişi doku lezyonunun varlığına ve genişliğine işaretler. Birçok çalışma yüksek sitokin seviyeleri ile endometriozisin progresyonu ve beraberinde infertilite varlığı arasında ilişki olduğunu bildirmiştir. Analiz sonuçları yüksek serum IL-6 ve IL-8 konsantrasyonları ile endometriozis aracılı infertilite oluşumu arasında bağlantı olduğunu desteklemektedir. Ancak proinflamatuvar sitokinler ve endometriozis ilişkisine dair birikmiş kanıtlara rağmen, bu mediatörlerin endometriozis aracılı infertilitenin fizyopatolojisine katılıp katılmadıkları henüz yeterli çalışma yapılmadığından net değildir (7). Boomsma ve ark. yaptığı bir çalışmada IVF yapılacak hastalara embriyo transferi öncesi yapılan endometrial örneklemede incelenecek sitokinlerin implantasyon ve klinik gebeliği öngörmede kullanılıp kullanılmayacağını araştırılmıştır. IL-1 β , IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, TNF- α gibi sitokinlerin bakıldığı çalışmada TNF- α konsantrasyonunun yüksekliği ile klinik gebelik ve implantasyon oranlarının pozitif korelasyon gösterdiği saptanırken, IL-1 β ile negatif korelasyon gösterdiği bulunmuştur (8).

IVF denemeleri için yapılan kontrollü over stimülasyonu sırasında sitokinlerin rolü incelenmiş ve folikül gelişimi, fertilizasyon, embriyo gelişimi ve implantasyon gibi çeşitli aşamalarda etkileri olduğu anlaşılmıştır. Artmış sitokin seviyelerinin reproduktif sisteme olumsuz etkileri olduğu sonucuna varılmıştır (9). Gonadotropinler ovaryan sitokin sekresyonunu düzenlemektedir. Bu nedenle kontrollü ovaryan hiperstimülasyon sikluslarında sitokin konsantrasyonları stimüle edilmemiş siklusa göre farklılık göstermektedir (10). IVF/ICSI'de ovaryan stimülasyon sırasında erken luteinizasyonun önlenmesi için GnRH agonist ve antagonistleri kullanılmaktadır. Her iki yöntem de prematür LH pikini önlemede etkilidir. GnRH antagonistlerinin avantajları analog tedavinin daha kısa sürmesi, FSH ile daha kısa stimülasyon süresi ve daha düşük ovarian hiperstimülasyon sendromu (OHSS) gelişme riskidir. Ayrıca standart uzun agonist protokol ile yaklaşık 25 günlük subkutan enjeksiyona ihtiyaç duyulurken, antagonist protokolde 5 günlük subkutan enjeksiyon gerekir. Buna karşın gebelik oranları karşılaştırıldığında agonist protokolün üstünlüğünü koruduğu izlenmiştir (11).

Folikül sıvısı sitokin konsantrasyonları ve IVF sonuçları arasındaki bağlantının çözümlenmesi için çok sayıda çalışma yapılmıştır. Ancak ovaryan stimülasyon için kullanılan GnRH agonist ve antagonist protokolleri ile folikül sıvı konsantrasyonları

arasındaki korelasyonun değerlendirildiği çalışma sayısı oldukça azdır. Bu çalışmaların sayısının artması antagonist protokol uygulanan hastalardaki dşşk gebelik oranlarını açıklamada yardımcı olacaktır. Bu tez çalışmasının ana amacı; endometrioması olan ve olmayan infertil hastalarda ve ayrıca endometrioması olan olgularda ise GnRH agonist ve antagonist protokol ile kontrollü ovaryan hiperstimülasyon yapılan hastalarda folikül sıvısında sitokinlerden IL-1 β , IL-6, IL-8 ve TNF- α konsantrasyonlarının karşılaştırılması olarak belirlendi. Çalışmanın ikincil amaçları ise bu gruplarda kimyasal gebelik, klinik gebelik oranlarının ve gebeliğe ulaşan olgularda sitokin seviyelerinin karşılaştırılması olarak belirlendi.



1.GENEL BİLGİLER

1.1. İnfertilite ve Yardımcı Üreme Teknikleri

İnfertilite düzenli, korunmasız cinsel ilişkiye rağmen 12 ay içerisinde klinik gebelik oluşmamasıyla karakterize bir hastalıktır. WHO'nun son tanımlamasına göre infertilite üreme fonksiyonunda bozukluk yaratan bir hastalık olarak tanımlanmıştır. İnfertilitenin üreme çağındaki çiftlerin yaklaşık olarak %8-12'sini etkilediği düşünülmektedir (12).

Fekundabilite, bir menstrüel siklusta gebe kalabilme olasılığıdır. Sağlıklı bir çift için fekundabilite ilk 3 ayda %25 iken, sonraki 9 ayda %11'e düşmektedir. Fekundite ise bir menstrüel siklusta canlı doğum elde edebilme yeteneği olarak tanımlanır (13).

Fertilite klinik gebelik oluşturabilme kapasitesidir. Sperm ve oositin reproduktif sistemde bir araya gelmesi ve oluşan embriyonun fallop tüpleri aracılığıyla uterin kaviteye gelerek endometriuma implante olması üremenin temelini oluşturur. Buradaki herhangi bir aksaklık karşımıza infertilite olarak çıkar. İnfertilite sebepleri kadın faktör (%35) , erkek faktör (%30), hem kadın hem erkek faktörü (%20) ve açıklanamayan infertilite (%15) olarak dört ana kategoriye ayrılabilir (14).

YÜT yöntemlerinden olan in vitro fertilizasyon (IVF), çok sayıda oosit elde etmek için ovulasyonun indüklenmesi, oositlerin döllenişmesi ve embriyoların laboratuvarında gelişmesi ve embriyoların uterin kaviteye transferini içeren üç temel teknik bileşenden oluşur. İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI), seçilen bir spermın oositin sitoplazması içine mekanik olarak yerleştirilmesi işlemidir.

IVF'in maternal riskleri, ovaryan hiperstimülasyon sendromu, ektopik gebelik, plasenta dekolmanı, gebeliğin hipertansif bozuklukları, gestasyonel diabet ve sezaryen doğumdur. IVF ve ICSI'nin fetal riskleri, çoğul gebelik, düşük doğum ağırlığı, prematürite olarak bilinmektedir. Bu risklere yol açabilecek olan değiştirilebilir faktörler aktif olarak araştırılmalıdır. ART ile elde edilen gebeliklerde olumsuz sonuçlar yüksek olsa da, mutlak riskler hala oldukça düşüktür. Bu da IVF'i birçok infertil çift için kabul edilebilir tedavi seçeneği haline getirir (15).

1.1.1. Kadın İnfertilitesi

İnfertilite sebepleri yaşanan coğrafyaya göre çeşitlilik göstermektedir. WHO kadına yönelik infertilite sebeplerini 4 ana grupta sınıflandırmaktadır. Ovulatuvar disfonksiyon %30-40, tubal veya peritoneal faktör %30-40, endometriozis %5-10, uterusu ait nedenler %3-5, servikal ve immünolojik nedenler %1-2, diğer nedenler de %5-10 sıklıkta görülmektedir (16).

1.1.1.1. Ovaryen Nedenler

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ovulatuvar disfonksiyonu üç gruba ayırarak sınıflandırır:

a) Grup 1 ovulatuvar disfonksiyonun sebebi hipotalamohipofizer yetmezliktir. Bu kategori hipotalamik amenore ve hipogonadotropik hipogonadizm gibi durumları içerir. Tipik olarak bu kadınlarda düşük gonadotropin seviyesi ve östrojen eksikliği ile birlikte primer veya sekonder amenore görülür. Ovulatuvar disfonksiyonu olan kadınların yaklaşık %10'u Grup 1 olarak sınıflandırılır. Kilo ve vücut kompozisyonundaki değişiklikler, stres, aşırı egzersiz, hipotalamusun infiltran hastalıkları, prolaktinoma, boş sella sendromu, Sheehan sendromu, Cushing hastalığı ve akromegali gibi hastalıklarda hipogonadotropik anovülasyon görülmektedir.

b) Grup 2 ovulatuvar disfonksiyon, hipotalamus, hipofiz ve over aksının çalışmasındaki aksaklık olarak tanımlanır. Bu gruptaki kadınlarda normogonadotropik anovülasyon görülür. Polikistik over sendromu ve hiperprolaktinematik amenore gibi hastalıklar yer alır. Ovulatuvar disfonksiyonu olan kadınların yaklaşık %85'i Grup 2 olarak sınıflandırılmaktadır.

c) Grup 3 ovulatuvar disfonksiyon, ovaryan yetmezlik sonucunda oluşur. Ovulatuvar disfonksiyonu olan kadınların yaklaşık %5'i Grup 3 olarak sınıflandırılmaktadır. Prematür ovarian yetmezlik gibi hipergonadotropik anovülasyonun görüldüğü hastalıklar bu gruba dahildir (17).

Kontrasepsiyon kullanmayan popülasyonlarda yapılan çalışmalar ileri yaşın kadın fertilitasını azalttığını göstermiştir. Özellikle 32 yaşından sonra azalmaya başlayan kadın fekunditesi 37 yaşından sonra çok daha hızlı bir şekilde azalmaya devam eder (18). Over rezervi, overlerde folikülogenez ve steroidogenez fonksiyonunu yerine getirecek foliküllerin

sayısını, kalitesini ve yeterliliğini tanımlamaktadır. Kadının yaşı arttıkça over rezervi primordial foliküllerin apoptotik kaybına bağlı olarak azalır (19). Over rezervini değerlendirmede kronolojik yaş, siklusun üçüncü günü bakılan serum FSH ve estradiol düzeyi, serum inhibin B, serum antimüllerian hormon (AMH) düzeyi, klomifen sitrat challenge test (CCCT), GnRH stimülasyon testi (GAST), eksojen FSH stimülasyon testi (EFORT), transvajinal ultrason ile ölçülen over hacmi, antral folikül sayısı ve over biyopsisi gibi yöntemler kullanılmaktadır. Bu testler içerisinde en yaygın kullanılanlar siklusun üçüncü günü serum FSH düzeyi, transvajinal ultrason ile değerlendirilen antral folikül sayısı ve serum AMH düzeyidir (20). FSH değerinin 10-15 IU/L'nin altında olması beklenir. FSH değeri < 15 IU/L olan olgularda gebelik oranlarının, 15-29.4 IU/L olan olgulara göre iki kat, >25 IU/L olan olgulardan altı kat fazla olduğu bildirilmiştir (21).

Ovulasyon zamanının kesin olarak bilinmesi kontrasepsiyon açısından önemlidir. Ovulasyon olup olmadığını anlamak için transvajinal ultrasonografi, üriner LH ölçümü, serum progesteron ve üriner pregnanediol 3-glukuronid ölçümü, üriner FSH ölçümü, bazal vücut ısısı ölçümü, servikal mukus ve tükrük ferning analizi gibi yöntemler kullanılabilir (22).

Üriner LH ölçümü: Serum östradiol konsantrasyonu (dominant folikül tarafından salınan en potent östrojen) eşik değere ulaştıkça (yaklaşık 50 saat için 200 pg/ml'den daha yüksek) ani LH sekresyonuyla sonuçlanan hipotalamus ve anterior hipofiz üzerine pozitif feedback yapar. LH dalgalanmasının başlangıcı, ovulasyondan yaklaşık 35-44 saat önce olur. LH'nin serum seviyesinin pik yapması ise ovulasyondan yaklaşık 10-12 saat önce olur. Yeni bir menstrüel siklusun 10. gününden başlayarak veya tahmini ovulasyon gününden 4 gün önce olacak şekilde üriner LH günde bir veya iki kez ölçülür ve ilk pozitif testten sonra devam edilmez. Çok hassas üriner LH kitleri, 22 mIU/ml kadar düşük konsantrasyonları bile tespit ederken, idrarda doğal LH dalgalanma konsantrasyonu 20 ile 100 mIU/ml arasında değişmektedir. İdrar LH kitleri %90 olasılıkla 24-48 saat içerisinde ovülasyonu göstermektedir. Genellikle ovülasyon, idrarda LH artışından 14-26 saat sonra olmaktadır. Fertilitenin en yüksek olduğu dönem LH tırmanışının olduğu gün ve takip eden iki gündür. LH tırmanışından sonraki gün, planlanmış ilişki ve inseminasyon için en uygun gündür (22).

Bazal vücut ısı ölçümleri: Bazal vücut ısısının yükselişi progesteronun termojenik etkisinden kaynaklanmaktadır. Menstrüel siklusun foliküler fazı boyunca bazal vücut ısısı yaklaşık 97.0 ile 98.0 °F arasında seyreder. Ovulasyondan yaklaşık bir gün önce bazal vücut ısısı en düşük seviyeye ulaşır. Ovulasyondan sonra corpus luteum progesteron salgılamaya başlar ve bazal vücut ısısı 0.5-1.0 °F yükselir ve luteal faz boyunca plato çizer. Geç luteal fazda, corpus luteum gerilediğinde ve serum progesteron seviyesi azaldığında, menstrüel kanama başlamadan 1-2 gün önce bazal vücut ısısı düşük aralığa geri döner. Sabah yapılan ölçümlerle vücut sıcaklığındaki bu bifazik patern kolaylıkla saptanabilir. Bazal vücut ısısı en yüksek dereceye ulaştığında fertil dönem sonlanmıştır. Dolayısıyla en fertil dönem bazal vücut sıcaklığının midsiklus pikinden 7 gün önceki dönemdir (23).

Midluteal serum progesteron düzeyi: Ovulasyondan sonra dominant folikül korpus luteuma dönüşür ve progesteron salgılamaya başlar. Ovulasyonu onaylamak için serum progesteronu veya onun idrardaki metaboliti ölçülebilir. Ovulasyonun belirlenmesinde midluteal fazda > 3 ng/ml olan tek bir serum progesteron seviyesi yeterlidir. Serum progesteron ölçümü için en uygun zaman menstrüel siklusları düzenli olan kadınlarda menstrüasyonun 21. günüdür. Yaklaşık zamanı menstrüasyon başlangıcından bir hafta öncedir. Ovulasyondan sonraki 5-9. günler arasında alınan üç ölçümün toplamının 30 ng/ml olması ya da tek bir ölçümün 10 ng/ml olması luteal faz defekti olmadığını gösterir (24).

Trans-vaginal ultrasonografi (TV-USG): Ovulasyon zamanının belirlenmesinde kullanılan en ideal yöntemdir. Preovulatuvar foliküllerin büyüme ve gelişmelerinin seri USG takipleri ile izlenmesidir. Seri USG ölçümleri ile, maksimum foliküler çaptan foliküler kollapsa geçiş noktası ovulasyon zamanı olarak düşünülür. Ovulasyonun gerçekleştiğinin belirtileri:

- a) Folikül boyutunda ani düşüş
- b) Folikülde ekojenite artışı, corpus luteum formasyonun belirtileri
- c) Douglasta serbest sıvı
- d) Endometriumun trilaminer görünümünün homojen, hiperekoik, luteinize endometrium ile yer değiştirmesi (25).

Endometrial biyopsi: Korpus luteumun fonksiyonel kapasitesini değerlendirir. Progesteronun endometrium üzerine yaptığı değişiklikleri histolojik olarak göstererek ovulasyonun gerçekleşip gerçekleşmediği hakkında fikir verir. Luteal faz defekti veya kronik anovulatuvar hastalarda endometrial hiperplazi tanısı konulmasında kullanılabilir (26).

1.1.1.2. Servikal Faktör

Servikal mukus spermin hayatta kalması ve taşınması için gereklidir. Sağlıklı çiftlerde normal fertil süre altı gündür. Spermiler fertil tip mukus varlığında kadın genital sisteminde beş gün yaşayabilirler. Fertil tip mukus yoksa yalnızca birkaç saat vajinada kalabilir ve oosit ile karşılaşma ve onu dölleme şansı oldukça düşer. Aynı zamanda servikal mukus biyolojik kapak olarak da tanımlanmıştır. Menstrüel siklusun preovulatuvar fazında servikal mukus östrojen etkisi altındadır ve spermilerin serviksi geçmesine ve fallop tüpüne ulaşmasına yardımcı olur. Bu dönemde mukus miktarı artar, sulu, alkali yapıda ve hücreden fakir olur. Servikal mukusun elastikiyeti ve uzama özelliği artmıştır ve Spinnbarkeit testi pozitifdir. Ayrıca mukusun kalitesini gösteren ve östrojen etkisini yansıtan Fern testi de pozitifdir. Postovulatuvar fazda ise servikal mukus progesteron etkisi altındadır ve oldukça kalındır (mikroskop altında bakıldığında kaldırım taşı görünümü). Bu nedenle spermin uterusu geçişini engeller.

Postkoital Test: Cinsel ilişkiden 2-12 saat sonra servikal kanala giren spermatozoanın motilite ve sayısını belirlemek için uygulanır. Fakat sperm sayısı; semen niteliği, cül de sactan dönen sperm ve sonraki fertilite ile uyumlu değildir. Dolayısıyla fertilite için bu testin prediktif değeri düşüktür (27).

1.1.1.3. Uterin Faktör

Uterus, sperm göçünde, embriyo implantasyonunda ve fetal beslenmede rol oynar. Konjenital uterin anomaliler, edinilmiş uterin lezyonlar ve sistemik hastalıklar başarılı gebelik oluşması için gerekli olan uterin fonksiyonları olumsuz yönde etkiler. Konjenital uterin anomaliler embriyogenez sırasında Müllerian kanalların füzyonunda veya gelişmesindeki bir defektten kaynaklanır. Müllerian kanalların komplet füzyon defekti ile uterus didelfis, parsiyel füzyon defekti ile uterus bikornus, inkomplet rezorpsiyonu ile septat uterus, bir müllerian duktusun gelişmesinde başarısızlık sonucu unikornuat uterus ve nadiren

de müllerian kanalların komplet yokluğu sonucunda müllerian agenezi görülür. Edinsel anomaliler ise, zor doğum, küretaj, intrauterin araç, geçirilmiş cerrahi sonrası oluşan endometrit, adezyon ya da sineşi ile miyom, polip gibi kavitede yer kaplayan lezyonlardır. Müllerian anomaliler arasında reproduktif başarısızlığa en sık yol açan septat uterustur. Uterin septum, intrauterin sineşi ve kaviyeyi bozan sübmüköz myomlar histeroskopik cerrahiden fayda görebilir. Endometrial poliplerin ise fertilitte üzerine etkisi net değildir ancak saptandıktan sonra çıkarılmaları uygundur (28).

1.1.1.4. Tubal ve Peritoneal Faktör

Tubal hasarın en sık nedeni chlamydia trachomatis enfeksiyonunun neden olduğu pelvik inflamatuvar hastalıktır. Bir pelvik enfeksiyon epizodundan sonra tubal hasar insidansı yaklaşık %12 iken iki epizoddan sonra %23, üç epizoddan sonra ise %54'tür. Tubal hasarın diğer sebepleri arasında geçirilmiş cerrahi sonrası adezyonlar ve endometriozis vardır. Histerosalpingografi (HSG), infertil kadınlarda tuba uterinanın yapısını, açıklığını ve uterus anomalilerini araştırmada en sık kullanılan ilk basamak tetkiktir (29).

Histerosalpingografi (HSG): Servikse yerleştirilen bir kateter ile uterus kavitesi içine radyopak madde verildiğinde, bu madde önce uterus kavitesini doldurarak tubalara geçer, eğer tuba açık ise tubanın abdominal ucunda pelvis boşluğuna dökülür. Verilen radyo-opak madde uterus kavitesi ve tuba içindeyken, bu olay radyolojik olarak görüntülenirse, görüntüsü alınan bu röntgen filmindeki bu resme histerosalpingogram denir. Siklusun 6-11 günleri arasında yapılması uygundur (30).

Laparoskopi daha invaziv bir teknik olmasına rağmen tubal tıkanıklıkları değerlendirmede altın standart yöntemdir. Laparoskopi ile tubanın dış yüzü, adele yapısı, fimbriaları ve tuba-over ilişkisi araştırılır. Ayrıca pelviste başka patolojilerin olup olmadığı da belirlenir. Bu iki tetkik birbirinin alternatifi değil tamamlayıcıdır (29).

1.1.2. Açıklanamayan İnfertilite

Açıklanamayan infertilite durumu, infertilitenin yaygın sebeplerinin değerlendirilmesinde kullanılan semen analizi, ovulasyonun değerlendirilmesi, tubal açıklık testi gibi incelemelerin normal gelmesi durumunda düşünülmesi gereken durumdur (31). Bu çiftlerde spontan gebe kalma oranı, infertilite sebebi belli olan çiftlere göre çok daha fazladır.

Bu çiftlerde spontan gebelik oranı başvurudan sonraki yılda %13-15 oranında görülürken, sonraki iki yılda bu oran %35 civarına yükselmiştir. Ayrıca, takip eden üç yıl boyunca korunmasız cinsel ilişkiye giren ve hiçbir adjuvan tedavi uygulanmayan genç çiftlerde bu oranın %80'lere ulaşabileceği birçok çalışmada gösterilmiştir. Çiftlerin infertilite sebeplerini bulamamamız, hastalığın sebebi olmadığı anlamına gelmez. Muhtemelen standart değerlendirme methodları ile gösterilemeyen sperm veya oosit fonksiyonlarında, fertilizasyonda, implantasyonda veya embriyo gelişiminde anormallikler mevcuttur. İdiopatik nedenli infertil çiftlerin tedavisi bireyselleştirilmelidir. Uygun tedavi planının seçilmesinde, kadınların yaşı ve infertilite süresi özellikle dikkate alınmalıdır (32).

1.1.3. Erkeğe Ait Nedenler

Tüm infertilite vakalarının yaklaşık %40'ı erkek faktörü sebebiyledir ve tüm erkeklerin yaklaşık %2'si suboptimal sperm parametreleri sergiler. Erkek infertilitesi, semendeki eksikliklerden kaynaklanır ve semen kalitesi erkek fekunditesinin primer ölçütü olarak kullanılır. Sperm konsantrasyonu, hareketliliği veya morfolojisindeki değişikliklerin değerlendirildiği test semen analizidir (spermiogram) (33). Erkek infertilitesine yol açan faktörler başlıca dört başlık altında toplanabilir:

- a) Hipotalamo-hipofizer hastalıklar (sekonder hipogonadizm, %1-2)
- b) Testiküler hastalıklar (primer testiküler yetmezlik ve hipogonadizm, %30-40)
- c) Post-testiküler hastalıklar (%10-20)
- d) Açıklanamayan (%40-50)

İnfertil erkek değerlendirilirken alınan anamnezde, cinsel öykü, geçirilmiş çocukluk hastalıkları ve operasyonlar, aile fertilitate öyküsü, olası gonadotoksinlere maruziyet, geçirilen cinsel yolla bulaşan genital hastalıklar, kullanılan ilaçlar, tütün ürünleri kullanma alışkanlığı, alkol tüketimi ve spor gibi yaşam tarzı sorgulanmalıdır. Anatomik ve fonksiyonel penil ve üretral sorunlar infertilite nedeni olabilir. Testis kıvamı ve volüm ölçümü, epididimdeki patoloji varlığı ve varikosel için fizik muayene özenli yapılmalıdır. Rektal tuşe ile prostat ve vezikula seminalislerin tetkiki azospermi, düşük ejakulat volümü, ağır motilite bozukluğu ve piyospermi saptanan hastalarda önemli bilgiler sağlar (34).

1.1.3.1. Klasik semen analizi

Erkek fertilizasyon potansiyelinin araştırılmasında ilk adım en az dört hafta ara ile uygun yapılmış iki semen analizi olmalıdır. Semen analizinin en önemli kısmını mikroskopik inceleme oluşturmaktadır. Mikroskopik değerlendirme sonucunda spermiyogram WHO parametrelerine göre yorumlanır (35). (Tablo.1)

Tablo 1: Klasik semen analizi

Görünüm:	Homojen, gri opak
Viskozite:	≤ 2 cm
Likefaksiyon süresi:	$< 20-30$ dk
Volüm:	≥ 2 ml
pH:	7.2-8,0
Sperm sayısı:	≥ 20 milyon/ml
Total sperm sayısı:	≥ 40 milyon/ejakülat
Total motilite:	$\geq \%50$
Hızlı ileri hareket:	$\geq \%25$
Morfoloji:	$\geq \%30$ WHO kriteri ($\geq \%14$ Kruger)
Vitalite:	$\geq \%75$
Beyaz küre:	≤ 1 milyon/ml
İmmunobead test:	$\leq \%50$ immün taneciklere bağlı motil spermatozoalar
MAR testi:	$\leq \%50$ motil spermatozoalarda partiküller yapışık
Bioasseyler:	
Hemizona indeks:	$\geq \%35$
HOS test:	$\geq \%60$
Sperm penetrasyon assay:	$\geq \%10$

Semen Değişkenlerinin Terminolojisi:

Normospermi: Referans değerlerle tanımlanan normal ejakülat

Oligospermi: Referans değerden düşük sperm konsantrasyonu

Astenoospermi: Hareketlilik için referans değerden daha düşük değer

Teratospermi: Morfoloji için referans değerden daha düşük değer

Oligoasthenoteratospermi: Her üç değişkenin de bozukluğuna işaret eder

Azospermi: Ejakülatta hiç spermatozoa bulunmaması

Aspermi: Hiç ejakülat elde edilememesi (35)

Klasik semen analizi için incelenecek ejakülat en az 48 saatlik cinsel perhiz sonrasında mastürbasyon ile steril bir kaba alınmalı ve cinsel perhiz yedi günü geçmemelidir. Örnek en geç 30 dakika içerisinde tetkik yapılacak laboratuvara getirilmiş olmalıdır. Ejakülatın mikroskopik muayenesinde görünümü, miktarı, likefaksiyon zamanı, viskozitesi ve pH'ı değerlendirilir. İlk değerlendirme için iki örnek alınmalıdır. İki örnek arasında geçen zaman yedi günden az, üç haftadan çok olmamalıdır (36).

1.2. Endometriozis

1.2.1. Tanım

Endometriozis, endometriumun glandüler doku ve/veya stromasının uterin kavite dışında fonksiyon gördüğü benign, kronik bir hastalıktır. En yaygın semptomları dismenore, disparoni, non-siklik pelvik ağrı ve subfertilitedir (37). Endometriotik odaklar ilk kez 1860 yılında Von Rokitansky tarafından tanımlanmıştır. Fakat endometriozis terimi ilk kez John A. Sampson tarafından, ovaryan endometriomaları incelediği makalesinin yayınlanmasından yedi yıl sonra tanımlanmıştır. 1927'de Sampson, endometrial hücrelerin uterin kavite dışında görülmesini tubal yetersizlik sonucu menstrüel kanamanın peritoneal kaviteye disseminasyonu ile açıklamıştır (38).

1.2.2 Etyopatogenez

Retrograd akım teorisi: Retrograd menstrüasyon teorisi, endometriozisin etyolojisini açıklayan en eski teoridir. Bu teori, endometriozisin menstrüasyon sırasında endometrial hücrelerin fallop tüpleri aracılığıyla pelvik kaviteye retrograd akışı nedeniyle meydana geldiğini öne sürmektedir. Retrograd menstrüasyon fallop tüpleri açık olan kadınların %76-90'ında meydana gelir ve bu kadınların hepsinde endometriozis olmaz (39). Endometriozisli hastaların pelvislerinde sağlıklı kadınlara göre daha fazla miktarda bulunan retrograd menstrüel sıvı, endometriotik lezyonların implantasyon riskini arttırabilir (40). Ayrıca endometriozis oranlarının farklı olmasına hormonların ve immünolojik faktörlerin yol açtığı düşünülmektedir (41). Menstrüasyon sırasında laparoskopi yapılan kadınlarda fimbrial uçtan kan akımı görülmesi, endometriozisin en sık pelvisle bağlantılı yerlerde görülmesi (overler, cul de sac), menstrüasyon sonrası periton sıvısında endometrial fragmanlar gösterilmesi, menstrüasyon akım obstrüksiyonu olan kadınlarda endometriozisin daha sık izlenmesi ve bazı maymun deneylerinde servikal transpozisyonla menstrüasyon sonrası endometriozis geliştirebilmesi bu teoriyi ortaya koymuş ve desteklenmesini sağlamıştır (42). Servikal stenoz, müllerian anomaliler gibi anatomik bozuklukların olduğu kadınlarda endometriozis daha sık görülmektedir. Genital organlarda menstrüel kanın dışarı akışını engelleyen herhangi bir tıkanıklık varlığında endometriozis görülme insidansı artmaktadır (43). Ancak bu teori ekstrapelvik endometriozisi açıklamakta eksik kalmaktadır. Bu durum endometrial hücrelerin venöz ya da lenfatik taşınması teorisiyle açıklanmaya çalışıldıysa da tam olarak ispatlanamamıştır. Ekstrapelvik endometriozis uterus ve overlerin alınmasından yıllar sonra dahi gelişebilmektedir (44). Ayrıca çok nadir de olsa erkeklerde de endometriozis görülmesi bu teoriye olan şüpheleri arttırmaktadır.

Çöломik metaplazi teorisi: Meyer tarafından tanımlanan bu teoriye göre periton boşluğunu döşeyen çöломik epitelin hormonal ve immünolojik uyarılar nedeniyle endometrial dokuya metaplazisi söz konusudur. Çöломik metaplazi teorisinin savunulduğu parametreler şunlardır: Endometriozis Müllerian anomali yokluğunda da adolesan kızlarda görülebilir (45). Endometriozis prepubertal kızlarda rapor edilmiştir (46). Endometriozis, hiç menstrüasyon olmayan kadınlarda da görülmüştür (47). Endometriozis, baş parmak, uyluk, dizde ise mezenkimal ekstremitelerden erken embriyogenez sırasında

çöломik epitele yakın kısımlardan gelişmiş olabilir (47). Endometriozis yüksek doz östrojen tedavisi ile bağlantılı olduğundan, erkeklerde de oluşabilir (48).

İndüksiyon teorisi: İndüksiyon teorisi, çöломik metaplazi teorisinin genişletilmiş halidir. Endojen biyokimyasal ya da immünolojik uyarıcıların etkisiyle undiferansiye peritoneal hücrelerin endometrial hücrelere farklılaştığı savunulur. Bu teori, dişi tavşanlarda yapılan çalışmalarla desteklenmiştir. İn vitro olarak over yüzey epitelinin ve endometrial stromal hücrelerin 17b-östradiol ile kültürü sonucunda mezotel hücrelerinde çöломik metaplazi gözlenmiştir (49),(50).

Genetik faktörler: Endometriozis gelişimi için genetik bir temel, ailevi yatkınlığın araştırılması için yapılan çalışmalarda etkilenen birinci derece akrabalarda endometriozis riskinin yüksek olduğu ve ikizlerde endometriozis görülmesinin birliktelik göstermesi ile bildirilmektedir. Çok sayıda çalışma genetik polimorfizmleri endometriozis gelişimine katkıda bulunan bir faktör olarak ilişkilendirmiştir. Detoksifikasyon enzimlerini kodlayan genler, östrojen reseptör polimorfizmine yol açan genler ve doğal immun sistemde rol alan genlerin endometriozisin patogeneğinde görev aldığı düşünülmektedir (39). Simpson, endometriozisli hastaların birinci derece akrabalarında, riskin 7 kat fazla olduğunu göstermiştir. Somatik kromozomlardaki genetik değişiklikler ve tümör supressör genlerini inaktive eden DNA delesyonlarının endometriozisin gelişimi ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir (51).

Embriyonik kalıntı teorisi: Bu teori, Müllerian kanalın migrasyonundan arta kalan embriyonik Müllerian kalıntılarının puberte döneminde östrojenin veya östrojenik etkiye sahip maddelerin etkisiyle endometriotik lezyonları oluşturduğunu öne sürer. İn utero dietilstilbestrola maruz kalan kadınlarda endometriozis riskinin iki kat arttığını bildiren epidemiyolojik çalışmalar tarafından destek görmektedir. Rektovajinal septum endometriozisi ve erkeklerde gelişen endometriozis olgularını açıklayabilir (52).

Lenfatik ve vasküler metastaz teorileri: Endometriozis odaklarının endometrial hücrelerin lenfatik ve hematojen yolla yayılması sonucunda oluştuğunu öne süren teoridir. Böylece, beyin, akciğer, lenf düğümleri, ekstremiteler ve abdominal duvar gibi uzak organlarda görülen endometriozis olguları açıklanabilmektedir (53).

İmmünolojik faktörler: Sağlıklı kadınlarda menstrüasyon sırasında peritoneal kaviteye reflü olan endometrial doku immün sistem tarafından temizlenir. Bu temizleme mekanizmasındaki disregülasyon, endometrial hücrelerin büyümesine ve implantasyonuna yol açar (54). Ek olarak, endometriozisli hastalardan alınan ektopik endometrium dokusunun, endometriozisi olmayan hastalara kıyasla natural killer (NK) hücreleri tarafından yapılan lizise çok daha dirençli olduğu saptanmıştır (55). Daha sonra yapılan çalışmalar endometrial stromal hücrelerden salgılanan intraselüler adezyon molekül-1 (ICAM-1) sayesinde bu hücrelerin NK hücrelerinden kaçabildiğini göstermiştir. Ayrıca bozulmuş makrofaj fonksiyonu da bu mekanizmayı desteklemektedir (56). Endometriozisli kadınlarda otoimmün hastalıkların daha sık görülmesi, endometriozis patogeneğinde bozulmuş immün yanıt olabileceği ihtimalini desteklemektedir (57).

1.2.3 Epidemiyoloji

Endometriozis prevalansı, tubal ligasyon sırasında fark edilen asemptomatik kadınlarda yaklaşık %4 iken, tedaviye dirençli dismenore ile seyreden adölesanlarda yaklaşık %50 oranında izlenmektedir (58). Reprodüktif dönemdeki kadınların %5-15'inde, infertil kadınların ise yaklaşık %40'ında endometriozis görülmektedir (59). Beyaz ırkta siyahlara göre daha sık rastlanmaktadır. Endometriozisli kadınların daha ince ve daha uzun olabileceğine dair çeşitli kişisel risk faktörleri de tanımlanmıştır. Kısa menstrüel siklus, erken menarş ve dismenore endometriozis için zemin oluşturabilir. Genellikle nulliparlarda görülmesine rağmen sekonder infertilitede de göz önünde bulundurulmalıdır. Östrojen seviyelerini değiştiren yaşam tarzı şekilleri de endometriozis oluşumunu etkiler. Sigara ve egzersiz bu riski azaltırken, kafein ve alkol kullanımı artırır (58).

1.2.4 Semptom ve Bulgular

Endometriozis semptomları arasında dismenore, kronik pelvik ağrı, derin disparoni, siklik bağırsak yakınmaları, yorgunluk hissi ve infertilite yer almaktadır. Bunun yanında endometriozis asemptomatik de seyredebilir (60), (61). Dolayısıyla endometriozis için patognomonik bir semptom yoktur. Genel olarak dismenore sıklığı: %60-80, pelvik ağrı: %30-50, infertilite: %30-40, disparoni: %25-40, menstrüel düzensizlik: %10-20, siklik dizüri-hematüri: %1-2, siklik rektal kanama: %1 olarak bildirilmektedir (59). İlk

semptomların ortaya çıkmasından endometriozis tanısı konulmasına kadar 7-12 yıla kadar gecikebileceği bildirildiğinden, pelvik ağrısı olan genç kadınlarda endometriozis olasılığı erkenden akla getirilmelidir (62), (61). Endometriozis ile ilişkili ağrının şiddeti ve karakteri nadiren hastalığın yayılımı ile korelasyon göstermektedir. Endometriozisli hastaların yapılan pelvik muayenesinde genellikle herhangi bir bulguya rastlanmaz. Pelvik hassasiyet, fikse retrovert uterus, hassas, nodüler uterosakral ligamentler veya adnekslerde büyüme endometriozis tanısı için önemli ipuçlarıdır. Ancak bu bulguların olmaması hastalığı ekarte ettirmez (63).

1.2.5. Tanı

Endometriozisten hikaye, semptomlar ve muayene bulguları ile şüphelenilir. Ancak kesin tanı cerrahi olarak alınan dokuların histopatolojik incelemesi ile mümkündür. Pelvik hassasiyet, fikse retrovert uterus, hassas, nodüler uterosakral ligamentler veya adnekslerde büyüme endometriozis tanısı için önemli ipuçlarıdır. Ancak bu bulguların olmaması hastalığı ekarte ettirmez. Laparoskopi sırasında abdominal kavitedeki endometriozis implantlarının tipik görüntüsü hastalığın varlığının kanıtı olarak kabul edilir. Laparoskopi ile çıkartılan lezyonun histolojik incelemesi, endometriozis tanısı için altın standart olarak kabul edilir (60). Laparoskopik girişimlerde karakteristik görünüm, mavi-siyah ya da kül yanığı şeklindedir. Erken dönemdeki aktif lezyonlar; papiller çıkıntılı veya veziküler görünümde ve şeffaf ya da açık kırmızı görünümde olabilir. İleri dönemdeki aktif lezyonlarda inflamasyon ve hemoraji izlenir. Hemoglobun yıkım ürünleri, periyodik kanama ve fibröz değişikliklere bağlı olarak bu lezyonlar; siyah, kahverengi, mor, kırmızı ve yeşil renkler içerebilirler. İnaktif ve iyileşmekte olan lezyonlar ise beyaz ve kalsifiye görünümlüdür (64).

Bilindiği gibi, endometriotik büyümeler çok çeşitli özelliklere sahip olabilir. Makroskopik olarak, küçük yüzeysel lezyonlardan, büyük kistlere veya derin invaziv nodüllere kadar değişik formlarda görülebilir. Klinik olarak peritoneal endometriozis (süperfisial lezyonlar), derin infiltran endometriozis ve kistik ovarian endometriozis (endometrioma) olarak üç farklı endometriotik büyüme paterni tanımlanmıştır. Overleri etkileyen en yaygın endometriozis tipi, benign, östrojen bağımlı ovarian kistlerdir (endometrioma). Endometrioid kist ya da çikolata kisti olarak da adlandırılan

endometriomalar, vücudun diğer organlarına diffüz eden endometriozisi olanların %17-50'sinde görülmektedir ve ileri evre hastalığı olan kadınlarda daha yaygın olarak meydana gelmektedir. Overlerde, yüzeysel lezyonlar ve kistik olmayan derin nodüller gibi başka endometriotik büyüme şekilleri de vardır. Bununla birlikte, overlerdeki endometriotik büyümelerin çoğunluğu (%90 kadar), kistik endometriomalara dönüşme potansiyeli taşır. Tipik endometriomaların en ayırt edici özelliklerinden biri, kist içeriğinin koyu kahverengimsi kırmızı görünen yoğun içerikli dejenere kan ürünlerinden oluşmuş olmasıdır. Bu karakteristik renk, 20. yüzyılın başlarında endometriozis öncüsü olan John A. Sampson'ın endometriomalara çikolata kisti adını vermesine yol açmıştır (65). Endometrioma ultrasonografi ile çoğunlukla buzlu cam ekojenitesinde, 1-4 bölmeden oluşan kistik yapı olarak görülür. Endometrioma tanısı için transvajinal USG için sırasıyla %89-64 sensitivite, %100-89 spesifite bildirilmiştir (66).



Şekil 1:Transvajinal ultrasonografi ile endometrioma görüntüsü

Endometriozis derin infiltratif hastalık şeklinde de görülebilir. Bu hastalarda pelvik muayene sırasında posterior vajinal fornikte vajinal nodül, özellikle perimenstüel dönemde rektovajinal duvarda ağırlı endürasyon veya nodül görülebilir (63).

CA-125'i yükselten jinekolojik ve non-jinekolojik nedenler bulunmaktadır. Jinekolojik nedenler arasında endometriozis, adenomyozis, fonksiyonel over kistleri, leiomyom, menstrüasyon, gebelik, pelvik inflamasyon, benign ovaryan neoplazmlar sayılabilir. CA-125 ölçümü evre I/II endometriozis tanısında çok sınırlı olmakla birlikte, evre III/IV tanısında daha doğru sonuç göstermektedir. Yetersiz sensitivite ve spesifite nedeniyle CA-125, endometriozis tanısında rutin olarak kullanılmamalıdır (67), (68), (69). Endometriozis tanısında altın standart laparoskopi olmakla birlikte MRI ile tanının sensitivitesi %86, spesifitesi %75 olarak belirtilmiştir. Ancak yüksek maliyet nedeniyle bu tanı yöntemi sık olarak kullanılmaz (70).

1.2.6. Sınıflama

Endometrioziste evreleme, tedavi seçeneklerinin standardizasyonu, operasyon bulgularının raporlanmasında ve farklı tedavi protokollerinin sonuçlarının karşılaştırılmasında ortak dilin kullanılması bakımından önemlidir. Endometrioziste ayrıntılı evreleme için cerrahi gereklidir. İlk olarak 1979'da öne sürülen Amerikan Fertilité Topluluğu'nun (AFS), skorum sistemi, 1985'te modifiye edilmiş ve 1997'da tekrar Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (ASRM) tarafından revize edilmiştir.

Endometriozis için bilinen en iyi sınıflandırma sistemi, revize edilmiş Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (r-ASRM) sınıflamasıdır . r-ASRM sınıflamasına ek olarak, derin endometriozis için Enzian sınıflaması, endometriozis fertilité indeksi (EFI), Amerikan Jinekolojik Laparoskopi Derneği (AAGL) sınıflaması gibi yeni sınıflandırma tipleri tanımlanmıştır. Endometriozis sınıflandırma sistemleri, geleneksel olarak lezyonun görünümüne, pelvik adezyonlara ve hastalığın anatomik konumuna dayanmaktadır. Ancak, tüm bu sistemler pelvik ağrı, infertilite, medikal tedaviye yanıt, hastalığın rekürrensi, ilişkili olduğu hastalıklar için riskler ve yaşam kalitesi ölçütlerini değerlendirme açısından yetersizdir (71), (72).

Tablo 2:Endometriozisin sınıflandırılması

Endometriozis	1 cm'den küçük	1-3 cm	3 cm'den büyük
Periton			
Superfisial	1	2	4
Derin	2	4	6
Over			
Sağ superfisial	1	2	4
Sağ derin	4	16	20
Sol süperfisial	1	2	4
Sol derin	4	16	20
Posterior cul-de-sac obliterasyonu	Parsiyel 4		Komplet 40
Adhezyonlar	1/3'den az	1/3-2/3	2/3'den fazla
Over			
Sağda ince	1	2	4
Sağda yoğun	4	8	16
Solda ince	1	2	4
Solda yoğun	4	8	16
Tuba			
Sağda ince	1	2	4
Sağda yoğun	4*	8*	16
Solda ince	1	2	4
Solda yoğun	4*	8*	16

*Fallop tüpü sonundaki fimbrialar tamamen kapalıysa puanlama 16 ile değiştirilir (72).

Bu puanlama sistemi hastalığı 4 evreye ayırmaktadır:

Evre 1 (Minimal endometriozis): 1-5 puan

Evre 2 (Hafif endometriozis): 6-15 puan

Evre 3 (Orta derecede hastalık): 16-40 puan

Evre 4 (Şiddetli hastalık): 40 puan üstü

1.2.7. Endometriozis ve infertilite ilişkisi

Endometriozis ve infertilite arasındaki ilişki yıllarca tartışılmıştır. Endometriozisi olan kadınların yaklaşık %30-50'sinde infertilite görülmektedir (73). Endometriozisli hastalarda infertiliteye yol açan mekanizmalar arasında pelvik anatominin bozulması, peritoneal kavitede artan enflamatuvar aktivitenin tubal fonksiyon, oosit, sperm veya embriyoya zarar vermesi, ötopik endometriumda progesteron direnci, integrin ekspresyonunda azalma, immunoglobulin üretiminde artış gibi değişiklikler bulunmaktadır (74), (75), (76), (77), (78). İleri evre endometriozisi olan hastalarda pelvik anatominin bozulmasına bağlı infertilite gelişmektedir. Majör pelvik adezyonlar veya peritubal adezyonlar tuba-over bağlantısını ve tubal açıklığı bozarak, overden oosit atılmasını, oositin tutulumunu ve transportunu engelleyebilir (79). Endometriozisi olan kadınlarda rüptüre olmamış luteinize folikül sendromu, bozulmuş folikülojenez, luteal faz defekti, prematüre veya multipl LH dalgalanmaları gibi endokrin ve ovulatuvar disfonksiyon görülebilir (80).

Endometriozisli kadınlarda peritoneal sıvı miktarı artmakla beraber bu sıvıda yüksek konsantrasyonda aktive makrofaj, IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α ve proteazlar yer alır. Bu değişiklikler, oosit, sperm, embriyo ve fallop tüpünün işlevi üzerine olumsuz etkileri olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, endometriozisli hastanın peritoneal sıvısında bulunan oosit yakalama inhibitörü (OCI), fimbriaların oositi yakalamasında başarısızlığa uğramasına yol açmaktadır (81), (82). Endometriozisli kadınların endometriumunda IgG ve IgA antikorlarının ve lenfositlerin seviyeleri yüksek bulunabilir. Bu anormallikler endometrial reseptiviteyi ve embriyo implantasyonunu değiştirebilir (80). Endometriozisli hastada endometrial reseptivitedeki değişikliklerin uterin implantasyonu etkilediği bildirilmiştir. Gecikmiş histolojik maturasyon ya da biyokimyasal bozukluklar endometrial disfonksiyona neden olabilir. Endometriozisi olan bazı kadınlarda implantasyon sırasında $\alpha\beta$ integrinin (hücre adezyon molekülü) azalmış endometrial ekspresyonu tarif edilmiştir. Son zamanlarda endometriozisli bazı kadınlarda, L-selektinin (blastokistin yüzeyindeki trofoblastı örten protein) bağlandığı endometrial ligandın sentezinde rol alan enzimin düşük seviyelerde izlendiği gözlenmiştir (80). Endometriyotik odaklara bağlı oluşan irritasyon ve inflamasyon sonrası salınan prostaglandinler anormal uterin kontraksiyonlara yol açarak implantasyonda

başarısızlığa yol açar (83). Erken evre endometrioziste endometriotik odakların tahribi spontan gebelik elde etme şansını artırır. Bu nedenle infertil bir kadına bir nedenle laparoskopi yapılıyorsa ve endometriotik odaklar görülürse bunların tahribi gereklidir (84), (85). İleri evre endometrioziste ise başka bir endikasyon yoksa sadece fertilitiyi arttırmak için cerrahi tedavi önerilmez (86). İnfertilitenin düzeltilmesinde medikal tedavinin yeri yoktur. Aksine, medikal tedavi ovulasyonu inhibe eder ve gebeliği geciktirir (87). Erken evre endometriozisi olan hastalarda infertilite Oİ, IUI ya da IVF gibi yardımcı üreme teknikleri ile tedavi edilebilir. Tubo-ovarian anotoninin bozulmuş olduğu ileri evre endometriozisi olan hastalarda ya da eşlik eden erkek faktör varlığında IVF uygulanması özellikle uygundur (88). Aboulghar, primer amacın infertiliteyi tedavi etmek olduğu zaman öncesinde cerrahi uygulamadan direkt IVF uygulanmasının en iyi seçenek olduğunu belirtmiştir. Bu nedenle ileri evre endometriozis tanısı alan hastalar, herhangi bir cerrahi tedavi uygulanmadan önce, birinci basamak tedavi olarak IVF uygulamasına teşvik edilebilirler (89). KOH+IUI'nin erken evre endometriozisli kadınlarda spontan izleme göre yaklaşık 5 kat daha yüksek gebelik ve canlı doğum oranı sağladığı bildirilmiştir (90). Barnhart ve ark. yayınladıkları bir metaanalizde IVF/ICSI uygulanan hastalarda tubal faktöre kıyasla evre 3-4 endometriozisi olan hastaların gebelik sonuçlarının daha kötü olduğunu bildirmişlerdir (60). Bir Cochrane derlemesinde, endometriozisli kadınlarda GnRH agonistleriyle 3-6 ay süreyle supresyonun, klinik gebelik olasılığını dört kattan fazla artırdığı anlaşılmıştır (91).

1.3. İn Vitro Fertilizasyon

1.3.1. Tanımı ve Endikasyonları

Her altı kişiden birinde infertilite problemi olup bunların yaklaşık %10'u yardımcı üreme teknolojilerine ihtiyaç duymaktadır (92). 1878 yılında Schenk adlı embriyolojist memeli yumurtalarının in vitro fertilizasyonu için ilk defa girişimde bulunmuştur. Bundan yaklaşık 100 yıl sonra 1978'de ilk IVF gebeliği sonucunda Luise Brown bebeğin doğumu gerçekleşmiştir. Her geçen yıl ovulasyonun uyarılması, oositlerin toplanması, oosit ve embriyo kültürü, embriyoların dondurularak saklanması ve embriyo transfer tekniklerinde önemli gelişmeler gerçekleşmektedir. Yardımcı üreme teknikleri (YÜT) arasında in vitro

fertilizasyon ve embriyo transferi (IVF/ET), gametin intrafallopian tüpe transferi (GİFT), zigotun intrafallopian tüpe transferi (ZİFT), intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI), intrauterin inseminasyon (IUI), mikroepidimal sperm aspirasyonu (MESA) ve testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE), preimplantasyon genetik teşhisi (PGT), verici oositlerin ve embriyoların dondurularak saklanması yer alır. Bu liste içerisinde en sık uygulananlar IVF/ET ve ICSI'dir (93). IVF/ET uygulaması, eksojen gonadotropin verilmesiyle yapılan kontrollü over hiperstimülasyonu (KOH) sonrası transvajinal ultrason eşliğinde oosit toplama işlemi, laboratuvarında sperm ile inkübe edilmesi ve oluşan embriyoların uterusu transservikal olarak transferini içermektedir (94). IVF endikasyonları arasında tubal faktör, endometriozis, erkek faktörü, açıklanamayan infertilite, immünolojik nedenler yer almaktadır.

1.3.2. Ovarian Stimülasyon Seçenekleri

IVF sonrası ilk başarılı doğum, spontan ovulatuvar siklusta tek bir oosit elde edilip tek embriyo transferi yapılmasıyla elde edilmiştir. Ancak bu yöntemin başarı oranı düşüktür ve günümüzde çok sayıda folikülün senkron gelişimini sağlayacak ovaryan stimülasyon stratejilerinin kullanımı benimsenmiştir. Kontrollü ovaryan stimülasyon, IVF tedavisi dahilinde overlerden en ideal sayı ve kalitede oosit elde etmek amacı ile aynı siklusta çok sayıda folikülün geliştirilmesidir. Böylece fertilizasyon olasılığı, transfer edilecek ve seçilebilecek embriyo sayısı ve dolayısıyla başarı şansı artar. Doğal siklusta IVF, GnRH agonist, GnRH antagonist ve Minimal stimülasyon protokolü gibi birçok tedavi seçeneği mevcuttur. Her hastaya uyacak tek bir protokol olmadığından uygulanacak tedaviler kadının yaşı, over rezervi, endokrin durumu, endometriozis, polikistik over sendromu (PKOS) ve over kisti gibi ilişkili durumlar göz önüne alınarak bireyselleştirilmelidir.

Doğal IVF siklusunda, eksojen gonadotropinler kullanılmadan siklusun doğal seyrinde takip edilerek gelişen tek oositin midsiklus LH piki olmadan önce toplanması amaçlanır. Özellikle, poor responder olgularda, tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olanlarda ve over stimülasyonunun kontrendike olduğu durumlarda faydalıdır. Ancak anormal folikülogenez, prematür LH piki ve spontan ovulasyon, fertilizasyon başarısızlığı ve kötü embriyo kalitesi gibi nedenlere bağlı siklus iptal oranları yüksektir (%30). Bu durumun önüne geçmek için folikül boyutu 14 mm 'ye ulaştıktan itibaren GnRH antagonist kullanımı ve

gonadotropinlerin eklenmesi (add-back tedavi) ile yeterli folikül boyutuna ulaşıldığında ekzojen HCG uygulaması yapılmaktadır (95).

1.3.2.1. Uzun Protokoller

Bu tedavi protokolünde GnRH agonist aracıyla siklus kontrolü sağlamak amacıyla hipofizer endojen gonadotropin üretimi baskılanır. Endojen gonadotropinlerin baskılanması, önceki siklusun geç luteal döneminde başlayan ve sonraki siklusta gelişecek olan dominant folikülün seçimini sağlayan erken FSH yükselmesinin engellenmesini sağlar. Böylece dominant folikül seçimi gecikir ve stimülasyonla birlikte senkronize folikül gelişimi sağlanır. Ayrıca endojen gonadotropinlerin baskılanması ile erken ve kontrolsüz endojen LH piki önlenir. Böylece prematür luteinizasyon ve ovulasyon riski azalır. GnRH agonistleri olarak löprolid asetat (cilt altı enjeksiyon), nafarelin asetat (intranazal), buserelin (cilt altı veya intranazal kullanım) ve triptorelin (cilt altı enjeksiyon) kullanılır. ABD’de sıklıkla 0,5-1 mg/gün (minidoz) subkutan leuprolid asetat kullanılır, alternatif olarak daha yüksek dozlarda tek doz depo enjeksiyon da uygulanabilir. GnRH agoniste IVF siklusundan önceki siklusun midluteal döneminde, tahmini ovulasyondan yaklaşık bir hafta sonra başlanır ve günlük uygulanır. Bu dönemde endojen gonadotropin seviyeleri düşüktür ve GnRH agonistlerinin neden olacağı erken flare etki de en az olacaktır. GnRH agonistinin etkisiyle ilerleyen günlerde endojen östradiol ve progesteronun baskılanması sonucu vajinal kanama oluşur. Kanamanın üçüncü günü serum östradiol (E2) seviyesinin < 30 pg/ml olmasıyla ve USG’de 10 mm’den daha büyük folikül saptanmamasıyla down-regülasyon teyit edilir (96). Menstrüasyonun ikinci veya üçüncü gününden itibaren tedaviye gonadotropinler eklenir ve analog dozu yarıya düşürülür veya aynı dozda devam edilir. Stimülasyona genellikle 150-225-300 IU/gün dozunda subkutan uygulanan gonadotropinlerle başlanır. Kullanımda olan gonadotropinler üriner FSH, rekombinant FSH, üriner menotropindir (hMG). Hepsi subkutan uygulanırken, menotropin tercihen intramuskuler kullanılır. Gonadotropin dozunu belirlerken hastanın yaşı, over kapasitesi ve daha önce indüksiyon almışsa o tedavideki yanıtları göz önüne alınır. Gonadotropin dozu transvajinal ultrasonografi ve serum E2 seviyelerinin ölçümü ile takip edilen foliküler gelişime göre basamaklı artış veya azalma şeklinde değiştirilir. Seri serum E2 ölçümü ve over foliküllerinin TVUSG ile değerlendirilmesiyle stimülasyona yanıt değerlendirilir. Genelde hedef 17-18 mm çapta en

az iki folikül elde etmektir ve ideal olarak birkaç tane 14-16 mm arasında folikül olabilir. Serum E2 düzeyi ise 14 mm ve üstü foliküller için folikül başına 200 pg/ml'dir. Bu hedefe ulaşıldığında 5000-10000 IU hCG yapılır ve 34-36 saat sonra oosit toplama işlemi gerçekleştirilir (97), (98). Uzun protokoller YÜT sikluslarında en çok tercih edilen protokollerdir. GnRH agonist uzun protokollerin başlıca yan etkileri arasında uzun tedavi süresi, daha fazla gonadotropin ihtiyacı, over kist oluşumu ve menopozal semptomların (sıcak basmaları, vajinal kuruluk gibi) görülmesi yer alır (99).

1.3.2.2. Kısa Protokoller

Önceki siklusun midluteal döneminde GnRH agonisti kullanılmaksızın menstrüel siklusun başlangıcı ile indüksiyona başlanır. Uzun süreli kullanımının getirdiği baskılamadan kaçınılarak GnRH agonistinin hipofiz üzerindeki erken agonistik flare etkisinden stimülasyonda faydalanılır. Over rezervi düşük olan ya da stimülasyona yanıtı zayıf olan hastalarda kullanılabilir. Siklusun 1-2. günü GnRH agonisti başlanır, siklusun 3. günü ise gonadotropinlerle stimülasyona başlanır. Folikül gelişimi TVUSG ile takip edilerek gerekirse gonadotropin dozları değiştirilir. Genelde hedef 17-18 mm çapta en az iki folikül elde etmektir ve ideal olarak birkaç tane 14-16 mm arasında folikül olabilir. Bu hedefe ulaşıldığında 5000-10000 IU hCG uygulanır ve 34-36 saat sonra oosit toplama işlemi yapılır.

1.3.2.2.1. Ultra-kısa Protokol : Kısa protokolün bir modifikasyonu olan bu protokolde daha kısa süreli GnRH agonisti (3-7 gün) kullanılmaktadır. Daha sonra agonist uygulaması kesilerek tedavi sadece gonadotropinle devam eder. Endojen gonadotropin baskılanması için yeterince uzun süre GnRH agonisti kullanılmadığı için prematür LH yükselmesi daha sık gözlenir. Düşük başarı oranları nedeniyle çok fazla kullanılmamaktadır.

1.3.2.2.2. Mikrodoz Protokolü: Kötü over rezervli ya da stimülasyona yanıtı zayıf olan olgularda hem GnRH agonistinin flare etkisinden faydalanılabilecek hem de prematür luteinizasyon riskini en aza indirecek bir protokol olarak geliştirilmiştir. Bu protokolde önceki siklusta OK kullanılır, son haptan 3-5 gün sonra 2 gün süreyle GnRH agonisti (2 x 40 mcg leuprolid asetat) kullanılır. Üçüncü günden itibaren yüksek doz gonadotropinler eklenir. Leuprolid asetat kullanımına ovulasyon tetikleninceye dek devam edilir.

Stimülasyonun 5. günü down regülasyon gerçekleşinceye kadar geçen sürede GnRH agonisti büyüyen folikülleri stimüle ederken ilerleyen zamanda prematür LH pikini engeller.

1.3.2.2.3. GnRH Agonist Stop Protokolü: Rölatif olarak daha düşük doz GnRH agonisti önceki siklusun midluteal döneminde başlanıp mensle birlikte kesilir. Sonrasında yüksek doz gonadotropinlerle stimülasyona devam edilir. Ovaryan supresyon daha az olup stimülasyona over cevabı artmaktadır. Yine de bu protokolda zamansız LH yükselmesinin düşük olduğu bildirilmiştir (100), (101).

1.3.2.3. Antagonist Protokolleri

GnRH antagonistleri agonistlerden daha hızlı şekilde hipofizer desensitizasyon sağlarlar. Hızlıca kompetitif antagonizma ile GnRH reseptörlerine bağlanıp bloke ederler ve bu etkileri 8 saat içinde geri döner. Gonadotropin ile stimülasyona menstrüel siklusta başlanır, foliküllerin 14 mm'ye ulaşması, prematür ovulasyon riski ve siklus iptali riskiyle karşı karşıya kalınmasıyla antagonistte başlanır (fleksibl uygulama). Buna alternatif olarak diğer bir uygulama şekli ise GnRH antagonistinin spesifik bir günde, genellikle 6. günde başlanması şeklindedir (fiks uygulama). GnRH antagonisti olarak ganirelix ve cetorelix kullanılmaktadır. hCG günü de dahil olmak üzere ovulasyonun tetiklenmesine dek günlük 0.25 mg enjeksiyonlar cilt altı olarak uygulanır (102). Al-Inany ve arkadaşlarının fiks ve fleksibl protokolleri karşılaştırdıkları bir meta-analizde gebelik sonuçları açısından her iki uygulama arasında fark olmadığını ancak fleksibl yöntemde kullanılan FSH dozunun daha düşük olduğunu bildirmişlerdir (103). Antagonist protokollerde diğer bir uygulama da stimülasyonun 7. ya da 8. günü tek doz 3 mg GnRH antagonist verilmesidir. Genelde hedef 17-18 mm çapta en az iki folikül elde etmektir ve ideal olarak birkaç tane 14-16 mm arasında folikül olabilir. Bu hedefe ulaşıldığında 5000-10000 IU hCG uygulanır ve 34-36 saat sonra oosit toplama işlemi yapılır. Antagonist protololün avantajları arasında kullanılan toplam gonadotropin dozunun daha az olması ve OHSS gelişme riskinin agonist protokollere göre daha düşük olması yer alır (104), (105).

1.3.3. Ovülasyon İndüksiyonu Monitorizasyonu

Stimülasyonun takibi için, seri serum estradiol (E2) tayini ve TVUSG ile folikül boyutu ölçümü kullanılmaktadır (106). Stimülasyondan 3-5 gün sonra serum E2 düzeyine bakılarak

verilen dozun yeterli olup olmadığı değerlendirilir. Daha sonra serum E2 seviyesi takibi ve TVUSG ile ovaryan foliküller değerlendirilerek alınan cevaba göre hasta 1-3 gün aralıklarla kontrole çağırılır. Amaç, ortalama 7-12 günlük bir stimülasyon dönemi sonrası en az 2 adet 16-18 mm çapta folikül elde etmektir. Endometrial kalınlık ölçümünün IVF başarısına etkisi henüz netleşmemiş olsa da endometrium kalınlığı 7 mm'nin altında olduğu zaman gebelik oranlarının düşük olduğu bildirilmiştir (107), (108). Geç foliküler fazda E2'nin bir gün önceki değerine oranla %50 civarında artması ve foliküler büyümenin 2 mm/gün olması yeterli dozun ve cevabın sağlandığını düşündürür (109). Ultrasonografide 18 mm boyutunda 2 folikül varlığında ve endometrium 7-14 mm, trilaminer görünümde ise hCG planlanır. hCG yapıldıktan 34-36 saat sonra yumurta toplama işlemi (OPU) yapılır (110).

1.3.4. Folikül Aspirasyonu ve Fertilizasyon

hCG enjeksiyonundan 34-36 saat sonra TV-USG aracılığıyla folikül aspirasyonu gerçekleştirilir. İntravenöz sedasyon veya her iki lateral fornikslere yapılacak lokal anestezi eşliğinde transvajinal prob ve beraberinde tutturulmuş aspirasyon iğnesi ile foliküller aspire edilir. 16-17 G'luk iğne yardımıyla, yaklaşık 100-200 mmHg vakum basıncında ultrasonografi eşliğinde foliküler sıvı ve oositler toplanır (111). Folikül sıvısı aspire edildikten sonra mikroskop ile incelenir ve toplanan oositler 37°C sıcaklıkta, %5-6 karbondioksit oranında inkübatöre kültür sıvısı içinde kaldırılır. IVF uygulanacaksa kumulus hücreleri mekanik olarak gevşetilerek 3 saat inkübe edilirken, ICSI uygulanacaksa kumulus korona ve oosit kompleksi enzimatik (hyaluronidaz) ve mekanik olarak denüde edildikten sonra 2 saat inkübe edilir. Semen örneği oosit toplanmadan hemen önce ya da sonra mastürbasyonla alınmalıdır. Yüzme (swip-up) ve yoğunluk gradienti santrifugasyon (density gradient centrifugation) olmak üzere iki adet yöntemle spermler hazırlanır. Ayrılan spermler kapasitasyon amacıyla protein içeriği yüksek olan mediumda 0,5-4 saat inkübasyona bırakılır. Her oosit 50-100 bin hareketli sperm ile beraber 37 derecede, %5'lik karbondioksitli ve %98'lik nemli ortamda 12-128 saat kadar bekletilir. Ancak, ciddi erkek faktörü varsa ICSI uygulanır. ICSI, spermlerin zona pellusidayı geçme ihtiyaçlarını ortadan kaldırmak için geliştirilmiş bir tekniktir (112), (113).

1.3.5. Oogenezis

Oogenezis, oogonia denilen primitif kadın germ hücrelerinin olgun oosite dönüşmesine kadar geçen olaylar dizisidir. Bu olgunlaşma süreci doğumdan önce başlayıp puberteye gelince tamamlanır.

1.3.5.1. Oositlerin Preantral Olgunlaşması (Folikülogenezis)

Primordial germ hücreleri (PGH), oosit gelişimindeki ilk ana hücredir. PGH, yolk sak, allantois ve son barsak endoderminden köken almakta olup gebeliğin 5-6. haftasında genital tüberküle göç etmektedir. 6-8. gebelik haftalarında hızlı mitotik bölünmeler geçirilmesiyle 16-20. gebelik haftalarında her iki overde toplam 6-7 milyon oosit meydana gelmektedir.

PGH overe ulaşınca ismi oogonia olur. Oogonia PGH'e nazaran daha hızlı mitotik aktivite gösterir ve mayozu girmeden çeşitli defalar mitoz bölünme geçirirler. Aslında oogoniyaların mitotik aktivitesi over rezervinin ne kadar olacağını belirler. Pre-mayotik DNA sentezinin başlaması ile oogonial dönem biter, oosit dönemi başlar ve oluşan oositlere primer oositler denir. Mayozu giriş 8 ile 13 haftalar arasında olup ilk folikül oluşumunun izlendiği 16. haftadan çok öncedir (114).

Seri mitotik bölünmelerin ardından oogoniyaların bir kısmı primer oositleri oluşturmak üzere I. mayozun profaz evresinde duraklar. Bununla birlikte çok sayıda oogonia ve primer oosit atrezik hale gelir. Yenidoğan overinde oogonia bulunmaz ve doğum sırasında overlerde yaklaşık 1-2 milyon primer oosit yer alır. Doğumdaki tüm primer oositler I. mayozun profaz evresindedirler ve puberteye kadar bu aşamada dinlenme evresinde kalırlar. Bu süreçte oositin olgunlaşması folikül hücrelerinden salınan oosit matürasyon inhibitörü (OMİ) tarafından engellenir. Pubertede overlerdeki oosit sayısı 300.000-500.000'e düşer ve 35-40 yıl süren reproduktif hayatta toplamda 400-500 germ hücresi ovülasyon için seçilmektedir (115).

İnsanda primordial folikül gelişimi en erken 16 haftada başlar ve en geç postnatal 6. ayda biter. Over rezervini temsil eden primordial foliküller tek katlı yassı pre-granüloza hücreleri ile çevrili diploten oositten (30-60 µm) oluşur. Primordial foliküller dormant fazdan büyümenin başlaması ile primer aşamaya geçerler.

1.3.5.2. Oositlerin Doğum Sonrası Süreçte Olgunlaşması

Puberteye ulaşıldığında ovaryumlar artık primordiyal foliküllerden beslenen bir folikül havuzuna sahip olmuş durumdadır. Her ovaryal döngüde bu havuzdan seçilen 5-15 kadar primordial folikül olgunlaşmaya başlar. Her menstrüal siklusta bir grup folikül gelişmeye başlasa da, bunlardan ancak bir tanesi tam olarak olgunlaşır, diğerleri atretik hale gelirler.

Primordial folikülden primer folikül gelişimini neyin tetiklediği hala belirsiz olup hayvan çalışmaları bize bunun folikül mikroçevresi içerisindeki otokrin ve parakrin faktörlere bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Primordial foliküllerin aktivasyonu için FSH'ya gerek yoktur zira primordial foliküller FSH reseptörü barındırmazlar (116), (117). Primordial folikülün primer foliküle transformasyonu esnasında yassı granüloza hücreleri küboidal hale gelmekte ve oosit çapı da beraberinde artmaktadır (118). Primordial foliküllerin primer foliküllere aktive olmaları siklik bir hadisedir ve fetal hayatta başlayıp menopoza kadar devam eder (115).

Granüloza hücrelerinin mitotik ekspansiyonu ile tek tabakalı primer foliküller çok tabakalı hale gelirler. Bu dönemde oosit çapında artma, granüloza hücrelerini teka tabakasından ayıracak olan bazal lamina ile zona pellusida ve teka hücrelerinin oluşumu gerçekleşir (119). Bu büyüme fazında folikül çapı primer safhada 40-60 µm'dan preantral safhada 120-150 µm'a çıkar. Folikülün büyümeye devam etmesi ile 200 µm çapa ulaşan foliküller antral safhaya ulaşır. Bu dönemin asıl karakteristik özelliği granuloza hücre tabakaları arasında sıvı dolu boşlukların oluşup birleşerek antral boşluğu oluşturmalarıdır. FSH reseptörleri ilk defa preantral folikülde gelişmektedir ve yeterli FSH uyarısı olmazsa foliküler gelişim atrezi ile sonuçlanmaktadır (117). Folikül büyümesinde FSH yanında, transforming growth factor-beta (TFG-β) ailesinin üyelerinden ve granüloza hücrelerinden salınan aktivinler, teka hücrelerinden salınan bone morphogenetic proteinler (BMP-4, BMP-7) ve oosit kaynaklı growth differentiation factor-9 (GDF-9) ve BMP-15 preantral ve antral folikül gelişiminde rol oynamaktadır.

Steroidogenez ilk defa preantral folikülde başlar. Teka hücrelerinde LH reseptörü bulunurken, granüloza hücrelerinde FSH reseptörleri vardır. LH aracılığıyla teka hücrelerinde kolesterolden androstenedion ve testosteron sentezlenir ve bu androjenler

granuloza hücrelerine geçerek aromataz enzimi ile östrojenlere çevrilirler. İnhibin-B foliküler fazda FSH etkisiyle granuloza hücrelerinden salınırken, İnhibin-A luteal fazda LH etkisiyle salınır. Her iki inhibin de FSH üretimini ve salınımı inhibe eder. Folikül büyüdükçe daha fazla İnhibin-A ve follistatin salınarak aktivin dominant ortamdan inhibin dominant ortama geçiş olmaktadır. Artan inhibin ile FSH düzeyi düşmekte ve LH ile indüklenen androjen sentezi artarak preovulatuvar dönemde ihtiyaç duyulan östradiol yüksekliği için substrat hazırlanmaktadır.

Follistatin de aynı zamanda aktivin-A'yı süprese edecektir. Bu sayede yaratılan ortamlar erken folikül büyümesi aşamasında aktivin-A, TGF- β ve GDF-9 gibi faktörlerin etkisi ile daha fazla FSH ve LH reseptör ekspresyon eden foliküller ile daha fazla aromataz aktivitesi taşıyan foliküller ileri büyüme aşamasında daha az substratı daha etkili kullanabilir hale gelerek atreziden kaçıp dominant folikül olarak seçilebilecektir (114).

Dominant folikülde primer oosit çevresindeki özelleşmiş granuloza hücrelerinden oluşan yapıya kumulus ooforus denir. Dominant folikül gelişimine devam ederken üretilen östrojen granuloza hücrelerinde LH reseptörleri oluşmasına neden olur. Östrojen artışı ovülasyondan 24-36 saat önce en üst düzeye ulaşmaktadır ve bu LH piki başlangıcı da bu ana denk düşmektedir. LH'nin ani artışı, oositteki mayoz bölünmenin devam etmesi, granuloza hücrelerinin luteinizasyonu ve folikülde progesteron ve prostaglandinlerin sentezini uyarır. Prostaglandinler plazminin aktivitesini artırır ve böylece foliküler duvardaki kollajenin sindirilmesiyle rüptür ve ovülasyon gerçekleşir. Ovülasyondan geriye kalan foliküler yapı korpus luteum olarak adlandırılır (120).

Puberteye kadar over foliküllerinde I. mayozun profaz evresinde bekleyen primer oositler LH piki gerçekleştiğinde, ovulasyondan hemen önce I. mayoz bölünmeyi tamamlarlar. Mayoz bölünmenin tamamlanmasıyla büyüklükleri farklı fakat, her biri 23 çift (2nDNA) kromozom içeren iki yavru hücre oluşur. Bu hücrelerden biri sitoplazmanın tümüne yakınına alarak sekonder oosit, diğeri ise çok az sitoplazma içeren 1. kutup cisimi haline gelir. Ovulasyonda sekonder oositin çekirdeği II. mayoz bölünmeye başlar ancak bu bölünmenin metafaz evresinde bekler. Kromozomlar ovulasyondan 3 saat önce metafaz plağında dizildiklerinde ovulasyon gerçekleşir ve oosit ovaryumdan dışarıya atılır. II. mayoz bölünme ancak oosit II, bir sperm ile döllendiğinde tamamlanır. Sitoplazmanın hemen hemen

tamamını alan bu hücreye fertilize oosit denir. Diğeri II. kutup cisimciği olarak adlandırılan küçük fonksiyonsuz bir hücredir ve daha sonra dejenere olur. Genellikle her siklusta iki ovaryumun birinden dönüşümlü olarak bir adet sekonder oosit atılır (121).

1.3.6. Embriyoner Gelişim

1.3.6.1. Erken Embriyonel Gelişim

Mikroskop altında incelendiğinde oosit; 1. Polar cisim içeren metafaz 2 (MII), 1. polar cisim ya da germinal vezikül içermeyen metafaz 1 (MI) ve germinal vezikül içeren profaz 1 (PI) olarak gruplandırılır. MII oositlerin fertilizasyon oranları çok daha yüksektir (121). Fertilizasyon, tek bir sperm çekirdeğinin oositten gelen çekirdek ile aktive olmuş oosit sitoplazması içerisinde birleşmesidir. Fertilizasyonun tamamlanabilmesi için gametlerin kendilerine ait çekirdek materyallerinin reorganize olması ve bu şekilde erkek ve dişi pronükleuslarının oluşması gereklidir. Pronükleus fertilizasyonun ilk belirtisidir. Erkek ve dişi pronükleuslarının meydana geldikten sonra birbirlerine yaklaşımları ve oosit sitoplazmasının ortasına yerleşmeleri inseminasyondan yaklaşık 16-18 saat sonra gerçekleşir. Normal fertilizasyonda iki pronükleus, birinci ve ikinci kutup cisimcikleri izlenir. 20-34 saat sonra pronükleuslar birleşir ve singami meydana gelir. Ardından 35,6 saat sonra döllenmiş yumurtanın mitotik bölünmesiyle, sitoplazma ikiye ayrılır ve iki hücreli embriyo (zigot) meydana gelir. Zigotun tekrarlayan mitoz bölünmelerine yarıklanma denir ve buna bağlı olarak hücre sayısında hızlı bir artış olur. Bu hücrelere blastomer adı verilir. Başlangıçta zigot iki blastomere ayrılırken daha sonra bölünerek dört, sekiz, on altı şeklinde artan blastomerler oluşur. Fertilizasyondan sonraki ilk bölünme yaklaşık 24 saatte gerçekleşirken, izleyen bölünmeler 18 saatlik süreçlerde tamamlanır. Böylece ilk üç bölünme 60 saatte tamamlanmış olur (122).

1.3.6.2. Morula ve Blastokist Gelişimi

Fertilizasyondan sonraki dördüncü günde gelişen embriyodaki hücre sayısı, inseminasyonu takiben yaklaşık 96 saat sonra 16-20 hücre arasındadır. Kompaktlaşma, hücrelerin daha yakın bir şekilde yapışmasına neden olan bir seri hücreler arası sıkı bağlantıların (desmozom, gap junction) oluşması sonucu meydana gelir. Embriyo, kompaktlaşmaya başladığı zaman morula adını alır. Moruladan sonra kavitasyon dönemi

başlar. Morula evresinde hücreler arasında kavite oluştuğu zaman embriyo blastokist adını alır. Kavitasyon ilerledikçe, kompaktlaşma sırasında blastomerlerin kutuplaşmasıyla trofektoderm (dış hücre kütlesi) ve inner cell mass (iç hücre kütlesi) olmak üzere iki farklı hücre grubu oluşur. İn vitro blastokist oluşumu, inseminasyondan sonra 5. ve 6. günlerde gerçekleşir. Blastomerler totipotent olup, embriyoyu oluşturacak herhangi bir dokuya ait hücreye farklılaşabilirler. İç hücre kitlesi, gebelik esnasında embriyoyu oluşturmakta görevli iken trofektoderm gebelik kesesi ve bebeğin beslenmesi ile ilgili kısımları oluşturmaktadır (123).

1.3.7. Embriyo Kalitesinin Değerlendirilmesi

ARTs'ndeki başarılar embriyo kalitesi ve gebelik oranları arasında yakın ilişki olduğunu göstermiştir (124). Ayrıca embriyo kalitesinin değerlendirilmesiyle seçilen iyi kalitede ve az sayıda embriyo transferi sayesinde IVF'in en yaygın komplikasyonu olan çoğul gebeliğin azaltılması amaçlanmıştır (125). Embriyoların kalitesinin değerlendirilmesinde blastomer sayısı, bölünme hızı, blastomerlerin sitoplazmik şekil ve büyüklüğü, fragmentasyon varlığı ve dağılımı dikkate alınır (126).

Fragmentasyon, hücrenin plazma membranının ekstraselüler bölgeye bir atığıdır ve sitoplazma içerir. Bazı araştırmacılara göre, bölünen blastomerlerden bazılarının programlı olarak ölümüne neden olan apoptotik cisimler olarak kabul edilmiştir (127). Birçok çalışmada fragmentasyon oranı yüksek embriyoların implantasyon ve klinik gebelik oranlarının düşük çıktığı bildirilmiştir (128). Veeck, fragmentasyon oranları ve blastomer özelliklerine göre embriyo kalitesini 5 alt birimde sınıflamıştır (121).

Tablo 3: Fragmantasyon oranları ve blastomer büyüklüğüne göre embriyo kalitesinin sınıflaması

Grade-1	Fragmantasyon içermeyen, Eşit büyüklükte blastomerlere sahip embriyolar
Grade-2	%10 oranında fragmantasyon içeren, Eşit büyüklükte blastomerlere sahip embriyolar
Grade-3	Değişen oranlarda fragmantasyon içeren ve Farklı büyüklükte blastomerlere sahip embriyolar
Grade-4	%10'dan fazla fragmantasyon içeren ve eşit büyüklükte veya Farklı büyüklükte blastomerlere sahip embriyolar
Grade-5	%50'den fazla fragmantasyon içeren ve Farklı büyüklükte blastomerlere sahip embriyolar

Embriyo kalite sınıflandırmalarının çoğu, hücre sayısını en yüksek prediktif parametre olarak kullanır. Çünkü mitotik bölünmelerin sıklığı embriyonun gelişim potansiyeli ile ilgilidir. Kültürün 3. gününde dört veya daha az sayıda blastomer, son derece düşük gelişim potansiyelini gösterir. İyi kalitede embriyo kültürün 2. gününde en az 4 hücre, 3. gününde ise en az 8 hücre içermelidir. Blastomer sayısının 2'nin katları şeklinde artması normal embriyo gelişimini yansıtmaktadır (126).

1.4. Sitokinler

İmmün/inflamatuar yanıtta katılan hücrelerin etkinliklerinin artırılması için; uyarılmış lenfositler, monositler ve makrofajlar ile diğer bazı somatik hücreler tarafından sentezlenen peptid veya glikoprotein yapısında maddelerdir (129). İmmün sisteme ait hücreler ve bunlarla ilişkili olarak sitokinlerin reproduktif sistemdeki nöroendokrin olayları, over fonksiyonlarını, plasenta ve embriyo gelişimini etkilediği gösterilmiştir. Kadın reproduktif sistemindeki lenfosit ve makrofajlar embriyo ve trofoblast gelişimini etkileyen sitokinler sekrete etmektedirler (130). Bazı sitokinlerin konsantrasyonları foliküler sıvıda periferik kandaki değerlerine göre çok daha yüksektir. Buna bağlı olarak over fonksiyonlarının

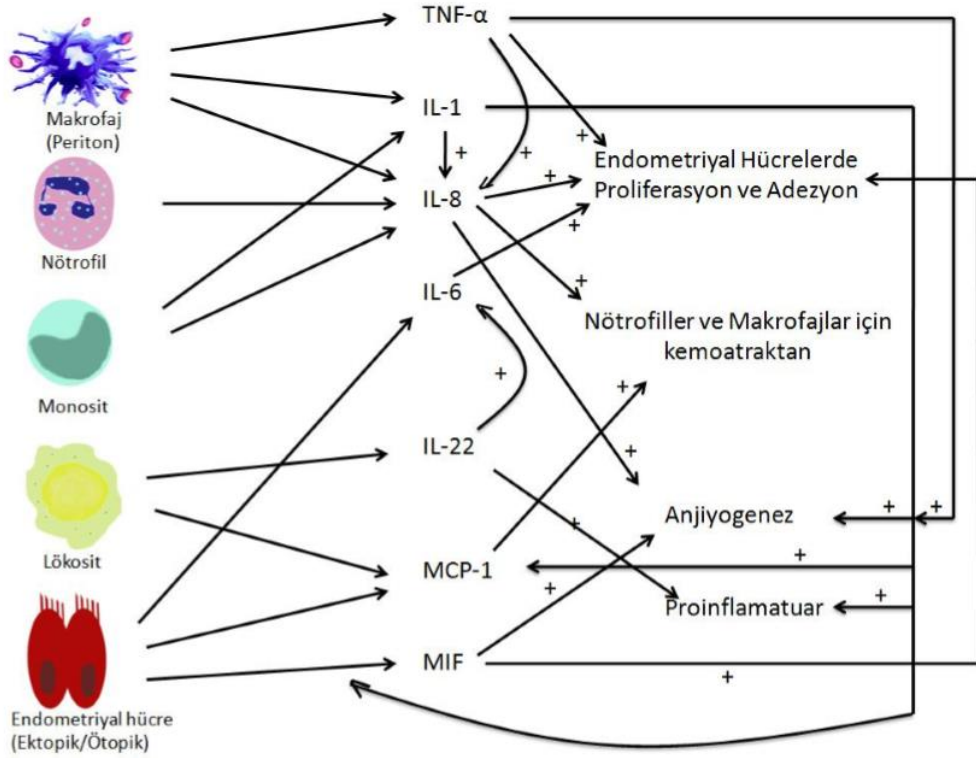
immün regülasyonu aracılığıyla embriyo implantasyonu ve gebeliğin devamı üzerinde önemli rol oynarlar.

Ostanin ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada foliküler sıvıda düşük konsantrasyonda IL-2, IL-4, IL-7 ve granülositik CSF (colony stimulating factor) bulunan hastalarda efektif olmayan folikülogenez görüldüğünü ve bu sitokinlerin oosit matürasyonu ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada in vitro fertilizasyon sikluslarında folikül sıvısında artmış IL-1 β , IL-8 ve IL-13 seviyelerinin gebelik kaybı oranıyla korelasyon gösterdiği saptanmıştır (131).

Lökositler çok sayıda sitokin lokal olarak folikül içerisinde sentezlenmesini sağlayarak overlerin potansiyel immün modülatörü olarak görev yaparlar. Bu sitokinler de steroidogenez ve gamet üretiminde etkilidirler. Overlerdeki primer immün hücrelerin makrofajlar ve T-lenfositler olduğu bildirilmiştir. Ovulasyon sırasında folikül rüptürü; teka tabakasında fibroblastların mobilizasyonu, artmış lökosit migrasyonu ve çeşitli sitokin ve kemokinlerin salınımı sonucu folikül duvarındaki konnektif doku kaybı ile karakterizedir. Ayrıca corpus luteum oluşumu ve regresyonu lenfositlerin ve makrofajların progresif infiltrasyonu, kemokinlerin ve sitokinlerin salınımını ve hücre adezyon molekülleri arasındaki iletişimi gerektirmektedir (132), (133). Mid-foliküler fazda düşük seviyede izlenen makrofaj ve nötrofil hücreleri folikül rüptüründen sonra özellikle teka-lutein tabakasında baskın olmak üzere erken corpus luteumda artmış olarak izlenmektedir. Ovulasyon sırasında folikül sıvısında makrofaj sayısının anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir ve makrofajların LH reseptörü eksprese ettiği bilinmektedir (132).

Endometrium, sitokinlerin ve bunların reseptörlerinin önemli bir üretim yeri olarak kabul edilmektedir. Özellikle, uterin glandüler veya lüminal epitelde ve desidualize stromal hücrelerde baskın olarak bulunmaktadır. Büyüme faktörleri ve sitokinlerin blastokistin implantasyon sürecinde aktif rol aldığı düşünülmektedir. Farelerle yapılan çalışmalarda CSF-1, GM-CSF, IL-1 ve IL-6 gibi sitokinlerin yokluğunda implantasyon alanının azaldığı gösterilmiştir. Bu sitokinlerin özellikle implantasyon penceresi olmak üzere sekretuar fazda maksimum olarak üretildiği bildirilmiştir (134).

Endometriozis ile bağlantılı enflamatuar yanıt, doku onarımı ve neovaskülarizasyon periton sıvısındaki makrofajların salgıladığı sitokinler sebebiyle görülmektedir. Sitokinlerden özellikle IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8 ve TNF- α endometriozis patogenezinin sorumlu tutulmakta ve aşırı sitokin salınımı infertiliteye yol açmaktadır (135), (136). Endometriozisli hastaların peritoneal sıvılarındaki sitokin miktarının artışına peritoneal makrofajların, lenfositlerin, mezotelyal hücrelerin ve ektopik endometrial lezyonların sebep olduğu düşünülmektedir (137). Endometriozisli kadınlarda özellikle peritoneal makrofajların aktivitesi ve sayısı artmış olarak bildirilmiştir. Aktif peritoneal makrofajlar periton sıvısına IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α ve VEGF 'yi de içeren farklı sitokinleri salgırlar (136).



Şekil 2: Endometrioziste rol alan sitokinlerin hücresel kaynağı, rolleri ve birbirleriyle olan ilişkileri (136)

1.4.1. Tümör Necrosis Factor (TNF- α)

Tümör nekrozis faktörü TNF- α makrofajlar tarafından sentezlenen 17-kDa ağırlığında polipeptid yapıda bir sitokindir (138). TNF- α sadece proinflamatuvar süreçte değil, hücre farklılaşması, doku yenilenmesi ve yeniden yapılanması gibi birçok fonksiyonunun gerçekleştirilmesinde görev almaktadır (139). Yakın zamanlı yapılan çalışmalar, TNF- α 'nın foliküler gelişim, steroidogenez, ovulasyon, luteolizis ve atrezi mekanizmalarında rol aldığını göstermiştir (140). Aspire edilen foliküllerde bakılan TNF- α 'nın oositte ve kumulus granüloza hücrelerinde lokalize olduğu izlenmiştir (141). CINC/gro (cytokine-induced neutrophil chemoattractant), IL-8 ailesine aittir ve nötrofiller için fonksiyonel bir kemoatraktandır. TNF- α , CINC/gro üretimini artırarak ovulasyon sırasında gerçekleşen inflamatuvar sürece katkıda bulunur (142). Endometriozis, bakteriyel enfeksiyon gibi inflamatuvar reaksiyonlarda periton sıvısında TNF- α konsantrasyonu artar ve artmış TNF- α folikül atrezisi, apoptoz ve otofajiye neden olur (140). Zongzhe ve arkadaşları TNF- α 'nın granüloza ve luteal hücre büyümesini uyardığını ve E2 sekresyonunu arttırdığı, dolayısıyla da corpus luteum oluşumu ile bağlantılı hücresel olayları desteklediğini göstermiştir (143). Artmış TNF- α seviyesi birinci trimesterde hücre adezyon ve motilitesini azaltarak villöz trofoblast invazyonunu bozmaktadır (144).

Periton ve over yüzeyinde gelişen endometriotik lezyonlarda, kronik enflamasyon gelişimiyle salınan çok sayıdaki sitokinlerden biri de TNF- α 'dır. Aynı zamanda menstrüasyon ve embriyo implantasyonu gibi fizyolojik inflamatuvar olaylarda da salgılanmaktadır (145).

1.4.2. İnterlökin-1 β

IL-1 iki farklı proteinden meydana gelir; α ve β . IL-1 α ve IL- β antijenik olarak farklı iken biyolojik aktivitesi ve etkinliği aynı olup aynı reseptörlere farklı affinitelerde bağlanırlar (146). Özellikle makrofaj hücreleri tarafından sentezlenen IL-1 β 'nin granüloza ve teka hücre fonksiyonlarını düzenlediği bilinmektedir (147). Sıçanlar deneylerinde IL-1 β 'nin granüloza ve teka hücrelerinde gonadotropin kaynaklı steroid salgılanmasını ve LH reseptörü ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (148). Ayrıca IL-1 β 'nin ovaryan foliküllerde fosfolipaz A2 aktivitesini ve prostaglandin üretimini artırarak ovulasyonu

desteklediği belirtilmiştir (132). Preimplantasyon döneminde insan embriyosunda IL-1 β mRNA ekspresyonu gösterilmiştir ve bu sitokinin adezyon öncesi endometriumda lokalize değişikliklere yol açtığı rapor edilmiştir. Blastokistin reseptif endometriuma ilk yanıtı IL-1 β sekresyonudur. IL-1 β 'nin endometrial prostaglandin E₂, LIF ve integrin β_3 gibi ikincil sitokinlerin salınımını indüklediği bildirilmiştir. Salınan bu sitokinlerin reseptörlerine bağlanması, blastokist adezyonunda görevli moleküllerin ekspresyon paterninde değişikliğe yol açarak implantasyon sürecinde rol alır (149).

Endometriozisli kadınlarda artan IL-1 β seviyeleri VEGF ve IL-6 artışıyla birlikte endometriyotik lezyonları çevreleyerek neovaskülarizasyonda görev almaktadır (150).

1.4.3. İnterlökin-6

İnterlökin 6, 21-28 kD ağırlığında olup 184 aminoasitten oluşan glikolize bir proteindir. IL-6 ailesi içinde, IL-11, lösemi inhibitör faktör (LIF), onkostatin M (OSM), siliyar inhibitör faktör (CTNF), kardiyotropin-1 (CT-1), nöropoietin (NPN), IL-27 ve IL-31 yer alır. Mononükleer fagositik hücreler IL-6'nın en önemli kaynağıdır. Aynı zamanda fibroblastlar, endotel hücreleri, B ve T lenfositler, hepatositler, keratinositler, glial hücreler ve kemik iliği stroma hücreleri tarafından da sentezlenir (151). IL-6, B hücrelerinden immünglobulin yapımının uyarılması, T hücre aktivasyonu ve IL-2 sentezinin stimülasyonunda görev almaktadır. Ayrıca, büyüme hormonu ve luteinizan hormonun salgılanmasında, glukokortikoid sentezinin uyarılmasında, osteoklast aktivasyonunda ve keratinosit büyümesinin stimülasyonda rol oynadığı bilinmektedir. Bunlara ilaveten yapılan in vitro çalışmalarda IL-6'nın T hücreleri ve timositlerin kostimülatörü olarak görev yaptığı gösterilmiştir. IL-6, diğer sitokinlerle birlikte, kemik iliği hematopoetik kök hücreleri için, erken dönemde büyüme kofaktörü olarak etki etmektedir (152). Araştırmalar, endometriozisli kadınlarda IL-6'nın peritoneal sıvıdaki konsantrasyonun arttığını göstermiştir. Ancak IL-6'nın endometriozis gelişimindeki rolü hala belirsizdir (153). IL-6'nın, reproduktif sistemde ovarian steroid üretimi, folikülogenez ve implantasyon sırasında çeşitli fonksiyonları olduğu düşünülmektedir. Endometriozisli kadınların peritoneal sıvısındaki aktive makrofajlar yüksek seviyelerde IL-6 sentezlerler ve artmış IL-6'nın natural killer (NK) hücre aktivitesini baskıladığı bildirilmiştir. Ayrıca IL-6 salınımı hem ötopik hem de ektopik endometriumda gerçekleşmektedir. IL-6'nın pelvik adezyon

oluşumunda rol oynadığı da düşünülmektedir. Endometriozisli hastalarda endometriotik hücrelerden salınan IL-6'nın, interferon-gamma (IFN- γ) ile birlikte sICAM-1 molekülünün makrofajlardan salınımını uyarırlar (136).

1.4.4. İnterlökin-8

İnterlökin 8, lökositler ve fibroblastlar için kemotaktik aktivitesi olan kemokin ailesinin üyesi bir sitokindir. IL-8'in kaynağı monositler, makrofajlar, fibroblastlar, peritoneal mezotelyal hücreler, keratinositler ve endotel hücreleridir. IL-8'in hedef hücreleri nötrofiller ve T hücreleridir. Nötrofillerin mobilizasyonunu, aktivasyonunu ve degranulasyonunu sağlar. Ayrıca angiogenezde de görev almaktadır. IL-8, endometrial stromal hücrelerin ekstraselüler matriks proteinlerine adezyonunu, matriks metalloproteinaz aktivitesini ve endometrial stromal hücre proliferasyonunu artırır. Bu şekilde ektopik endometriumun implantasyonunu ve büyümesini teşvik eder. Ek olarak, yapılan çalışmalarda IL-8'in endometriumda özellikle glandüler hücrelerde üretildiği ve endometrial stromal hücrelerde büyümeyi otokrin etki ile desteklediği bildirilmiştir. IL-8'in endometriozis patogenezinde rol oynadığı öne sürülse de, endometriotik dokularda büyümeyi arttırdığına dair kesin bir kanıt yoktur. Endometriozisli hastalarda peritoneal sıvıdaki TNF- α seviyeleri IL-8 düzeyi ile pozitif korelasyon göstermektedir. TNF- α 'nın endometrial stromal hücrelerde IL-8 sentezini indüklediği ve bu yolla endometrial stromal hücre proliferasyonuna sebep olduğu ileri sürülmektedir (136).

2. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu prospektif randomize çalışma Aralık 2018 ile Haziran 2019 tarihleri arasında Kocaeli Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı IVF Merkezinde ICSI/ET siklusu sırasında OPU yapılan hastalardan elde edilen folikül sıvıları ile gerçekleştirildi. Çalışmaya Üniversite Etik Kurulu onayı alındıktan sonra başlandı. İşlem öncesi çalışmaya katılan tüm hastalarda yazılı ve sözlü onam alındı.

Çalışmaya 22-44 yaşlara arasında, çeşitli infertilite nedenleriyle (erkek faktör, kadın faktör, açıklanamayan infertilite) ICSI/ET kararı alınmış primer veya sekonder infertil 64 hasta kabul edildi. Çalışma grubu ultrasonografik olarak tanı konulmuş unilateral veya bilateral 2 cm ve üzeri büyüklükte endometrioması olan olgulardan oluşturuldu (Grup A; n=38). Kontrol grubu ise aynı özelliklere sahip ancak ultrasonografik incelemede endometriyoma gözükmeyen, şiddetli dismenore, disparoni gibi yakınmaları olmaması nedeniyle endometriyozis hastalığı olmadığı var sayılan infertil olgulardan oluşturuldu (Grup B; n=26). Çalışmanın subgrup analizi için ise ICSI/ET siklusunda kontrollü ovarian hiperstimülasyon için luteal uzun protokol uygulanan olgular grup A1 (n=19) ve GnRH antagonist protokol uygulanan olgular ise Grup A2 (n=19) olarak gruplandırıldı.

Bu çalışmaya dahil edilen toplam 64 hastanın 43 tanesine ET yapılmıştır. Grup A'daki hastaların 15 tanesi ve Grup B'deki hastaların ise 6 tanesine ET işlemi yapılamamıştır. Grup A'daki bu 15 hastanın 2'sinde oosit dejenere olduğundan, 5'inde ise döllenme olmadığından ET işlemi iptal edildi. Diğer 8 hastada ise embriyo geliştiği halde endometrium yeterli kalınlığa ulaşmadığından total freeze işlemi gerçekleştirildi. Grup B'deki 6 hastanın ise 1'inde oosit çıkmadığından, 2'sinde döllenme olmadığından, 2'sinde endometrial kalınlık yeterli olmadığından ET işlemi yapılamadı. Grup B'deki endometrial kalınlığı yeterli olmayan 2 hastaya total freeze işlemi uygulandı. Grup B'deki 1 hastada ise ovaryan malignite saptandığından sadece oosit dondurma işlemi gerçekleştirildi. Çalışmanın ana amaçları endometriyoması olan ve olmayan olgularda ve ayrıca endometriyoması olan olgularda ise uzun ve antagonist protokol ile KOH yapılan olguların folikül sıvısı sitokin düzeylerinin karşılaştırılması olarak belirlendi. Çalışmanın ikincil amaçları ise bu gruplarda

kimyasal gebelik, klinik gebelik oranlarının ve gebeliğe ulaşan olgularda sitokin seviyelerinin karşılaştırılması olarak belirlendi.

Çalışmada tüm hastalara adetın 2. gününden itibaren kontrollü ovarian stimülasyon için follitropin alfa (rekombinant FSH, Gonal-F; Serono, Türkiye) veya human menopozal gonadotropin (Menopur; Erkim, Türkiye) hastanın yaş, antral folikül sayımı ve vücut kitle indeksi göz önünde bulundurularak 225-375 ünite/gün/SC dozunda başlandı. GnRH antagonist protokol yapılan olgularda adetın 8. gününden itibaren cetrotrelax 0,25 mg/gün/SC (Cetrotide; Serono, Türkiye) başlandı. Luteal uzun protokol yapılan olgulara ise hipofizer supresyon adetın 21. Gününden itibaren 10 ünite/gün/SC (Lucrin 5mg/ml flk; Abbott, Türkiye) başlanması ile sağlandı. İndüksiyon süresince foliküler büyüme ultrason ölçümleri ile düzenli olarak takip edildi. En az iki folikül çapı 18 mm olunca 250 mcg/SC choriogonadotropin alfa (rekombinant hCG, Ovitrelle flk; Serono, Türkiye) uygulandı. 36 saat sonra OPU gerçekleştirildi.

Hastalara intravenöz sedasyon için midazolam (dormicum ampul 5mg/5ml, Roche, Türkiye) 0,02mg/kg, fentanyl (fentanyl citrate ampul, Abbot, Türkiye) 1 mcg/kg ve propofol (propofol flakon 500mg/ml, Abbot, Türkiye) 1mg/kg dozlarında kullanıldı. Oosit toplama işlemi öncesi vajen steril salin solüsyonuyla yıkandı. Steril bir kılıf içindeki transvajinal USG probu (7,5 MHZ Endovaginal Probe, Siemens, Japonya) ve beraberinde tutturulmuş aspirasyon iğnesi (Gynetics, Hamont-Archel, Belçika) overleri görüntülemek ve folikülleri aspire etmek için kullanıldı. Çalışmaya dahil edilen hastalardan alınan foliküler sıvılar, 16 G'lik iğneler ile 15-20 mm büyüklüğündeki ve proba en yakın foliküllere keskin olarak girildikten sonra 125 mmHg vakum basıncında aspire edilerek elde edildi. Her iki overdeki bir folikülden ortalama 2-7 ml sıvı alındı. Çalışma için yapılan folikül aspirasyon işleminden sonra standart yöntemlerle hastanın yumurta toplama işlemi tamamlandı. Yıkama sıvısı ve kan ile kontamine olmuş folikül sıvıları ve oositleri çalışmaya dahil edilmedi. Aspire edilen her folikül sıvısı 60x15 mm'lik polisteren dişlere (BD Falcon 60x15 mm petri dish, Biosciences, ABD) ayrı ayrı kondu. Folikül sıvısı, içerisindeki oosit alındıktan sonra steril pipetle ayrı steril, ajirojen, polipropilen konik tabanlı 15 ml hacimli tüplere (BD Falcon, Biosciences, ABD) kondu. Materyaller -80°C'de analiz gününe kadar saklandı.

Foliküllerden çalışma için elde edilen oositler mekanik ve kimyasal olarak denüedildikten sonra invert mikroskopla (Olympos IX70, Olympos, Viyana, Avusturya) morfolojik olarak değerlendirildi. Nükleer matürasyonlarına göre oositler üç gruba ayrıldı. Grup 1; matür, metafaz II (MII) oositler, Grup 2; immatür, metafaz I (MI) veya germinal vezikül (GV) olan oositler, Grup 3; dejenere olan oositler olarak belirlendi. Oosit toplama işleminden sonra hastaların eşlerinden mastürbasyon ile semen örneği alındı. Semen örneğinde sperm bulunmayan erkeklere TESE uygulandı. Fertilizasyon, IVF/ICSI işleminden 16-20 saat sonra mikroskop altında iki ayrı pronukleusun görülmesi ile tespit edildi. Embriyo transferi IVF/ICSI işleminden yaklaşık 48-72 saat sonra yapıldı. Transfer günü embriyolar kalitelerine göre derecelendirildi. Embriyo kalitesi; hücre sayısı, simetri, blastomerlerin şekli, perivitellin aralıktaki sitoplazmik fragmentasyonların büyüklüğü ve klivaj oranı dahil edilerek morfolojik özelliklere dayanarak modifiye Veeck kıstasları kullanılarak hesaplandı. Grade 1 embriyo (en üst kalite embriyo); blastomerler yuvarlak ve eşit büyüklükte, % 0 fragmentasyon, grade 2 embriyo; blastomerler yuvarlak ve eşit büyüklükte, %0-25 arası fragmentasyon, grade 3 embriyo; blastomerler eşit büyüklükte ve %25-50 arası fragmentasyon, grade 4 embriyo; blastomerler eşit büyüklükte veya değil ancak > %50 fragmentasyon oranı olarak tanımlandı. Kalitelerine göre değerlendirilen embriyolar iki gruba ayrıldı. Grup 1: grade 1 (en üst kalite embriyolar), Grup 2: grade 2, grade 3 ve grade 4 embriyolar olarak tanımlandı.

Embriyo transferi öncesinde vajen steril salin solüsyonuyla yıkandı. Transabdominal ultrasonografi (Sonoline Adara, Siemens, Almanya) eşliğinde transfer kateterinin (Labotect, Almanya) ucu fundusa dokunmadan yaklaşık 0,5-1 cm altında iken midkaviteye embriyo transferi yapıldı. Transfer kateterinde embriyo kalıp kalmadığı kontrol edildikten sonra işleme son verildi. Hasta embriyo transferi sonrası 30 dk istirahat ettikten sonra taburcu edildi. Luteal faz desteği doğal progesteron (Crinone vajinal jel %8 Serona, Türkiye) 180 mg/gün, intravajinal uygulama ile sağlandı. Biyokimyasal gebelik embriyo transferi sonrası 14. günde serum β -hCG ölçümü >25 mIU/ml ise ve klinik gebelik embriyo transferinden üç hafta sonra transvajinal USG'de bir veya daha fazla gebelik kesesi görülmesi ile tanındı.

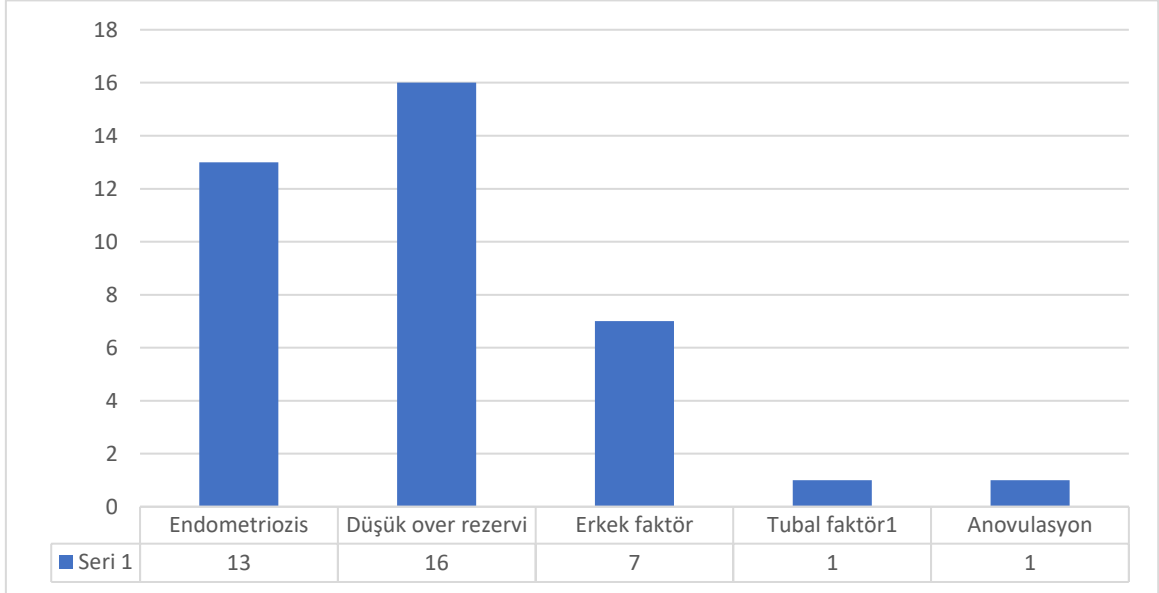
Ölçüm gününe kadar -80°C'de muhafaza edilmiş olan folikül sıvısı örnekleri, oda ısısına (20-25°C) gelene kadar bekletildikten sonra analiz edilmiştir. Folikül sıvı örneklerinde

sitokin düzeyleri ELİSA yöntemiyle Biyokimya laboratuvarında çalışıldı. TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IL-8 konsantrasyonları Elabscience (Wuhan, China) marka ticari ELİSA (kantitatif sandviç enzim bağılı immünoassay) kiti kullanılarak üretici firmanın belirtmiş olduğu şekilde Alisei Quality System Radim Company Analyser-ELISA Reader (Rome, Italy) cihazı kullanılarak ölçülmüştür.

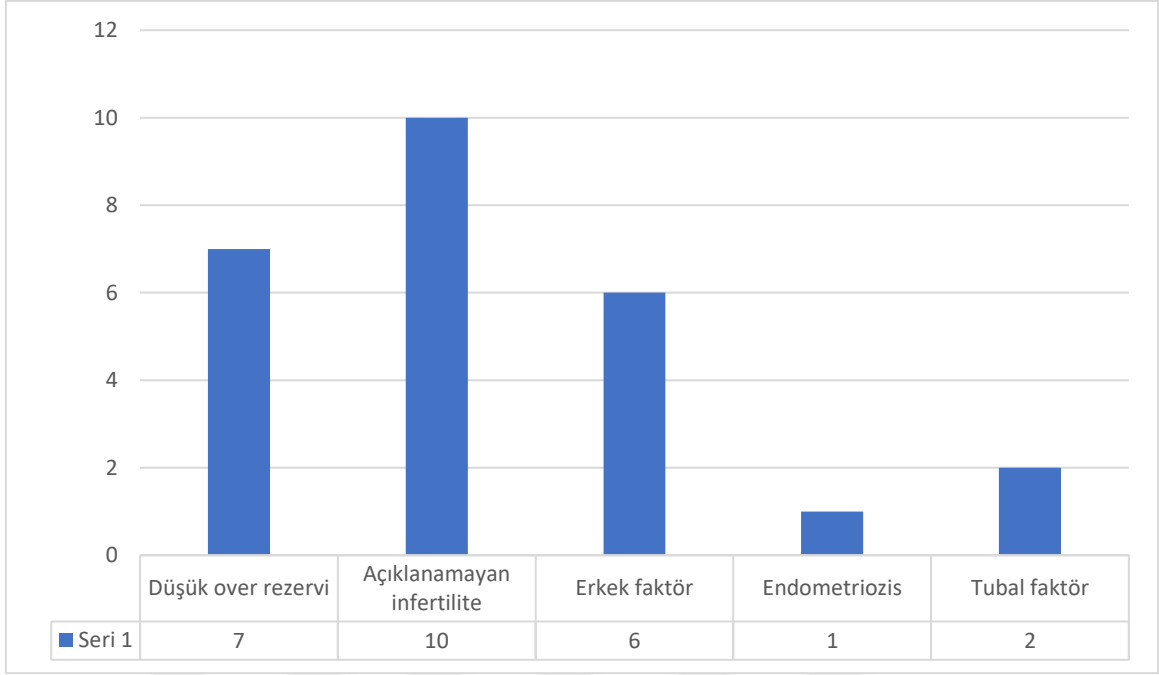
Çalışmadaki istatistiksel değerlendirme, IBM SPSS 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) paket programı kullanılarak yapıldı. Normal dağılıma uygunluk testi Kolmogorov-Smirnov Testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren nümerik değişkenler ortalama \pm standart sapma, normal dağılım göstermeyen nümerik değişkenler medyan (25.-75. persentil), kategorik değişkenler ise frekans (yüzde) olarak verildi. Gruplar arasındaki farklılık normal dağılıma sahip değişkenler için Student t testi ile, normal dağılıma sahip olmayan değişkenler için Mann Whitney U Testi ile belirlendi. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Ki-kare analizi ile değerlendirildi. İstatistiksel olarak anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Çalışma toplam 64 olgu ile gerçekleştirildi. Hastaların infertilite tipleri şekil 2 ve şekil 3’de gösterilmiştir. Hastalar infertilite sebeplerine göre incelendiğinde, Grup A (n=38)’da düşük over rezervi 16 (%42,1), erkek faktör 7 (%18,4), sadece endometriozis 13 (%34,2), tubal faktör 1 (%2,6), anovulasyon 1 (%2,6) olarak saptanmıştır (Şekil 2). Grup B (n=26)’de ise düşük over rezervi 7 (%26,9), açıklanamayan infertilite 10 (%38,4), erkek faktör 6 (%23,1), endometriozis 1 (%3,8), tubal faktör 2 (%7,6) olarak bulunmuştur (Şekil 3).



Şekil 3:Grup A’daki hastaların infertilite nedenlerini gösteren çubuk grafik



Şekil 4: Grup B'deki hastaların infertilite nedenlerini gösteren çubuk grafik

Çalışmaya dahil edilen bütün hastaların demografik ve laboratuvar özellikleri Tablo 4'de gösterilmiştir. Endometriomasi olan (Grup A) ve endometriomasi olmayan (Grup B) hastaların oluşturduğu her iki grupta da karşılaştırılan parametreler arasında önemli bir fark görülmemiştir ($p>0,05$). BMI, Grup A'da $23,06\pm 3,28$ bulunurken, Grup B'de $27,64\pm 7,21$ saptanmış olup endometriomasi olmayan grupta anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p=0,005$). Bazal antral folikül sayısı, endometriomasi olmayan grupta anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p=0,013$).

Tablo 4: Hastaların demografik ve laboratuvar özelliklerinin endometriomasi olan ve endometriomasi olmayan gruplarda karşılaştırılması

PARAMETRE	GRUP A (n=38) Ort±SS	GRUP B (n=26) Ort±SS	P DEĞERİ
Hasta yaşı (yıl)	34,05±5,86	32,47±5,50	0,332
Eş yaşı (yıl)	35,63±5,50	36,74±6,53	0,505
İnfertilite süresi (ay)	32,10±22,54	44,25±26,95	0,247
BMI (kg/m ²)	23,06±3,28	27,64±7,21	0,005
Bazal FSH, (IU/L)	12,11±7,65	8,81±3,08	0,116
Bazal TSH, (mIU/L)	1,91±1,03	1,73±0,82	0,526
Bazal E ₂ , (pg/ml)	42,91±25,36	49,82±46,56	0,603
AMH	1,75±1,74	2,35±2,44	0,322
Bazal antral folikül sayısı, (n)	5,03±3,40	8,58±6,90	0,013

Ort: Ortalama
SS: Standart sapma
Student t testi

Toplam gonadotropin dozunun her iki grupta karşılaştırılması Tablo 5'te gösterilmiştir ve gruplar arasında anlamlı fark gösterilememiştir ($p>0,05$).

Tablo 5: Endometriomasi olan ve endometriomasi olmayan her iki grupta toplam gonadotropin dozunun karşılaştırılması

PARAMETRE	GRUP A (n=38) Ort±SS	GRUP B (n=26) Ort±SS	P DEĞERİ
Toplam gonadotropin dozu (IU)	2391,89±1297,80	3129,13±1318,30	0,054

Ort: Ortalama
SS: Standart sapma
Student t testi

Endometriomasi olan ve endometriomasi olmayan her iki grupta hCG günü ultrasonografik ve laboratuvar bulgularının karşılaştırıldığı hastaların sonuçları Tablo 6’ gösterilmiştir.

Gruplar arasında, hCG günü E₂ seviyesi, hCG günü progesteron seviyesi ve endometrial kalınlık miktarı açısından anlamlı fark izlenmedi (p>0,05).

hCG günü 12 mm ve 17 mm’den büyük folikül sayısı açısından gruplar arasında anlamlı fark izlenmedi (p>0,05).

Tablo 6: Endometriomasi olan ve endometriomasi olmayan her iki grubun hCG günü ultrasonografik ve laboratuvar bulgularına göre karşılaştırılması

PARAMETRE	GRUP A (n=38) Ort±SS	GRUP B (n=26) Ort±SS	P DEĞERİ
hCG günü E ₂ değeri(pg/ml)	719,95±633,78	1290,30±1114,93	0,203
hCG günü progesteron değeri (pg/ml)	0,93±0,50	50,60±204,45	0,152
hCG günü endometrial kalınlık (mm)	10,91±2,37	10,80±3,39	0,892
hCG günü ≥ 12 mm folikül sayısı, (n)	5,34±4,03	7,00±4,44	0,163
hCG günü ≥ 17 mm folikül sayısı, (n)	2,47±1,84	2,36±1,01	0,818

Ort: Ortalama
SS: Standart sapma
Student t testi

Oosit toplanmasından sonraki embriyolojik sonuçların her iki grupta karşılaştırılması Tablo 7’de gösterilmiştir. Grup A ve Grup B’nin her ikisinde de toplam oosit sayısı, işlem yapılan

oosit sayısı, fertilizasyon 2PN (iki pronükleus içeren zigot) sayısı ve transfer edilen embriyo sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. M2 oosit sayısı Grup A’da ortalama $5,39 \pm 5,45$ iken; Grup B’de $8,23 \pm 5,46$ olarak bulunmuş olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0,05$).

Tablo 7: Endometriomasi olan ve endometriomasi olmayan her iki grubun hCG günü ultrasonografik ve laboratuvar bulgularına göre karşılaştırılması

PARAMETRE	GRUP A (n=38) Ort±SS	GRUP B (n=26) Ort±SS	P DEĞERİ
Toplam oosit sayısı (n)	7,53±7,13	10,96±7,11	0,063
M2 oosit sayısı (n)	5,39±5,45	8,23±5,46	0,045
İşlem yapılan oosit sayısı (n)	3,33±3,15	5,12±4,16	0,063
Fertilizasyon 2PN (n)	3,38±3,20	5,13±4,16	0,070
Transfer edilen embriyo sayısı (n)	0,86±0,639	0,96±0,55	0,564

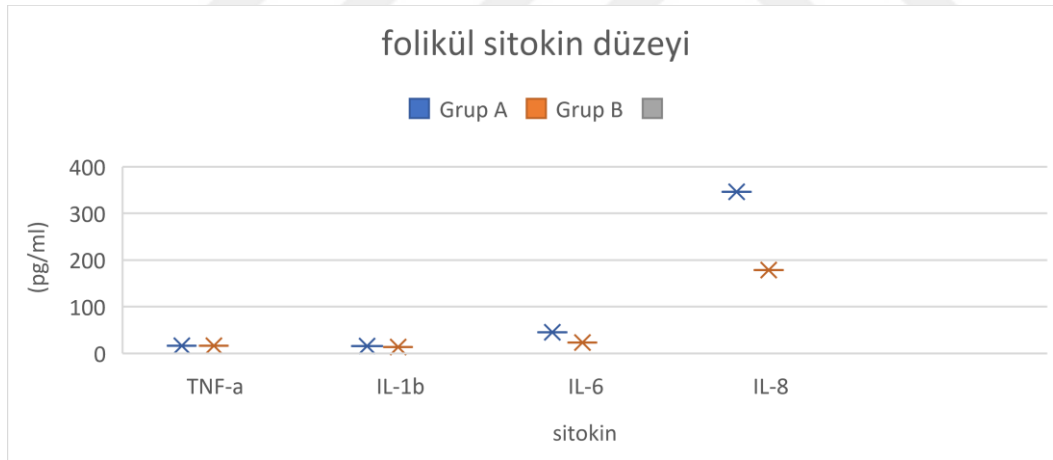
Ort: Ortalama
SS: Standart sapma
Student t testi

OPU sırasında alınan folikül sıvısındaki sitokin konsantrasyonlarının her iki grupta karşılaştırılması Tablo 8’de gösterilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ($p > 0,05$).

Tablo 8: Endometriomasi olan ve olmayan her iki grupta OPU günü toplanan folikül sıvısında sitokin düzeyleri karşılaştırılması

FOLİKÜL SİTOKİN DÜZEYİ (pg/ml)	GRUP A (n=38) Ort±SS	GRUP B (n=26) Ort±SS	P DEĞERİ
TNF- α (pg/ml)	16,39±6,42	16,51±6,14	0,944
IL-1 β (pg/ml)	15,29±10,80	13,44±7,57	0,462
IL-6 (pg/ml)	44,88±59,77	23,36±19,32	0,085
IL-8 (pg/ml)	346,30±537,95	178,15±49,98	0,118

Ort: Ortalama
SS: Standart sapma
Student t testi



Şekil 5: Grup A ve Grup B'deki hastaların folikül sitokin düzeylerini gösteren grafik

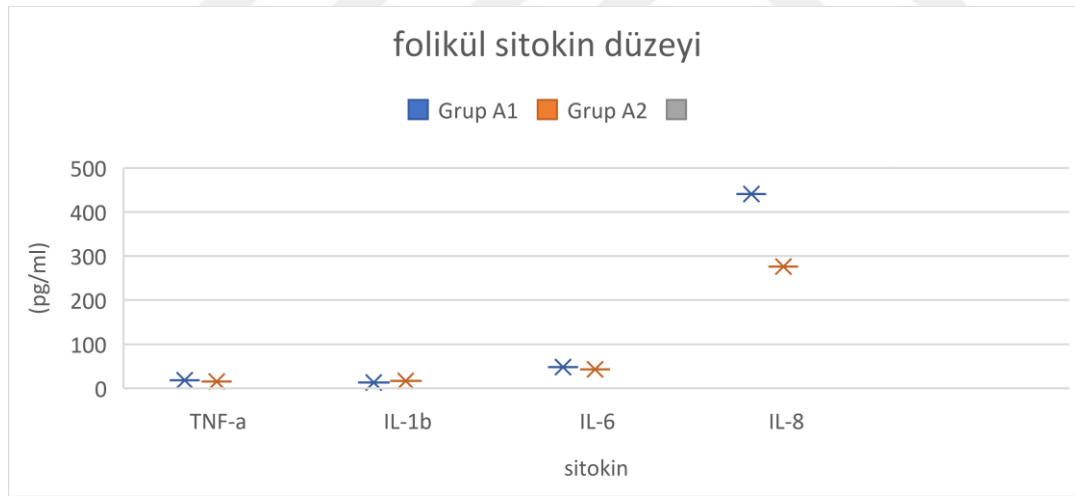
Endometriomasi olan grup (Grup A, n=38), randomize olarak uzun GnRH agonist protokolü uygulanan (Grup A1, n=19) ve kısa GnRH antagonist protokol uygulanan (Grup A2, n=19) grup olmak üzere iki alt sınıfa ayrılmıştır. OPU günü toplanan folikül sıvısında

her iki grubun sitokin konsantrasyonlarının karşılaştırılması Tablo 9’da gösterilmiştir. Gruplar arasında sitokin konsantrasyonları açısından anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 9: Endometriozisi olan grubun uzun protokol uygulanan subgrubu (Grup A1) ve kısa protokol uygulanan subgrubu (Grup A2) arasında OPU günü toplanan folikül sıvısında sitokin düzeyleri karşılaştırılması

FOLİKÜL SİTOKİN DÜZEYİ (pg/ml)	GRUP A1 (n=19) Ort±SS	GRUP A2 (n=19) Ort±SS	P DEĞERİ
TNF- α (pg/ml)	17,97±7,07	15,23±5,82	0,240
IL-1 β (pg/ml)	12,80±7,64	16,92±12,36	0,235
IL-6 (pg/ml)	47,72±73,81	42,70±48,76	0,621
IL-8 (pg/ml)	441,0±790,39	275,89±225,73	0,461

Ort: Ortalama
SS: Standart sapma
Mann Whitney U testi



Şekil 6: Grup A1 ve Grup A2’deki hastaların folikül sitokin düzeylerini gösteren grafik

Bu çalışmaya dahil edilen toplam 64 hastanın 43 tanesine ET yapılmıştır. Grup A’daki hastaların 15 tanesi ve Grup B’deki hastaların ise 6 tanesine ET işlemi yapılamamıştır. 43 hastanın toplam 19 (%44,2) tanesinde kimyasal gebelik gerçekleşmiştir ve bu 19 hastanın 15’inde (%34,9) klinik gebeliğe doğru progresyon meydana gelmiştir. ET işlemi

sonucundaki kimyasal ve klinik gebelik oranları endometriomasi olan ve endometriomasi olmayan grupta karşılaştırılmış olup sonuçlar Tablo 10’da gösterilmiştir. Gebelik oranlarının gruplar arasında anlamlı farklılık göstermediği saptanmıştır.

Tablo 10: Endometriomasi olan ve olmayan grupta gebelik oranlarının karşılaştırılması

	GRUP A (n=23)	GRUP B (n=20)	P DEĞERİ
Kimyasal gebelik, (n%)	9 (%39,1)	10 (%50)	0,474
Klinik gebelik, (n%)	7 (%30,4)	8 (%40)	0,512

Ki-kare testi

Her iki grupta çeşitli nedenlerden dolayı ET yapılmayan hastalar çıkarılmıştır.

P değeri <0,05 istatistiksel olarak anlamlı

Embriyo transferi gerçekleştirilen 43 hastanın 10 tanesinde uzun protokol ile 33 tanesinde ise kısa protokol ile ovaryan stimülasyon gerçekleştirilmiştir. Uzun ve kısa stimülasyon protokolleri uygulanan hastaların gebelik sonuçlarının karşılaştırılması Tablo 11’de gösterilmiştir. Gebelik oranları arasında anlamlı farklılık bulunmadığı saptanmıştır.

Tablo 11: ET yapılan hastalar arasında uzun ve kısa protokol uygulanmış olan hastaların gebelik oranlarının karşılaştırılması

	Uzun protokol (n=10)	Kısa protokol (n=33)	P DEĞERİ
Kimyasal gebelik, (%n)	4 (%40)	15 (%45,5)	0,761
Klinik gebelik, (n%)	4 (%40)	11 (%33,3)	0,698

Ki-kare testi

Her iki grupta çeşitli nedenlerden dolayı ET yapılmayan hastalar çıkarılmıştır.

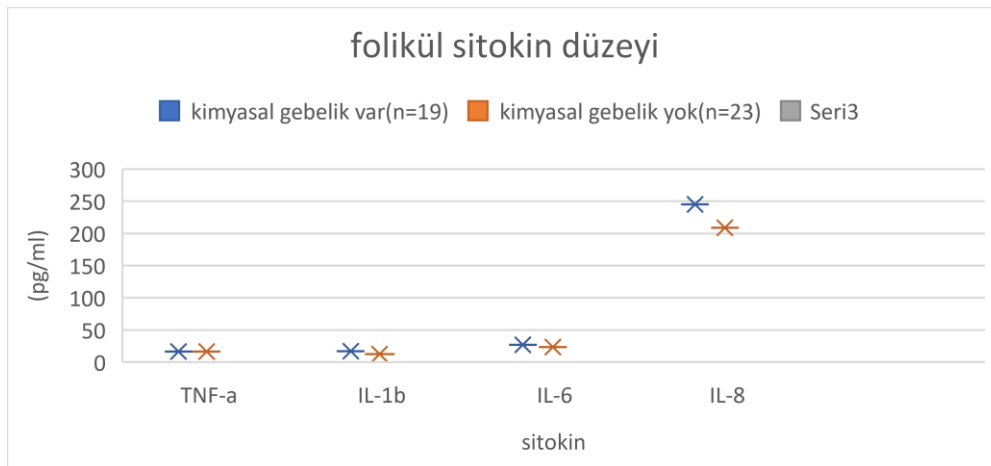
P değeri <0,05 istatistiksel olarak anlamlı

Embriyo transferi yapılan hastalar içerisinde kimyasal ve klinik gebelik oluşan ve oluşmayanların folikül sıvısı sitokin konsantrasyonları karşılaştırılmış olup sonuçlar Tablo 12 ve Tablo 13’te gösterilmiştir. Gebelik oluşan ve oluşmayan hasta gruplarında folikül sıvısı sitokin düzeyleri açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 12: ET yapılan hastalarda kimyasal gebelik sonuçlarıyla folikül sıvısı sitokin değerlerinin karşılaştırılması

FOLİKÜL SİTOKİN DÜZEYİ (pg/ml)	KİMYASAL GEBELİK VAR (n=19) Ort±SS	KİMYASAL GEBELİK YOK (n=23) Ort±SS	P DEĞERİ
TNF- α (pg/ml)	16,71±7,47	16,61±5,16	0,963
IL-1 β (pg/ml)	17,22±13,27	12,58±6,89	0,153
IL-6 (pg/ml)	27,30±24,73	23,52±25,07	0,627
IL-8 (pg/ml)	245,26±192,12	208,86±121,90	0,460

Ort: Ortalama
SS: Standart sapma
Student t testi

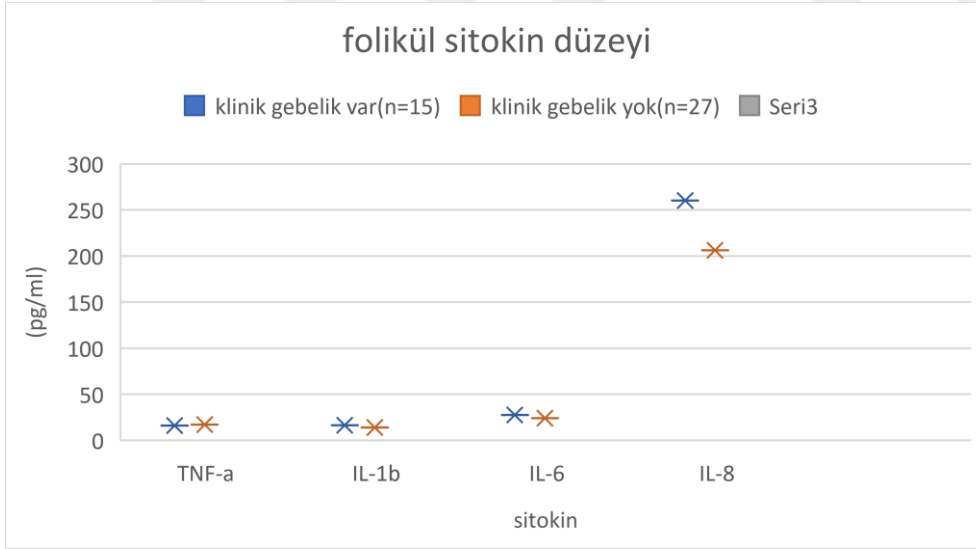


Şekil 7: Kimyasal gebelik gelişen ve gelişmeyen hastalarda folikül sitokin düzeylerini gösteren grafik

Tablo 13: ET yapılan hastalarda klinik gebelik sonuçlarıyla folikül sıvısı sitokin değerlerinin karşılaştırılması

FOLİKÜL SİTOKİN DÜZEYİ (pg/ml)	KLİNİK GEBELİK VAR (n=15) Ort±SS	KLİNİK GEBELİK YOK (n=27) Ort±SS	P DEĞERİ
TNF- α (pg/ml)	16,07±7,27	16,98±5,70	0,655
IL-1 β (pg/ml)	16,33±9,39	13,76±10,99	0,451
IL-6 (pg/ml)	27,56±25,34	23,93±24,71	0,654
IL-8 (pg/ml)	260,13±211,35	206,00±116,26	0,289

Ort: Ortalama
SS: Standart sapma
Student t testi



Şekil 8: Klinik gebelik gelişen ve gelişmeyen hastalarda folikül sitokin düzeylerini gösteren grafi

4. TARTIŞMA

Endometriozis reproduktif çağda %5-15 görülürken, infertilite nedeniyle araştırılan kadınlarda %40 oranında görülen çok yaygın bir hastalıktır (59). Endometriozis enflamatuar bir süreçtir ve bu sürece çeşitli immünolojik bozuklukların yol açtığı düşünülmektedir. Bu immünolojik değişikliklerin, folikülogenez, oogeneze ve embriyo implantasyonu gibi üreme sürecinin erken evrelerinin düzenlemesine etkili ettiği düşünülmektedir. Endometriozisli kadınların peritoneal sıvıları artmış sayıda immün hücreler bulundurulur. Bu kadınlarda periton sıvısında özellikle artmış aktive makrofaj konsantrasyonları ve buna bağlı olarak IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , IL-2 gibi sitokinlerin konsantrasyonlarının yüksek olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (135), (136). Artmış sitokin miktarının ise oosit, sperm, embriyo ve fallop tüpü üzerine olumsuz etkileri olduğu belirtilmiştir (82).

Choi ve arkadaşları 2015 yılında yaptıkları bir çalışmada endometriozisi olan ve endometriozisi olmayan infertil hastalarda kronik inflamasyon belirteçlerinin foliküler sıvıdaki değişimlerini ve bu değişimlerin IVF sonuçları ile ilişkisini araştırmışlardır. Toplam 65 hastayı dahil ettikleri çalışmada 31 endometriozisli hastanın ve 34 endometriozisi olmayan hastanın ile foliküler sıvıdaki IL-1 β , TNF- α , IL-6 ve IL-8 seviyeleri karşılaştırılmıştır. Kontrol grubu ile kıyaslandığında TNF- α ($0,93\pm 1,01$ vs $0,43\pm 0,33$ pg/ml, $p=0,036$), IL-6 ($16,97\pm 29,62$ vs $4,11\pm 2,89$ pg/ml, $p=0,022$) ve IL-8 ($216,26\pm 95,73$ vs $171,50\pm 72,06$ pg/ml, $p=0,037$) düzeyleri endometriozisli grupta daha yüksek bulunmuştur. IL-1 β seviyeleri ise endometriozisli hastaların folikül sıvılarında daha yüksek bulunmasına rağmen her iki grupta arasında anlamlı fark bulunamamıştır. TNF- α seviyesi embriyo kalitesi ve embriyo sayısı ile negatif korelasyon göstermiştir (154). Biz, çalışmamızda ise 38 endometriozisi olan ve 26 endometriozisi olmayan hastanın folikül sıvıdaki sitokin konsantrasyonlarını karşılaştırdık. IL-1 β ($15,29\pm 10,80$ vs $13,44\pm 7,57$ pg/ml), IL-6 ($44,88\pm 59,77$ vs $23,36\pm 19,32$ pg/ml) ve IL8 ($346,30\pm 535,95$ vs $178,15\pm 49,98$ pg/ml) seviyeleri endometriozisli hastalarda daha yüksek bulunmuştur ancak gruplar arasında anlamlı farklılık yoktur ($p>0,05$). TNF- α ($16,39\pm 6,42$ vs $16,51\pm 6,14$ pg/ml) seviyesi ise kontrol grubunda endometriozisli hastalara göre daha yüksek bulunmuştur (154). Bu

sonuçlara çalışmamızdaki kısıtlılıklar yol açmış olabilir. Çünkü biz kontrol grubunu hastalarını seçerken USG’de endometrioma görüntüsü olmamasını ve hastada endometriozis semptomları bulunmamasını uygunluk kriteri olarak kabul ettik. Ancak minimal ve hafif endometriozisin hiçbir bulgu ve semptom olmadan hastalarda var olabileğini biliyoruz. Dolayısıyla kontrol grubumuzdaki hastalarda endometriozisin kesin olarak olup olmadığını bilemiyoruz. Ayrıca bulgularımız sadece dominant folikülün mikro-çevresiyle ilgilidir ve dominant folikülün sitokin sonuçları tüm overdeki folikülleri yansıtmayabilir.

Belirli sitokinlerin folikül sıvısındaki konsantrasyonlarındaki değişiklikler oosit ve embriyo kalitesini etkileyerek düşük implantasyon yeteneği ile sonuçlanabilir. Bu da endometriozisli hastalarda IVF uygulamasının başarısının düşmesine sebep olabilir. Singh ve arkadaşlarının 2016’da yaptığı bir çalışmada ise ileri derecede endometriozisi olan 200 hasta ve normal ovulasyonu olan 140 kontrol grubunun OPU sırasında folikül sıvıları toplanarak, bu folikül sıvısındaki IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , IL-2, IL-12, IFN- γ , IL-4, IL-6 ve IL-10 sitokinlerinin konsantrasyonları karşılaştırılmıştır. Kontrol grubuna kıyasla endometriozisli hastalarda sitokin seviyeleri önemli oranda yüksek olarak gözlenmiştir. Özellikle IL-8 ve IL-12’nin endometriozise yol açan en önemli faktörler olduğunu ve olumsuz oosit matüritesi ve embriyo kalitesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (155). Benzer şekilde Wunder ve arkadaşlarının endometriozisi olan 47 hastanın endometriozisi olmayan 279 kontrol grubuyla karşılaştırıldığı çalışmada folikül sıvısında TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-15, LIF (leukemia inhibitory factor), ENA-78 (epithelial neutrophil activating peptide 78) düzeyleri ölçülmüştür. ENA-78, TNF- α ve IL-6 konsantrasyonlarının endometriozisli hastaların folikül sıvısında daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bunun da endometriozisli hastalarda folikül mikroçevresini kötüleştirerek oosit kalitesini ve kadın fekundabilitesini etkileyebileceğini iddia etmişlerdir (156). Bizim çalışmamızda ise endometrioması olan 38 hastanın 23’üne ve endometrioması olmayan 26 hastanın ise 20’sine ET uygulanmıştır. ET işlemi gerçekleştirilen her iki grupta kimyasal ve klinik gebelik açısından farklılık izledik. Kimyasal gebelik oluşan ve oluşmayan hastalarda sitokin seviyelerini karşılaştırdığımız zaman ise gebelik gelişen hastalardaki TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IL-8 seviyelerinin daha yüksek olduğunu izledik. Aynı şekilde klinik gebelik gelişen hastalarda da IL-1 β , IL-6 ve IL-8 seviyeleri daha yüksek bulunmuştur. Sadece TNF- α seviyesi (16,07 \pm 7,27 vs 16,98 \pm 5,70 pg/ml, p>0,05) klinik gebelik gelişmeyen hastalarda gebelik gelişenlere göre yüksek

bulunmuş ancak aralarında anlamlı fark saptanmamıştır. Bulduğumuz bu sonuçlar Wunder ve arkadaşlarının öne sürdüğü fikir ile çelişmektedir. Çalışmamızdaki hasta sayısının kısıtlı olmasının sonuçları etkilemiş düşünmekte olup daha fazla hasta sayısı ile yeni çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulduğunu düşünmekteyiz. Çünkü IVF başarısının öngörülmesi için bir takım prognostik belirteçlerin tanımlanması klinisyenlerin hasta yönetimine katkı sağlayacaktır.

Falconer ve arkadaşları ise IVF yapılan hastalarda endometriozisi olan (n=34) ve endometriozisi olmayan (n=38) hastanın foliküler sıvısında çeşitli sitokin konsantrasyonlarını karşılaştırmışlar. Endometriozisli hastalarda TNF- α , GM-CSF ve IL-15 seviyeleri önemli ölçüde yüksek bulunmuştur. Buna karşın IL-10 konsantrasyonu endometriozisli hastalarda düşük saptanırken; IL-6, IL-8, VEGF ve IFN- γ açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Fertilizasyon oranı, kimyasal gebelik ve klinik gebelik oranları endometriozisli hasta grubunda daha düşük saptanmıştır (157). Falconer ve arkadaşlarının endometriozisli hastalar ve kontrol grubunda IL-6 ve IL-8 seviyeleri açısından fark bulamaması bizim sonuçlarımızla örtüşmektedir. Bununla birlikte Vodolazkaia ve arkadaşları 232 endometriozisi olan ve 121 endometriozisi olmayan hastada plazma sıvısında toplam 28 inflamatuvar ve non-inflamatuvar belirteci çalışarak her iki grubu karşılaştırmışlardır. İlginç bir şekilde TNF- α , IL-6 ve IL-1 β gibi proinflamatuvar belirteçlerin kontrol grubunda daha yüksek çıktığını göstermişlerdir ve bu durumun kontrol grubundaki kadınlarda non-endometriotik pelvik patolojiye (adezyonlar, hidrosalpenks gibi) bağlı olabileceği ihtimaline dikkat çekmişlerdir. Non-endometriotik pelvik patolojiler de benzer inflamatuvar yolları kullanarak inflamatuvar sitokinlerin plazma konsantrasyonunu artırır ve pelvik ağrı ve infertilite ile sonuçlanan bir tablo ortaya çıkarabilir. Ayrıca serum sıvısında koagülasyon süreci etkindir ve bu inflamatuvar sitokin miktarını arttırdığından plazma sıvısına göre inflamatuvar sitokinler serum sıvısında daha yüksek izlenmiştir. Örnek alınan sıvının yeri, farklı pıhtılaşma zamanları ve farklı santrifüj koşulları sonuçları yanıltıcı olarak etkileyebilmektedir. Bu durumda endometriozis hastalarında artması beklenen sitokinlerin non-invaziv tanı için uygun aday olmayabileceğini belirtmişlerdir (158). Bizim çalışmamızda da endometrioması olan ve olmayan her iki grupta foliküler sıvıda ölçülen sitokin seviyesinde belirgin farklılık görülmemesi kontrol grubundaki önceden saptanmamış, non-endometriotik pelvik patolojilere bağlı olabilir. Ayrıca numuneler tek

doktor tarafından alınmasına rağmen folikül sıvısına bulaşabilecek 1-2 ml kan sıvısı sonuçlarda sapmalar olmasına yol açmış olabilir.

Foliküler fonksiyonların yüksek doz gonadotropin stimülasyonundan çok fazla etkilendiği bilinmektedir (159). Gengxiang ve arkadaşları ise bu etkiyi dışlamak için endometriozisli hastalar ve kontrol grubunu doğal siklus IVF yaparak karşılaştırmışlardır. Çalışmalarında laparoskopik ve histolojik olarak endometriozis tanısı konulan 17 hasta ile endometriozisi olmayan 17 hastanın serum sıvılarında ve doğal siklus IVF sırasında toplanan folikül sıvılarındaki sitokin konsantrasyonlarını (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-15, IL-18, TNF- α) karşılaştırmışlardır. Endometriozisli hastalarda foliküler sıvıda IL-1 β ve IL-6 seviyelerinin önemli oranda yüksek olduğu saptanırken, IL-8 ve IL-18 seviyelerinde önemli fark izlenmemiştir. IL-18 ve TNF- α ise foliküler sıvıda ölçülmüştür. Bununla birlikte Pellicer ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada ise endometriozisi olan ve olmayan hastalarda gonadotropin ile yapılan IVF sikluslarında folikül sıvısında sitokin miktarını ölçmüş ve IL-6 seviyelerini artmış saptarken, IL-1 β seviyelerinde anlamlı farklılık saptamamıştır (160).

Ayrıca Kollmann ve arkadaşları 2017’de yaptıkları bir çalışmada serum ve folikül sıvısında immün hücre profilinin ve sitokin konsantrasyonlarının gonadotropin ile stimüle edilen IVF siklusları ile doğal siklus IVF yapılan hastalarda farklılık gösterip göstermediğini araştırmışlardır. 105 hastanın araştırıldığı çalışmada 36 hastaya doğal siklus IVF uygulanırken, 69 hastaya HMG ve GnRH antagonistleri ovaryan stimülasyon uygulanmıştır. Sitokin seviyeleri serum ve foliküler sıvıda gonadotropin stimülasyonu ile IVF yapılan hastalarda doğal siklus IVF yapılanlara göre daha düşük saptanmıştır. Özellikle IL-8 seviyeleri gonadotropin ile stimüle edilen IVF sikluslarının hastalarının foliküler sıvısında doğal siklus yapılanlara göre daha düşük saptanmıştır. Buna karşın IL-6, IL-8, TNF- α , IL-10 seviyelerinde anlamlı farklılık izlenmemiştir. IL-8’in folikül büyümesi üzerine etki ettiği ve lüteinize granüloza hücrelerden progesteron sentezini regüle ettiği bilinmektedir. LH/hCG salınımı ovarian stromal hücrelerden IL-8 üretimini sağlamaktadır. Dolayısıyla GnRH uygulanması ile LH supresyonun yapılması IL-8 seviyesini azaltmaktadır. Kollmann ve arkadaşları tüm bu immünolojik değişikliklerin oosit kalitesini ve implantasyon oranını etkileyebileceğini ve gonadotropin ile stimüle edilen sikluslarda doğal siklusa göre daha başarısız gebelik sonuçları elde edilmesinin sebebinin bu değişikliklere bağlı olabileceğini

savunmuşlardır (161). Bizim çalışmamızda ise her iki grupta da gonadotropin stimülasyonu ile IVF yapılmıştır. Endometrioması olan hastalara verilen toplam gonadotropin dozu kontrol grubuna oranla daha azdır (2391,89±1297,80 vs 3129,13±1318,30 IU, p>0,05). Bizim sonuçlarımıza göre de kontrol grubunda daha yüksek gonadotropin dozu kullanılmış ve TNF- α hariç kontrol grubunda sitokin sayısı daha düşük bulunmuştur. Kullanılan toplam gonadotropin dozu ve tipi de folikül mikro-çevresine etki ederek sitokinlerinin miktarını değiştirebilir. Literatürde her ne kadar bu konuda çelişkili söylemler yer alsada endometriozisli hasta grubunda folikül sıvısında sitokinlerin arttığını gösteren önemli çalışmalar yer almaktadır. Bizim sonuçlarımızın bu genel yaklaşımla örtüşmemesinin sebeplerinden biri de kullanılan gonadotropinin dozu ve çeşidinin folikül mikroçevresini etkilemesi olabilir.

Ayrıca literatürde birçok çalışmada doğal ve gonadotropin ile stimüle edilen IVF hastalarında serum ve folikül sıvısı sitokin konsantrasyonları araştırılmasına rağmen az sayıda çalışmada, IVF için uygulanan farklı stimülasyon protokollerinde folikül sıvısı veya serum sitokin konsantrasyonları incelenmiştir. Ancak literatürde endometriozisli hastaların folikül sıvısındaki sitokin düzeylerinin farklı stimülasyon protokolüyle değişip değişmediğini gösteren bir çalışma yoktur. Bu nedenle bulgularımız literatürde bu konuyla ilgili ilk sonuçlar olacaktır. Asimakopoulos ve arkadaşları normal reproduktif fonksiyonları olan ve ovarian stimülasyona yeterli yanıt veren kadınları dahil ettikleri çalışmalarında hastaları agonist ve antagonist protokol uygulanmasına göre iki gruba ayırmışlardır. Hastaların folikül sıvısında IL-1 β , TNF- α , IL-6 gibi sitokin konsantrasyonlarını karşılaştırmışlardır ve her iki grupta benzer miktarlar ölçmüşlerdir (162). Benzer şekilde Ficicioğlu ve arkadaşları da 85 hastayı değerlendirmiş ve 34 agonist protokol ile 51'i ise antagonist protokol kullanılarak IVF uygulanmıştır. Folikül sıvısında IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8 ve IL-12 seviyelerine bakılmış ve her iki grupta önemli farklılık bulunmamıştır (163). Bizim çalışmamızda ise endometrioması olan 38 hasta randomize edilmiş ve 19'una agonist protokol uygulanırken, diğer 19'una da antagonist protokol uygulanmıştır. Her iki grupta folikül sıvısında IL-1 β , TNF- α , IL-6 ve IL-8 düzeyleri karşılaştırılmıştır. TNF- α , IL-6 ve IL-8 düzeyleri agonist-uzun protokol uygulanan grupta daha yüksek bulunurken, IL-1 β antagonist-kısa protokol uygulanan grupta daha yüksek bulunmuştur. Ancak her iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır.

IVF sikluslarında kontrollü ovaryan hiperstimülasyon sırasında gonadotropinler multiple folikül gelişimi uyarmak için, GnRH agonist veya GnRH antagonist kullanımı erken LH artışını engellemek için kullanılır. İlk uygulandığında mevcut hipofizer gonadotropinlerin hızlıca salınmasına bağlı ortaya çıkan flare up etkisi aslında istenmeyen bir yan etkisi olsa da erken spontan ovulasyonu baskılamak amacıyla yakın zamana kadar alternatifsiz olarak kullanılagelmiştir. Flare up etkisinin olmadığı, ovaryan hiperstimülasyon sendromunun daha az izlendiği, toplam gonadotropin ihtiyacının daha düşük olduğu iddia edilen GnRH antagonistlerinin ortaya çıkması ile birlikte, klinisyenler arasında hangisinin daha uygun olduğu yönündeki tartışmalar halen devam etmektedir. Gebelik oranlarının antagonist protokol uygulananlarda daha düşük izlendiği birçok çalışmada saptanmıştır. Ancak kötü over yanıtı hastalarda ve PCOS'lu hastalarda antagonist protokolün daha faydalı olacağına dair yayınlar da mevcuttur. Ek olarak Lai ve arkadaşlarının 81 hasta ile yaptıkları ve her hastaya en az bir agonist ve antagonist protokol uyguladıkları çalışmada antagonist protokol uygulanan hastalarda agonist protokol uygulanan hastalara göre implantasyon oranının ve klinik gebelik oranının (%30,26 ve %10,74, sırasıyla, $p<0,05$) daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Antagonist protokolün tekrarlayan IVF başarısızlığı olan hastalarda agonist protokole göre daha avantajlı olduğunu iddia etmişlerdir (164). Temizkan ve arkadaşları ise normal over yanıtı hastaları değerlendirdikleri çalışmada (kötü over yanıtı, endometriozisi ve PCOS'u olan hastalar çalışma dışı) GnRH agonist veya GnRH antagonist protokol uygulanan hastalarda gebelik oranlarının (%60,3 ve %60,9, sırasıyla, $p>0,05$) istatistiksel olarak farklı olmadığını bulmuşlardır (165). Bizim çalışmamızda ise 43 hastanın 10 tanesine GnRH agonist ve 33 tanesine GnRH antagonist protokol uygulanmıştır ve kimyasal gebelik oranı (%40 ve %45,5, sırasıyla, $p>0,05$) ve klinik gebelik oranı (%40 ve %33,3, sırasıyla, $p>0,05$) açısından anlamlı fark saptanmamıştır.

Ovaryan dokular ve endometrium sayıları ve oranları ovulatuvar siklus boyunca değişen immün hücreler içermektedir. İmmün sistem hücreleri ovaryan gelişim, foliküler matürasyon, ovulasyon ve korpus luteum gelişimi gibi birçok ovaryan fonksiyonun düzenlenmesinde görevlidir. İmmün sistem hücreleri tarafından üretilen sitokinler ovaryan fonksiyonların düzenlenmesinin yanında, endometriumun embriyo implantasyonuna hazırlanmasında ve gebeliğin devamında önemli rol oynamaktadır (166), (167), (9). Tüm bu

bilgilerden yola çıkarak çalışmamızın ikincil amaçlarını kimyasal gebelik ve klinik gebeliğe ulaşan olgularda sitokin seviyelerinin karşılaştırılması olarak belirledik.

Sarapik ve arkadaşları IVF yapılan 153 hastada foliküler sıvıda 16 marker çalışmışlar ve buldukları sonuçlardan biri de artmış IL-8 seviyelerinin başarılı gebelik oranlarıyla korele olduğudur (168). Altun ve arkadaşları ise foliküler sıvıda düşük IL-6 seviyelerinin yüksek klinik gebelik oranlarıyla ilişkili olduğunu göstermişlerdir (169). Benzer şekilde Kumar ve arkadaşları da düşük IL-6 seviyelerinin pozitif gebelik sonuçlarıyla orantılı olduğunu ve ART uygulanan hastalarda gebelik sonuçlarını öngörmede başarılı bir marker olarak kullanılabileceğini söylemişlerdir (170). Buna karşın Asimakopoulos ve arkadaşlarının 43 hastayı dahil ederek yaptıkları çalışmada TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyelerinin fertilizasyon oranları ve embriyo kalitesi ile önemli bir korelasyon göstermediğini saptamıştır (162). Zollner ve arkadaşları ise artmış intrafoliküler IL-1 β seviyesi olan kadınlarda fertilizasyon oranlarının arttığını göstermiştir (171) Asimakopoulos ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptıkları çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiş ve intrafoliküler sıvıda yüksek IL-1 β seviyesi olan kadınlarda artmış gebelik oranları saptamışlardır (172). Biz çalışmamızda ET yapılan 43 hastayı kimyasal ve klinik gebelik açısından değerlendirdik. Bunların 19'unda kimyasal gebelik gelişirken, 15'inde klinik gebelik meydana geldi. Gebelik oluşan ve oluşmayan hastalardaki sitokin seviyeleri karşılaştırıldı ve kimyasal gebelik gelişen hastalarda TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IL-8 seviyeleri daha yüksek çıkmasına rağmen her iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Aynı şekilde klinik gebelik gelişen hastalarda ise IL-1 β , IL-6 ve IL-8 düzeyleri daha yüksek saptanmış olup gruplar arasında anlamlı fark izlenmemiştir. TNF- α seviyesi ise klinik gelişmeyen hastalarda gebelik gelişen hastalara oranla daha yüksek bulunsa da gruplar arasında anlamlı fark izlenmemiştir (16,98 \pm 5,70 ve 16,07 \pm 7,27 pg/ml, sırasıyla, p>0,05).

Folikül sıvısındaki sitokin düzeyleri endometriozisi olan ve olmayan hastalarda IVF başarısı ve gebelik oranlarının öngörülmesinde ve tedavi yönetiminin belirlenmesinde (GnRH agonist veya GnRH antagonist protokol) önemli belirteçler olabileceğinden, bu moleküler mekanizmaların anlaşılabilmesi için daha fazla sayıda hastanın yer aldığı ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma endometriozisi olan ve olmayan olgularda ve ayrıca endometriozisi olan olgularda ise uzun ve antagonist protokol ile KOH yapılan olguların folikül sıvısında sitokinlerden TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IL-8 düzeylerinin karşılaştırılması olarak belirlendi. Çalışmanın ikincil amaçları ise bu gruplarda kimyasal gebelik, klinik gebelik oranlarının ve klinik gebeliğe ulaşan olgularda sitokin seviyelerinin karşılaştırılması olarak belirlendi.

Sonuç olarak endometriozisi olan ve olmayan gruplarda folikül sıvı örneklerinde sitokin profili genellikle benzerdir. Ek olarak endometriozisi olan olgularda agonist veya antagonist protokol ile KOH uygulanan hastaların folikül sıvısı örneklerinde de sitokin profili benzer bulunmuştur. Endometriozisi olan grup ile kontrol grubu kıyaslandığında kimyasal ve klinik gebelik açısından farklılık saptanmadı.

Çalışmamızın diğer bir amacı olan kimyasal ve klinik gebeliğe ulaşan hastalarda folikül sıvısında sitokin konsantrasyonları karşılaştırıldığında ise gebelik oluşan ve oluşmayan her iki hasta grubunda ise sitokin konsantrasyonları açısından önemli bir farklılık saptanmamıştır.

İntrafoliküler sitokin düzeylerinin endometriozisi olan ve olmayan hastalarda ve ayrıca uygulanan farklı stimülasyon protokollerine göre değişiklik gösterip gösterilmediğinin tespiti IVF başarısı ve gebelik oranlarının öngörülmesinde ve tedavi yönetiminin belirlenmesinde (GnRH agonist veya GnRH antagonist protokol) önemli belirteçler olabileceğinden, bu moleküler mekanizmaların anlaşılabilmesi için daha fazla sayıda hastanın yer aldığı ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. ÖZET

Amaç: Sitokinler birçok fonksiyona sahip olup vücuttaki her fizyolojik olayda mevcuttur. Endometriozisli hastalarda bu inflamatuvar sitokinlerin sayısının arttığı birçok çalışmada gösterilmiştir. Biz de bu çalışma ile endometriozisi olan ve olmayan olgularda ve ayrıca endometriozisi olan hastalarda GnRH agonist ve GnRH antagonist protokol ile kontrollü ovaryan hiperstimülasyon yapılan olguların folikül sıvısında sitokinlerden TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IL-8 düzeylerinin karşılaştırılmasını hedefledik. Çalışmanın ikincil amaçları ise bu gruplarda kimyasal gebelik, klinik gebelik oranlarının ve gebelik ulaşan olgularda sitokin seviyelerinin karşılaştırılması olarak belirlendi.

Yöntem ve Gereç: Çalışmaya çeşitli infertilite nedenleriyle ICSI/ET kararı alınmış primer veya sekonder infertil 64 hasta kabul edildi. Çalışma grubu ultrasonografik olarak tanı konulmuş 2 cm ve üzeri büyüklükte endometriozisi olan olgulardan oluşturulurken (Grup A; n=38), kontrol grubu ise endometriyozis hastalığı olmadığı var sayılan infertil olgulardan oluşturuldu (Grup B; n=26). Çalışmanın subgroup analizi için ise ICSI/ET siklusunda kontrollü ovarian hiperstimülasyon için luteal uzun protokol uygulanan olgular grup A1 (n=19) ve GnRH antagonist protokol uygulanan olgular ise Grup A2 (n=19) olarak gruplandırıldı. Agonist ve antagonist protokol uygulanan hastalarda OPU işlemi sırasında folikül sıvıları toplandı ve örneklerdeki sitokin düzeyleri ELİSA yöntemiyle Biyokimya laboratuvarında çalışıldı. Veriler SPSS 20.0 veri tabanına aktarılarak analizler yapılmıştır.

Bulgular: Grup A ve Grup B'de OPU sırasında alınan folikül sıvısındaki sitokin konsantrasyonlarının ve gebelik sonuçlarının her iki grupta karşılaştırılması sonucunda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ($p>0,05$). Benzer şekilde GrupA1 ve GrupA2 arasında da sitokin seviyeleri açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Embriyo transferi yapılan hastalar içerisinde ise kimyasal ve klinik gebelik oluşan ve oluşmayanların folikül sıvısı sitokin konsantrasyonları karşılaştırılmış olup istatistiksel olarak farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Sonuç: Folikül sıvısı sitokin düzeyleri endometriozisi olan ve olmayan hastalarda ve ayrıca endometriozisi olanlarda agonist ve antagonist protokol uygulanan olgularda benzer

olarak saptanmıştır. Gebelik oluşan ve oluşmayan hasta gruplarında da sitokin profili benzer olarak izlenmiştir.

Anahtar sözcükler: İnfertilite, endometriozis, in vitro fertilizasyon, sitokin, gonadotropin (rekombinant FSH)



7. ABSTRACT

Objective: Cytokines have many functions and play a role in all physiologic events in the body. It has been demonstrated in many studies that the levels of these inflammatory cytokines are increased in patients with endometriosis. In this study we aimed to compare TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-8 levels in follicle fluid of patients with and without endometrioma. At the same time we aimed to compare TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-8 levels in follicle fluid of patients with endometrioma who underwent controlled ovarian hyperstimulation with GnRH agonist versus GnRH antagonist protocol. Secondary objectives of the study were to compare chemical pregnancy, clinical pregnancy rates and cytokine levels in patients who reached pregnancy.

Material and Method: 64 primary or secondary infertile patients with ICSI/ET decision due to various infertility reasons were included in the study. The study group consisted of infertile patients diagnosed endometriomas of 2 cm or more by ultrasonographically (Group A; n=38), and the control group consisted of infertile patients without endometriosis disease (Group B; n=26). Group A1 (n=19) who underwent luteal long protocol and Group A2 (n=19) who underwent GnRH antagonist protocol for controlled ovarian hyperstimulation in ICSI/ET cycle, were grouped for subgroup analysis of the study. Follicular fluids were collected during oosit retrieval procedure in patients with agonist and antagonist protocols and cytokine levels in the samples were studied by ELISA in the Biochemistry laboratory. Data were analyzed by using SPSS 20.0 database.

Results: In Group A and Group B, there was no statistically significant difference between groups in terms of comparison of cytokine concentrations and pregnancy outcomes in follicle fluid taken during oosit retrieval ($p>0,05$). Correspondingly, no significant difference was found between Group A1 and Group A2 in terms of cytokine levels. In the patients who underwent embryo transfer, the follicle fluid cytokine concentrations of patients with and without chemical and clinical pregnancy were compared and no statistically significant difference was found ($p>0,05$).

Conclusion: Follicular fluid cytokine levels were similar in patients with and without endometrioma, and also in patients with endometrioma who were treated with agonist and antagonist protocols. In addition, cytokine profile was similar in patients with and without pregnancy.

Key words: Infertility, endometriosis, in vitro fertilization, cytokine, gonadotropin (recombinant FSH)



8. KAYNAKLAR

1. F, Marc A. LS. Speroff, Fritz MA. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. Lippincott Williams and Wilkins 7th Philadelphia. 2011: 1137- 1138
2. Brugo-Olmedo S, Chillik C, Kopelman S. Definition and causes of infertility. *Reprod Biomed Online*. 2001;2(1):41–53.
3. Nardelli AA, Stafinski T, Motan T, Klein K, Menon D. Assisted reproductive technologies (ARTs): Evaluation of evidence to support public policy development. 2014;1–14.
4. Wood JW. Fecundity and natural fertility in humans. *Oxf Rev Reprod Biol*. 1989;11:61–109.
5. Bulletti C, Coccia ME, Battistoni S, Borini A. Endometriosis and infertility. 2010;441–7.
6. Jaeger-Lansky A, Schmidthaler K, Kuessel L, Gstottner M, Waidhofer-Sollner P, Zlabinger GJ, et al. Local and systemic levels of cytokines and danger signals in endometriosis-affected women. *J Reprod Immunol*. 2018 Nov;130:7–10.
7. Malvezzi H, Hernandez C, Piccinato C, Podgaec S. Interleukin in endometriosis-associated infertility-pelvic pain: systematic review and meta-analysis. *Reproduction*. 2019 Apr;
8. Boomsma CM, Kavelaars A, Eijkemans MJC, Lentjes EG, Fauser BCJM, Heijnen CJ, et al. Endometrial secretion analysis identifies a cytokine profile predictive of pregnancy in IVF. *Hum Reprod*. 2009 Jun;24(6):1427–35.
9. Harrity C, Shkrobot L, Walsh D, Marron K. ART implantation failure and miscarriage in patients with elevated intracellular cytokine ratios: response to immune support therapy. *Fertil Res Pract*. 2018;4:7.
10. 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 Jan;14(1):162–6.
11. Lambalk CB, Banga FR, Huirne JA, Toftager M, Pinborg A, Homburg R, et al. GnRH antagonist versus long agonist protocols in IVF: a systematic review and meta-analysis accounting for patient type. *Hum Reprod Update.* 2017 Sep;23(5):560–79.
 12. Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clin Biochem.* 2018 Dec;62:2–10.
 13. Zinaman MJ, Clegg ED, Brown CC, O'Connor J, Selevan SG. Estimates of human fertility and pregnancy loss. *Fertil Steril.* 1996 Mar;65(3):503–9.
 14. Forti G. CLINICAL REVIEW 100 Evaluation and Treatment of the Infertile Couple *. 1998;83(12).
 15. Stephens SM, Arnett DM, Meacham RB. The Use of In Vitro Fertilization in the Management of Male Infertility : What the Urologist Needs to Know. 2014;15(4):154–60.
 16. Chapron C, Dubuisson JB, Chavet X, Morice P. Treatment and causes of female infertility. Vol. 344, *Lancet* (London, England). England; 1994. p. 333–4.
 17. Centre NC. Fertility : assessment and treatment for people with fertility problems
Fertility : assessment and treatment for people with fertility problems.
 18. No CO. Female age-related fertility decline. *Fertil Steril* [Internet]. 2019;101(3):633–4. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.12.032>
 19. Durdağ GD. Over Rezervinin Değerlendirilmesi. 2008;254–65.
 20. Jirge PR. Ovarian reserve tests. *J Hum Reprod Sci.* 2011;4(3):108–13.
 21. 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 Apr;51(4):651–4.

22. Wei HSYT, Cheng C. Detection of ovulation , a review of currently available methods. 2017;(February):238–46.
23. Barron ML, Fehring RJ. Basal body temperature assessment: is it useful to couples seeking pregnancy? *MCN Am J Matern Child Nurs.* 2005;30(5):290–8.
24. Crosignani PG, Rubin BL. Optimal use of infertility diagnostic tests and treatments. The ESHRE Capri Workshop Group. Vol. 15, Human reproduction (Oxford, England). England; 2000. p. 723–32.
25. Matijevic R, Grgic O. Predictive values of ultrasound monitoring of the menstrual cycle. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2005 Aug;17(4):405–10.
26. Murray MJ, Meyer WR, Zaino RJ, Lessey BA, Novotny DB, Ireland K, et al. A critical analysis of the accuracy, reproducibility, and clinical utility of histologic endometrial dating in fertile women. *Fertil Steril.* 2004 May;81(5):1333–43.
27. Keefe CE, Mirkes R, Ph D, Jr PY. The Evaluation and Treatment of Cervical Factor Infertility A Medical-Moral Analysis. 79(November 2012):409–25.
28. Taylor E, Gomel V. The uterus and fertility. *Fertil Steril.* 2008 Jan;89(1):1–16.
29. Muzii L, Sereni MI, Battista C, Zullo MA, Tambone V, Angioli R. [Tubo-peritoneal factor of infertility: diagnosis and treatment]. *Clin Ter.* 2010;161(1):77–85.
30. Pingograpyinifertility E. Histerosalpingografi ve İnfertilite.
31. Gelbaya TA, Potdar N, Jevé YB, Nardo LG. Definition and epidemiology of unexplained infertility. *Obstet Gynecol Surv.* 2014 Feb;69(2):109–15.
32. Infertility U. Editorial Unexplained Infertility , the Controversial Matter in Management of Infertile Couples. 2015;16(1):4–5.
33. Kumar N, Singh AK. Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: A review of literature. *J Hum Reprod Sci.* 2015;8(4):191–6.
34. Ler T. No Title.
35. Satar DA, Gençdal S. Sperm Değerlendirmesi. *Arşiv Kaynak Tarama Derg.*

- 2017;22(4):532–532.
36. WHO. WHO Laboratuvar El Kitabı İnsan semeninin incelenmesi ve işlemlerden geçirilmesi [Internet]. 2010. 1–290 p. Available from:
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44261/35/9789750011245_tur.pdf
 37. Schreiter V, Kinkel K. Endometriosis. *Med Radiol.* 2019;334(FEBRUARY):325–41.
 38. Brosens I, Benagiano G. Endometriosis, a modern syndrome. *Indian J Med Res.* 2011 Jun;133(6):581–93.
 39. Sourial S, Tempest N, Hapangama DK. Theories on the Pathogenesis of Endometriosis. 2014;2014.
 40. Koninckx PR, Kennedy SH, Barlow DH. Endometriotic disease : the role of peritoneal fluid. 1998;(May 2014).
 41. Halme J, Hammond MG, Hulka JF, Raj SG, Talbert LM. Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. *Obstet Gynecol.* 1984 Aug;64(2):151–4.
 42. Ünal F, Yüksel MA, Kaya SA, Abali R, L HB, Boran B. Vajinal Endometriozis Olgusu. 2009;140–2.
 43. Olive DL, Henderson DY. Endometriosis and mullerian anomalies. *Obstet Gynecol.* 1987 Mar;69(3 Pt 1):412–5.
 44. Metzger DA, Lessey BA, Soper JT, McCarty KSJ, Haney AF. Hormone-resistant endometriosis following total abdominal hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy: correlation with histology and steroid receptor content. *Obstet Gynecol.* 1991 Nov;78(5 Pt 2):946–50.
 45. Schifrin BS, Erez S, Moore JG. Teen-age endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 1973 Aug 1;116(7):973–80. Available from:
[https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(16\)33845-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(16)33845-5)
 46. CLARK AH. ENDOMETRIOSIS IN A YOUNG GIRL. *JAMA* [Internet]. 1948 Mar 6;136(10):690. Available from:

<https://doi.org/10.1001/jama.1948.72890270008008a>

47. El-Mahgoub S, Yaseen S. A positive proof for the theory of coelomic metaplasia. *Am J Obstet Gynecol.* 1980 May;137(1):137–40.
48. Martin JDJ, Hauck AE. Endometriosis in the male. *Am Surg.* 1985 Jul;51(7):426–30.
49. BONTIS JN, VAVILIS DT. Etiopathology of Endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 1997;816(1):305–9. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1997.tb52155.x>
50. Merrill JA. Endometrial induction of endometriosis across Millipore filters. *Am J Obstet Gynecol.* 1966 Mar;94(6):780–90.
51. Hansen KA, Eyster KM, Vermillion SD, Falls S, Vermillion D, Falls S. HHS Public Access. 2015;53(2):403–12.
52. Dmowski WP, Steele RW, Baker GF. Deficient cellular immunity in endometriosis. *Am J Obstet Gynecol.* 1981 Oct;141(4):377–83.
53. Moore JG, Binstock MA, Growdon WA. The clinical implications of retroperitoneal endometriosis. *Am J Obstet Gynecol.* 1988 Jun;158(6 Pt 1):1291–8.
54. Nap AW, Groothuis PG, Demir AY, Maas JWM, Dunselman GAJ, de Goeij AFPM, et al. Tissue integrity is essential for ectopic implantation of human endometrium in the chicken chorioallantoic membrane. *Hum Reprod.* 2003 Jan;18(1):30–4.
55. Oosterlynck DJ, Cornillie FJ, Waer M, Vandeputte M, Koninckx PR. Women with endometriosis show a defect in natural killer activity resulting in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium. *Fertil Steril.* 1991 Jul;56(1):45–51.
56. Manuscript A. NIH Public Access. 2013;98(3).
57. Sinaii N, Cleary SD, Ballweg ML, Nieman LK, Stratton P. High rates of autoimmune and endocrine disorders, fibromyalgia, chronic fatigue syndrome and atopic diseases among women with endometriosis: a survey analysis. *Hum Reprod.* 2002 Oct;17(10):2715–24.

58. Cramer DW, Missmer SA. The epidemiology of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci.* 2002 Mar;955:11-16,396-406.
59. Eskenazi B, Warner ML. Epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 1997 Jun;24(2):235–58.
60. Kennedy S, Bergqvist A, Chapron C, D’Hooghe T, Dunselman G, Greb R, et al. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Hum Reprod.* 2005 Oct;20(10):2698–704.
61. Nnoaham KE, Hummelshoj L, Webster P, d’Hooghe T, de Cicco Nardone F, de Cicco Nardone C, et al. Impact of endometriosis on quality of life and work productivity: a multicenter study across ten countries. *Fertil Steril.* 2011 Aug;96(2):366-373.e8.
62. Ballard K, Lowton K, Wright J. What’s the delay? A qualitative study of women’s experiences of reaching a diagnosis of endometriosis. *Fertil Steril.* 2006 Nov;86(5):1296–301.
63. Bazot M, Lafont C, Rouzier R, Roseau G, Thomassin-Naggara I, Darai E. Diagnostic accuracy of physical examination, transvaginal sonography, rectal endoscopic sonography, and magnetic resonance imaging to diagnose deep infiltrating endometriosis. *Fertil Steril.* 2009 Dec;92(6):1825–33.
64. Stegmann BJ, Sinaii N, Liu S, Segars J, Merino M, Nieman LK, et al. Using location, color, size, and depth to characterize and identify endometriosis lesions in a cohort of 133 women. *Fertil Steril.* 2008 Jun;89(6):1632–6.
65. Clement PB. Pathology of endometriosis. *Pathol Annu.* 1990;25 Pt 1:245–95.
66. Moore J, Copley S, Morris J, Lindsell D, Golding S, Kennedy S. A systematic review of the accuracy of ultrasound in the diagnosis of endometriosis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2002 Dec;20(6):630–4.
67. Mol BW, Bayram N, Lijmer JG, Wiegerinck MA, Bongers MY, van der Veen F, et al. The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: a meta-analysis. *Fertil Steril.* 1998 Dec;70(6):1101–8.

68. May KE, Conduit-Hulbert SA, Villar J, Kirtley S, Kennedy SH, Becker CM. Peripheral biomarkers of endometriosis: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2010;16(6):651–74.
69. May KE, Villar J, Kirtley S, Kennedy SH, Becker CM. Endometrial alterations in endometriosis: a systematic review of putative biomarkers. *Hum Reprod Update*. 2011;17(5):637–53.
70. Stratton P, Winkel C, Premkumar A, Chow C, Wilson J, Hearn-Stokes R, et al. Diagnostic accuracy of laparoscopy, magnetic resonance imaging, and histopathologic examination for the detection of endometriosis. *Fertil Steril*. 2003 May;79(5):1078–85.
71. Adamson GD. Endometriosis classification: an update. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2011 Aug;23(4):213–20.
72. Johnson NP, Hummelshoj L, Adamson GD, Keckstein J, Taylor HS, Abrao MS, et al. World endometriosis society consensus on the classification of endometriosis. *Hum Reprod*. 2017;32(2):315–24.
73. Nesbitt-Hawes EM, Ledger W. Endometriosis and infertility. *Reprod Surg Assist Concept*. 2015;82(September):29–35.
74. Shifren JL, Tseng JF, Zaloudek CJ, Ryan IP, Meng YG, Ferrara N, et al. Ovarian steroid regulation of vascular endothelial growth factor in the human endometrium: implications for angiogenesis during the menstrual cycle and in the pathogenesis of endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996 Aug;81(8):3112–8.
75. Toya M, Saito H, Ohta N, Saito T, Kaneko T, Hiroi M. Moderate and severe endometriosis is associated with alterations in the cell cycle of granulosa cells in patients undergoing in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril*. 2000 Feb;73(2):344–50.
76. Norenstedt SN, Linderth-Nagy C, Bergendal A, Sjoblom P, Bergqvist A. Reduced developmental potential in oocytes from women with endometriosis. *J Assist Reprod Genet*. 2001 Dec;18(12):644–9.

77. Piva M, Horowitz GM, Sharpe-Timms KL. Interleukin-6 differentially stimulates haptoglobin production by peritoneal and endometriotic cells in vitro: a model for endometrial-peritoneal interaction in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Jun;86(6):2553–61.
78. Burney RO, Talbi S, Hamilton AE, Vo KC, Nyegaard M, Nezhat CR, et al. Gene expression analysis of endometrium reveals progesterone resistance and candidate susceptibility genes in women with endometriosis. *Endocrinology.* 2007 Aug;148(8):3814–26.
79. Schenken RS, Asch RH, Williams RF, Hodgen GD. Etiology of infertility in monkeys with endometriosis: luteinized unruptured follicles, luteal phase defects, pelvic adhesions, and spontaneous abortions. *Fertil Steril.* 1984 Jan;41(1):122–30.
80. Endometriosis and infertility. *Fertil Steril.* 2006 Nov;86(5 Suppl 1):S156-60.
81. Suginami H, Yano K. An ovum capture inhibitor (OCI) in endometriosis peritoneal fluid: an OCI-related membrane responsible for fimbrial failure of ovum capture. *Fertil Steril.* 1988 Oct;50(4):648–53.
82. Fadhlaoui A, Bouquet J, Jolinière D, Feki A. Endometriosis and infertility : how and when to treat ? 2014;1(July):1–6.
83. Bulletti C, de Ziegler D. Uterine contractility and embryo implantation. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2006 Aug;18(4):473–84.
84. Chang FH, Chou HH, Soong YK, Chang MY, Lee CL, Lai YM. Efficacy of isotopic ¹³CO₂ laser laparoscopic evaporation in the treatment of infertile patients with minimal and mild endometriosis: a life table cumulative pregnancy rates study. *J Am Assoc Gynecol Laparosc.* 1997 Feb;4(2):219–23.
85. Marcoux S, Maheux R, Berube S. Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis. Canadian Collaborative Group on Endometriosis. *N Engl J Med.* 1997 Jul;337(4):217–22.
86. Nezhat C, Crowgey S, Nezhat F. Videolaseroscopy for the treatment of endometriosis associated with infertility. *Fertil Steril.* 1989 Feb;51(2):237–40.

87. Hughes E, Brown J, Collins JJ, Farquhar C, Fedorkow DM, Vandekerckhove P. Ovulation suppression for endometriosis. *Cochrane database Syst Rev.* 2007 Jul;(3):CD000155.
88. Barnhart K, Dunsmoor-Su R, Coutifaris C. Effect of endometriosis on in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2002 Jun;77(6):1148–55.
89. Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI, Al-Inany HG, Aboulghar MM. The outcome of in vitro fertilization in advanced endometriosis with previous surgery: a case-controlled study. *Am J Obstet Gynecol.* 2003 Feb;188(2):371–5.
90. Tummon IS, Asher LJ, Martin JS, Tulandi T. Randomized controlled trial of superovulation and insemination for infertility associated with minimal or mild endometriosis. *Fertil Steril.* 1997 Jul;68(1):8–12.
91. Sallam HN, Garcia-Velasco JA, Dias S, Arici A. Long-term pituitary down-regulation before in vitro fertilization (IVF) for women with endometriosis. *Cochrane database Syst Rev.* 2006 Jan;(1):CD004635.
92. WHO. Infertility : a tabulation of available data on prevalence of primary and secondary infertility [Internet]. 1991. p. 1–72. Available from: <http://www.who.int/iris/handle/10665/59769>
93. Kamel RM. Assisted reproductive technology after the birth of Louise Brown. *J Reprod Infertil.* 2013;14(3):96–109.
94. Awadalla S, Friedman C, Schmidt G. In vitro fertilization and embryo transfer as a treatment for male factor infertility. Vol. 26, *International Journal of Gynecology & Obstetrics.* 2004. 329–329 p.
95. GÜRGAN T, GÜLERMAN C, ÖZYER Ş. Controlled Ovarian Stimulation in IVF Cycles. *Türk Üreme Tıbbı ve Cerrahisi Derg.* 2017;1(1):42–53.
96. Albuquerque LET, Tso LO, Saconato H, Albuquerque MCRM, Macedo CR. Depot versus daily administration of gonadotrophin-releasing hormone agonist protocols for pituitary down regulation in assisted reproduction cycles. *Cochrane database Syst Rev.* 2013 Jan;(1):CD002808.

97. Garner C. Uses of GnRH Agonists. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* [Internet]. 1994;23(7):563–70. Available from:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0884217515331592>
98. Youssef MA, Abou-Setta AM, Lam WS. Recombinant versus urinary human chorionic gonadotrophin for final oocyte maturation triggering in IVF and ICSI cycles. *Cochrane database Syst Rev*. 2016 Apr;4:CD003719.
99. Shrestha D, La X, Feng HL. Comparison of different stimulation protocols used in in vitro fertilization: a review. *Ann Transl Med* [Internet]. 2015;3(10):137. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26207230>
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4486909>
100. Latouche J, Crumeyrolle-Arias M, Jordan D, Kopp N, Augendre-Ferrante B, Cedard L, et al. GnRH receptors in human granulosa cells: anatomical localization and characterization by autoradiographic study. *Endocrinology*. 1989 Sep;125(3):1739–41.
101. Kowalik A, Barmat L, Damario M, Liu HC, Davis O, Rosenwaks Z. Ovarian estradiol production in vivo. Inhibitory effect of leuprolide acetate. *J Reprod Med*. 1998 May;43(5):413–7.
102. Huirne JA, Lambalk CB. Gonadotropin-releasing-hormone-receptor antagonists. *Lancet* (London, England). 2001 Nov;358(9295):1793–803.
103. Al-Inany H, Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI. Optimizing GnRH antagonist administration: meta-analysis of fixed versus flexible protocol. *Reprod Biomed Online*. 2005 May;10(5):567–70.
104. Olivennes F, Cunha-Filho JS, Fanchin R, Bouchard P, Frydman R. The use of GnRH antagonists in ovarian stimulation. *Hum Reprod Update*. 2002;8(3):279–90.
105. Ludwig M, Katalinic A, Diedrich K. Use of GnRH antagonists in ovarian stimulation for assisted reproductive technologies compared to the long protocol. Meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2001 Nov;265(4):175–82.

106. Al-Inany H, Aboulghar M. GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review. *Hum Reprod.* 2002 Apr;17(4):874–85.
107. Hernandez ER. Embryo implantation and GnRH antagonists: embryo implantation: the Rubicon for GnRH antagonists. *Hum Reprod.* 2000 Jun;15(6):1211–6.
108. Kovacs P, Matyas S, Boda K, Kaali SG. The effect of endometrial thickness on IVF/ICSI outcome. *Hum Reprod.* 2003 Nov;18(11):2337–41.
109. Daya S. Gonadotropin releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitization in in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer cycles. *Cochrane database Syst Rev.* 2000;(2):CD001299.
110. Meldrum D. GnRH agonists as adjuncts for in vitro fertilization. *Obstet Gynecol Surv.* 1989 May;44(5):314–6.
111. Srivastava P. Transvaginal Oocyte Retrieval in IVF : Should we really be scared of the procedure ? 2018;17–9.
112. Ubaldi F, Rienzi L. Morphological selection of gametes. *Placenta.* 2008 Oct;29 Suppl B:115–20.
113. Prakash P, Leykin L, Chen Z, Toth T, Sayegh R, Schiff I, et al. Preparation by differential gradient centrifugation is better than swim-up in selecting sperm with normal morphology (strict criteria). *Fertil Steril.* 1998 Apr;69(4):722–6.
114. Kad AH, Bir ZET. Over hayat döngüsünü anlamak. (0533):71–82.
115. Oktem O, Oktay K. The ovary: anatomy and function throughout human life. *Ann N Y Acad Sci.* 2008 Apr;1127:1–9.
116. Oktay K, Karlikaya G, Akman O, Ojakian GK, Oktay M. Interaction of extracellular matrix and activin-A in the initiation of follicle growth in the mouse ovary. *Biol Reprod.* 2000 Aug;63(2):457–61.
117. Oktay K, Briggs D, Gosden RG. Ontogeny of follicle-stimulating hormone receptor gene expression in isolated human ovarian follicles. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997 Nov;82(11):3748–51.

118. Rankin T, Familiari M, Lee E, Ginsberg A, Dwyer N, Blanchette-Mackie J, et al. Mice homozygous for an insertional mutation in the Zp3 gene lack a zona pellucida and are infertile. *Development*. 1996 Sep;122(9):2903–10.
119. Knight PG, Glister C. TGF-beta superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction*. 2006 Aug;132(2):191–206.
120. Oehninger S, Hodgen GD. Induction of ovulation for assisted reproduction programmes. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol*. 1990 Sep;4(3):541–73.
121. Veeck LL. Oocyte assessment and biological performance. *Ann N Y Acad Sci*. 1988;541:259–74.
122. Özcan C. Embriyoner Gelişim. Delilbaşı L. editör. *In Vitro Fertilizasyon (IVF) Laboratuvar Yöntemleri (Yeni Uygulamalar Ve Güncel Yaklaşımlar)*,1.baskı.2008;s:117–125.
123. Veeck L, Zaninovic N. *An Atlas of Human Blastocysts*. Taylor & Francis; 2003
124. Rocha JC, Passalia F, Matos FD, Jr MPM, Alves MF, Almeida TG De, et al. Review Article Methods for assessing the quality of mammalian embryos : How far we are from the gold standard ? 2016;20(3):150–8.
125. Hemmings R, Falcone T, Miron P. *EMBRYO QuALITY AssESSMENT*. 1995;(April):7–10.
126. Histology D. Methods of embryo scoring in in vitro fertilization. 2004;4(1):5–22.
127. Jurisicova A, Varmuza S, Casper RF. Programmed cell death and human embryo fragmentation. *Mol Hum Reprod*. 1996 Feb;2(2):93–8.
128. Alikani M, Cohen J, Tomkin G, Garrisi GJ, Mack C, Scott RT. Human embryo fragmentation in vitro and its implications for pregnancy and implantation. *Fertil Steril*. 1999 May;71(5):836–42.
129. Noronha IL, Niemir Z, Stein H, Waldherr R. Cytokines and growth factors in renal disease. *Nephrol Dial Transplant*. 1995;10(6):775–86.

130. Ben-Rafael Z, Orvieto R. Cytokines--involvement in reproduction. *Fertil Steril*. 1992 Dec;58(6):1093–9.
131. Ostanin AA, I Aizikovich B, V Aizikovich I, Yu Kozhin A, Chernykh E. Role of cytokines in the regulation of reproductive function. Vol. 143, *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2007. 75–79 p.
132. Bukulmez O, Arici A. Leukocytes in ovarian function. *Hum Reprod Update*. 2000;6(1):1–15.
133. Adashi EY. The potential relevance of cytokines to ovarian physiology: the emerging role of resident ovarian cells of the white blood cell series. *Endocr Rev*. 1990 Aug;11(3):454–64.
134. Salamonsen LA, Dimitriadis E, Robb L. Cytokines in implantation. *Semin Reprod Med*. 2000;18(3):299–310.
135. Hornung D, Bentzien F, Wallwiener D, Kiesel L, Taylor RN. Chemokine bioactivity of RANTES in endometriotic and normal endometrial stromal cells and peritoneal fluid. *Mol Hum Reprod*. 2001 Feb;7(2):163–8.
136. Ilie I, Ilie R. Cytokines and Endometriosis - the Role of Immunological Alterations. *Biotechnol Mol Biol Nanomedicine*. 2013;1(2):8–19.
137. Wu M-Y, Ho H-N. The role of cytokines in endometriosis. *Am J Reprod Immunol*. 2003 May;49(5):285–96.
138. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1975 Sep;72(9):3666–70.
139. Vassalli P. The pathophysiology of tumor necrosis factors. *Annu Rev Immunol*. 1992;10:411–52.
140. Yamamoto Y, Kuwahara A, Taniguchi Y, Yamasaki M, Tanaka Y, Mukai Y, et al. Tumor necrosis factor alpha inhibits ovulation and induces granulosa cell death in rat ovaries. *Reprod Med Biol*. 2015;14(3):107–15.

141. Wang LJ, Brannstrom M, Robertson SA, Norman RJ. Tumor necrosis factor alpha in the human ovary: presence in follicular fluid and effects on cell proliferation and prostaglandin production. *Fertil Steril*. 1992 Nov;58(5):934–40.
142. Ushigoe K, Irahara M, Fukumochi M, Kamada M, Aono T. Production and regulation of cytokine-induced neutrophil chemoattractant in rat ovulation. *Biol Reprod*. 2000 Jul;63(1):121–6.
143. Yan Z, Hunter V, Weed J, Hutchison S, Lyles R, Terranova P. Tumor necrosis factor- α alters steroidogenesis and stimulates proliferation of human ovarian granulosa cells in vitro**Supported by the University of Kansas Cancer Center. *Fertil Steril* [Internet]. 1993;59(2):332–8. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028216556763>
144. Bauer S, Pollheimer J, Hartmann J, Husslein P, Aplin JD, Knofler M. Tumor necrosis factor-alpha inhibits trophoblast migration through elevation of plasminogen activator inhibitor-1 in first-trimester villous explant cultures. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Feb;89(2):812–22.
145. Waters JP, Pober JS, Bradley JR. Tumour necrosis factor in infectious disease. *J Pathol*. 2013 Jun;230(2):132–47.
146. Plataniotis LC, Vogelzang NJ. Interleukin-1: Biology, pathophysiology, and clinical prospects. *Am J Med* [Internet]. 1990 Nov 1;89(5):621–9. Available from: [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(90\)90181-C](https://doi.org/10.1016/0002-9343(90)90181-C)
147. Dar J, Kokia E, Bider D. Paracrine mechanism of ovarian regulation. 1996;65:25–8.
148. Karakji EG, Tsang BK. Regulation of Rat Granulosa Cell Plasminogen Activator System : Influence of Interleukin-1p and Ovarian Follicular Development '. 1995;1310:1302–10.
149. Lindhard A, Bentin-Ley U, Ravn V, Islin H, Hviid T, Rex S, et al. Biochemical evaluation of endometrial function at the time of implantation. *Fertil Steril*. 2002 Aug;78(2):221–33.
150. Lebovic DI, Bentzien F, Chao VA, Garrett EN, Meng YG, Taylor RN. Induction of

- an angiogenic phenotype in endometriotic stromal cell cultures by interleukin-1beta. *Mol Hum Reprod.* 2000 Mar;6(3):269–75.
151. Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood.* 1989 Jul;74(1):1–10.
 152. Bayindir O. Ýnci GÜNER*, Dilek ÖZMEN**, Oya BAYINDIR*** *. 1997;
 153. Fu X, Wu T, Yang L, Hu C, Wu R. Role of Interleukin-6 and Its Receptor in Endometriosis. 2017;3801–7.
 154. Choi YS, Cho SH, Seo SK, Park JH, Kim SH, Lee BS. Alteration in the intrafollicular thiol-redox system in infertile women with endometriosis. *Reproduction.* 2015;149(2):155–62.
 155. Singh AK, Dutta M, Chattopadhyay R, Chakravarty B, Chaudhury K. Intrafollicular interleukin-8, interleukin-12, and adrenomedullin are the promising prognostic markers of oocyte and embryo quality in women with endometriosis. *J Assist Reprod Genet.* 2016 Oct;33(10):1363–72.
 156. Wunder DM, Mueller MD, Birkhauser MH, Bersinger NA. Increased ENA-78 in the follicular fluid of patients with endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2006;85(3):336–42.
 157. Falconer H. Article IVF outcome in women with endometriosis in relation to tumour necrosis factor and anti- Müllerian hormone. *Reprod Biomed Online [Internet].* 2009;18(4):582–8. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)60138-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60138-1)
 158. Vodolazkaia A, El-Aalamat Y, Popovic D, Mihalyi A, Bossuyt X, Kyama CM, et al. Evaluation of a panel of 28 biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. *Hum Reprod.* 2012 Sep;27(9):2698–711.
 159. von Wolff M, Kollmann Z, Fluck CE, Stute P, Marti U, Weiss B, et al. Gonadotrophin stimulation for in vitro fertilization significantly alters the hormone milieu in follicular fluid: a comparative study between natural cycle IVF and conventional IVF. *Hum Reprod.* 2014 May;29(5):1049–57.

160. Wu G, Bersinger NA, Mueller MD, Wolff M Von. Intrafollicular inflammatory cytokines but not steroid hormone concentrations are increased in naturally matured follicles of women with proven endometriosis. 2017;357–64.
161. Kollmann Z, Schneider S, Fux M, Bersinger NA, Wolff M Von. Gonadotrophin stimulation in IVF alters the immune cell profile in follicular fluid and the cytokine concentrations in follicular fluid and serum. 2017;32(4):820–31.
162. 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 Dec;21(12):3091–5.
163. Ficicioglu C, Kumbak B, Akcin O, Attar R, Yildirim G, Yesildaglar N. Comparison of follicular fluid and serum cytokine concentrations in women undergoing assisted reproductive treatment with GnRH agonist long and antagonist protocols. *Gynecol Endocrinol.* 2010 Mar;26(3):181–6.
164. Lai Q, Zhang H, Zhu G, Li Y, Jin L, He L, et al. Comparison of the GnRH agonist and antagonist protocol on the same patients in assisted reproduction during controlled ovarian stimulation cycles. *Int J Clin Exp Pathol.* 2013;6(9):1903–10.
165. Temizkan O, Çögendez E, Şanverdi İ, Temizkan Ş, Kutlu T, Ayhan I, et al. GnRH agonist veya antagonist ile down regülasyon yapılan ICSI/ET sikluslarında insan koryonik gonadotropin günü bakılan estradiol, prolaktin düzeylerinin embriyo kalitesi ve gebelik sonuçlarına etkisi. *Sisli Etfal Hastan Tip Bul / Med Bull Sisli Hosp.* 2015;(3):174–80.
166. Ye H, Li X, Zheng T, Liang X, Li J, Huang J, et al. The effect of the immune system on ovarian function and features of ovarian germline stem cells. *Springerplus.* 2016;
167. Guzeloglu-Kayisli O, Kayisli UA, Taylor HS. The role of growth factors and cytokines during implantation: endocrine and paracrine interactions. *Semin Reprod Med.* 2009 Jan;27(1):62–79.
168. Sarapik A, Velthut A, Haller-kikkatalo K, Faure GC, Bittencourt MDC, Uibo R, et

- al. Follicular Proinflammatory Cytokines and Chemokines as Markers of IVF Success. 2012;2012.
169. Altun T, Jindal S, Greenseid K. Low follicular fluid IL-6 levels in IVF patients are associated with increased likelihood of clinical pregnancy. 2011;245–51.
170. Kumar Y, Prasad S, Husain SA, Goyal R, Khan MA. Follicular Fluid IL-6 Levels in Prediction of Successful Pregnancy Outcome in Women Undergoing IVF-ET Cycles - A Prospective Study. 2016;5(10):1724–32.
171. Zollner K-P, Hofmann T, Zollner U. Good fertilization results associated with high IL-1beta concentrations in follicular fluid of IVF patients. *J Reprod Med.* 2013;58(11–12):485–90.
172. Asimakopoulos B, Demirel C, Felberbaum R, Waczek S, Nikolettos N, Koster F, et al. Concentrations of inflammatory cytokines and the outcome in ICSI cycles. *In Vivo.* 2010;24(4):495–500.