



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM
ANABİLİM DALI

**FROZEN SIKLUSLARDA GNRH AGONİST
KULLANIMININ GEBELİK SONUÇLARINA
OLAN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Sait ÖZGÜVERCİN

**Samsun
MAYIS 2019**



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM
ANABİLİM DALI

**FROZEN SIKLUSLARDA GNRH AGONİST
KULLANIMININ GEBELİK SONUÇLARINA
OLAN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Sait ÖZGÜVERCİN

TEZ DANIŞMANI

Doç.Dr. Davut GÜVEN

Samsun- 2019

ÖNSÖZ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda asistanlık süreci boyunca aldığım eğitime katkısı olan başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr .Mehmet Bilge ÇETİNKAYA ,tez danışman hocam Doç.Dr. Davut GÜVEN ve tüm hocalarıma, bu çalışmanın planlanmasından tamamlanmasına kadar olan zamanda bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan değerli hocamız Dr.Öğretim Üyesi Ayşe Zehra ÖZDEMİR'e, ilgi ve desteğini esirgemeyen tüm hocalarıma, asistanlığım boyunca beraber çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, çalışma ortamını güzelleştiren tüm hemşire ve sağlık personeli arkadaşlarıma, her zaman her konuda desteklerini esirgemeyen pek değerli abim Ahmet ÖZGÜVERCİN'E ve kadim dostum Mevlüt ERGİN'E sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Sait ÖZÜVERCİN

Adı Soyadı: Sait ÖZÜVERCİN		
ÖZGEÇMİŞ		
Doğum Tarihi ve Yeri: 04/01/1982		
Diyarbakır		
Öğrenim Durumu: Lisans		
Derece	Okul	Yıl
İlk/Orta	Diyarbakır Fatih/Gazi İlköğretim Okulu	1989- 1996
Lise	Konya ereğli Anadolu Lisesi	1996- 1999
Lisans/Yüksek lisans	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	2000- 2007
Görevler:		
Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Pratisyen Hekim	Bitlis Adilcevaz Onkoloji Hastanesi Konya Tsm/Sivas İşyeri Hekimi	2007-2015
Araştırma görevlisi	Samsun Ondokuz Mayıs Üniv. Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD.	2015-2019

ÖZET

Giriş ve Amaç: Çalışmanın amacı hormon replasman tedavisi ile yapılan otolog frozen embryo transferlerinde endometrium hazırlığında GnRh agonist kullanımının gebelik ve abortus üzerine etkisini araştırmaktır..

Gereç ve Yöntem: Frozen embryo transferi (FET) sikluslarında GnRh agonist kullanımının gebelik ve abortus oranı üzerine etkisini araştırmak amacıyla ocak 2015- aralık 2018 yılları arasında yapılan tüm otolog frozen embryo transferleri retrospektif olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çalışmaya 226 hasta alınmıştır. Çalışmaya alınan hastaların ortalama yaşı $30,76 \pm 4,72$ idi. Hastaların 144 (% 63,7)'ü açıklanamayan infertilite, 20 (8,8)'si düşük over rezervi, 62 (27,4) tanesi male faktör tanısı almıştır. GnRh agonisti kullanan (N:22) ve kullanmayan hastalarda gebelik sonucu ve abortus açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p= 0,212, 1,000$).

Sonuç: Hormon replasman tedavisi (HRT) ile yapılan otolog frozen embryo transferlerinde GnRh agonist kullanımının gebelik oranı veya abortus üzerine anlamlı bir etkisi saptanmamıştır. Bu konunun daha net ortaya konabilmesi için daha büyük hasta populasyonları içeren prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: GnRH agonist, frozen embryo transfer, pregnancy rate.

ABSTRACT

Aim: : The aim of this work is to search the effects of using GnRH agonist on pregnancy and abortus at otolog frozen embryo transfers which were done with the treatment of hormon replacement at endometrium preparation

Material and Method: All autologous frozen embryo transfers performed between January 2015 and December 2018 were evaluated retrospectively to investigate the effect of Gnrh agonist use on pregnancy and abortion rate in Frozen embryo transfer (FET) cycles.

Results: 226 patients were involved in this work. The avarege age of these patients was $30,76 \pm 4,72$. 144 patients (% 63,7) were diagnosed unexplained infertility. 20 patients(%8,8) were diagnosed low overian reserve. 62 patients (%27,4) were diagnosed male factor. Meaningful difference wasn't determined in terms of pregnancy ressalt and abortus between the patients who useg Gnrh agonist(N:22) and who didn't use Gnrh agonist ($p= 0,212, 1,000$).

Conclusion The use of Gnrh agonist in autologous frozen embryo transfers with hormone replacement therapy (HRT) did not have a significant effect on pregnancy rate or abortion. Prospective studies with larger patient populations are needed to clarify this issue.

Keywords: GnRH agonist, frozen embryo transfer, pregnancy rate

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TABLolar.....	vii
ŞEKİLLER.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Tedavi Öncesi Hazırlık.....	2
2.2. Over Rezervinin Değerlendirilmesi.....	3
2.2.1. Bazal FSH.....	3
2.2.2 Bazal Estradiol.....	4
2.2.3 İnhibin –B.....	4
2.2.4 Antimüllerian Hormon	5
2.2.5 Klomifen Sitrat Challenge Test (CCCT).....	6
2.2.6 Transvajinal Ultrasonografi (USG)	6
2.3. Kontrollü Ovarian Hiperstimülasyon.....	6
2.3.1. Uzun protokoller	7
2.3.2. Standart doz / minidoz / ultraminidoz uzun protokoller	11
2.3.3. Analog-stop uzun protokol	11
2.3.4. Ultralong protokol	11
2.3.5. Oral kontraseptif ile kombine uzun protokol	12
2.3.6. Kısa protokoller	12
2.3.7. Co-flare protokolü	12
2.3.8. Mikrodoz protokolü	13
2.3.9. Analoğsuz protokol	14
2.3.10. GnRH antagonisti protokolü	14
2.4. Gonadotropinlerin Kullanımı - Follikül Stimülasyonu	17
2.5. Follikül Gelişiminin Monitorizasyonu	24
2.6. Ovulasyonun Tetiklenmesi.....	27
2.7. Follikül aspirasyonu	29
2.8.Luteal faz desteği	30
2.9 Ovarian hiperstimülasyon sendromu	31
2.10. Gamet hazırlanması ve kültürü.....	32

2.11 Fertilizasyon	33
2.12. Embriyo kültürü ve seçimi	33
2.13. Embriyo transferi	34
2.14 Kriyoprezervasyon	37
2.15. Preimplantasyon genetik tanı	37
2.16. Yardımcı üreme teknikleri sonuçlarının değerlendirilmesi	38
3. MATERYAL VE METOD	40
4.BULGULAR	42
5.TARTIŞMA	44
KAYNAKLAR	47



TABLÖLAR

Tablo 1. GnRH analogu doz Şemaları

Tablo 2. KOH Protokolü ve gonadotropin başlangıç dozu Őeçimi

Tablo 3. Ovulasyonun tetiklenmesi amacı ile kullanılan ajanlar

Tablo 4. Tanımlayıcı istatistikler

Tablo 5. Kategorik verilerin gruplar arasında karşılaştırılması



ŞEKİLLER

Şekil 1. Uzun ,Kısa ve Stop Agonist Protokolleri

Şekil 2. Mikrodoz Protokolü

Şekil 3. Antagonist Protokolü

Şekil 4. VKV Amerikan Hastanesi Üreme Sağlığı Üreme Sağlığı Ünitesi 1996-2010 yılları arasında gerçekleştirilen 14160 KOH uygulanmasına ait veriler.



SİMGELER VE KISALTMALAR

- AMH:**Antimullerian hormon
CCCT:Klomifet sitrat challenge test
FET:Frozen embriyo transferi
GnRH:Gonadotropin salgılatıcı hormon
GnRH-a:Gonadotropin salgılatıcı hormon analogu
hCG:Human korionik gonadotropin
HRT:Hormon replasman tedavisi
IVF:İn-vitro fertilizasyon
ICSI:intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu
FSH:Folikül stimüle edici hormon
KOH:Kontrollü ovarian hiperstimülasyon
LH:Luteinize edici hormon
OHSS:Ovarian hiperstimülasyon sendromu
OKS:Oral kontraseptif
OPU:follikül aspirasyonu
PGT:Preimplantasyon genetik tanı
PKO:Polikistik over
TGF- β :Transforming growth factor-beta
USG:Transvajinal ultrasonografi
VEGF:Vasküler endotelial büyüme faktörü
YÜT:Yardımcı üreme teknikleri
ZIFT:Embriyoların fallop tüpleri içerisine bırakılması tekniği

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Embryo transferi İn-vitro fertilizasyon(IVF) tedavisinin en önemli basamağını oluşturmaktadır. Gebelik oluşabilmesi için embryo ile endometrium arasında senkronizasyon gerekmektedir. Bu nedenle frozen siklularda endometrium hazırlığı oldukça önemlidir.

Günümüzde frozen embryo transferi öncesi endometrial hazırlık başlıca iki şekilde yapılmaktadır.Naturel veya artifisyel sikluslar. Natural siklusda spontan ovulasyon takip edilerek sonrasında embryo transferi yapılmaktadır. Artifisyel siklusta ise dışardan steroid hormon replasmanı yapılarak endometrium hazırlanmaktadır(1,2).

Doğal siklularda oldukça sıkı takip yapılması gerekmektedir. Ovulasyon bu takip sırasında kaçabilmektedir. Artifisyel siklularda ise irregüler siklus olan hastalarda daha uygundur. Artifisyel siklusda transfer zamanını kendimize göre ayarlayabilmemiz büyük bir avantajdır.

Hormon replasman tedavisi (HRT) ile yapılan siklularda öncesinde Gonadotropin salgılatıcı hormon (Gnrh)Agonistleri kullanılarak pituiter down regülasyon yapılabilmektedir. Amaç spontan ovulasyonun önlenmesidir. Bu yöntemde hazırlık daha uzun sürmekte ve maliyet artmaktadır ayrıca hipoöstrojenik etkiler görülmektedir. Literatürde gebelik sonuçlarını değiştirmediğini gösteren çalışmalar olduğu gibi (3,4,5,6) gebelik oranını ve implantasyonu artırdiğını belirten çalışmalar da mevcuttur(7).

Bizim bu çalışmada amacımız retrospektif olarak bizim merkezimizde yapılan :Frozen embriyo transferlerinde (FET) Gnrh agonist kullanımının gebelik ve abortus üzerine olan etkisinin araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

İnfertilite tedavisinde son aşamayı yardımcı üreme teknikleri (YÜT); in-vitro fertilizasyon (IVF) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) oluşturmaktadır, Tedavide temel hedef, ovarian folliküllerden aspire edilen oositler ile ejakulattan veya cerrahi yollar ile elde edilen spermelerin laboratuvar ortamında biraraya getirilmesi, fertilizasyonu ve in-vitro kültür şartlarında geliştirilen embriyoların intrauterin kaviteye transferidir. Üreme çağındaki çiftlerin %15'inin infertilite problemi ile karşılaştığı ve bu çiftlerin yaklaşık % 20'sinde yardımcı üreme tekniklerine ihtiyaç duyulduğu düşünüldüğünde tekniğin önemi daha iyi anlaşılmaktadır (12). 2014 yılında Amerika Birleşik devletlerinde yaklaşık 200.000 tedavi siklusunun gerçekleştirildiği bilinmektedir (13). Ülkemizde Şubat 2017 tarihi itibarı ile 140 üremeye yardımcı teknikler merkezi bulunmakta, kabaca yılda yaklaşık 50.000 tedavi siklusu gerçekleştiği düşünülmektedir. İnfertil bir çift değerlendirildiğinde öncelikle kendiliğinden gebelik şansını etkileyebilecek faktörler belirlenmeli ve tedavi ihtiyacı duyuluyorsa öncelikle konvansiyonel tedavi yöntemleri ile gebelik şansı denenmelidir. Bu yöntemler ile gebelik şansı bulunmayan veya tekrarlayan konvansiyonel yöntemlerin başarıya ulaştırmadığı durumlarda yardımcı üreme teknikleri gerçekleştirilir.

2.1 Tedavi Öncesi Hazırlık

İnfertil bir çiftte gebelik için hazırlanıldığı göz önüne alınarak kan grubu belirlenmeli ve anemi açısından değerlendirme yapılmalıdır. Hipokromik mikrositer anemi saptanan olgularda ferritin düzeyleri ile demir eksikliği anemisi araştırılmalı, aksi takdirde hemoglobin elektroforezi ile talasemi taşıyıcılığı yönünden değerlendirme yapılmalıdır. Hipotalamus-hipofiz-over aksının fonksiyonunun değerlendirilmesi amacı ile siklusun erken döneminde (menstrual kanamanın 2. veya 3. günü) follikül stimüle edici hormon (FSH), luteinize edici hormon (LH) ve estradiol hormonlarının bazal düzeyleri belirlenir. Ayrıca yine bu aksın fonksiyonunu etkileyebilecek olan prolaktin, tiroid stimüle edici hormon ve serbest T4 incelemeleri gerçekleştirilir. Rubella profilaksisi gereken kadınlarda tedavi öncesinde immünizasyon gerçekleştirilmeli ve tedavi bağışıklığın teyid edilmesinden sonra infertilite tedavilerine başlanmalıdır, Yardımcı üreme teknikleri tedavisi programına alınacak

çiftlerde hepatit B virüsü antijen ve antikoru, hepatit C virüsü antikoru, HIV antikoru, ve sifilis taraması yapılması gerekmektedir. Bu İncelemeler hem çiftin tedavisini gerçekleştirecek olan sağlık personelinin korunmasını, hem de çiftten elde edilecek olan sperm veya embriyoların dondurulması işlemlerinde de kontaminasyon riski açısından gerekli önlemlerin alınmasını sağlayacaktır.

Yardımcı üreme teknikleri programına alınacak olgularda, tedavinin sonucunu olumsuz yönde etkilemesi muhtemel patolojilerin önceden belirlenip çözüme kavuşturulması gerekmektedir. Uterin kavite endometrial polip, submüköz myom, intrauterin sineşi ve uterin septum açısından değerlendirilmelidir (14-21). Adneksler hidrosalpenks açısından taranmalı, overde kitle teşkil eden endometrioma veya diğer komplike kistik/solid yapılar yönünden gerekli yaklaşım YUT tedavisinden önce belirlenmelidir (22-30). Adneksi ilgilendiren cerrahi girişimlerde over korteksinin dolayısıyla rezervinin korunması, vaskülarizasyonun olumsuz yönde etkilenmemesi için azami gayret gösterilmelidir (31).

Prekonsepsiyonel dönemde resesif geçiş gösteren genetik hastalıkların taranması konusu tartışmalıdır. Amerikan Jinekoloji ve Obstetrik Derneği 2017 yılı komite raporunda gebelik planlayan tüm kadınların kistik fibrozis, spinal muskuler atrofi, Tay Sachs hastalığı ve hemoglobinopatiler açısından taranmasını önermektedir. Ancak ülkemizde bu konu ile ilgili bir kılavuz bulunmamaktadır (32,33).

2.2. Over Rezervinin Değerlendirilmesi

Yardımcı üreme tekniklerinin başarısını belirleyen en önemli iki faktör kadın yaşı ve over rezervidir. Bu nedenle tedavi protokolünü belirlerken öncelikle over rezervi iyi bir şekilde belirlenmelidir. Over rezervini belirlemede kullanılan yöntemler şu şekilde sıralanabilir:

2.2.1. Bazal FSH

FSH'nın erken proliferatif dönemdeki seviyesi ile ovarian cevap arasında korelasyon izlenmektedir (34,35). FSH'nın yüksek olduğu Olgularda inseminasyon ve YÜT uygulamalarında gebelik şansının düşük olduğu gösterilmiştir (36). FSH değerleri yüksek olan olgularda oosit kalitesinin de bozulduğu bilinmektedir

(37,38). FSH erken proliferatif dönemde yani menstrual siklusun 2. veya 3. günlerinde ölçülmektedir. Üçüncü gün FSH değeri 10 mIU/ml ve üzerinde saptanan olgularda overin indüksiyon veya kontrollü ovarian hiperstimülasyona verdiği cevabın zayıf olduğu görülmektedir (36). Ancak bu üst sınır, laboratuarlara ve kullanılan kitlelere göre değişim gösterebilir. Bu değeri düşürmenin güvenilir bir şekilde yapılabilmesi için her merkezin kendi laboratuvarının üst sınırlarını dikkate alınması ve sonuçları buna göre yorumlaması gerekmektedir. FSH değeri 15 mIU/ml ve üzerinde olan olgularda klinik gebelik gözlenme şansı hayli düşük olmaktadır,

FSH değerlerinin sikluslar arasında dalgalanmalar gösterdiği bilinmektedir (39). FSH'nın en az bir kez yüksek olarak saptanmasının, zayıf over rezervi yönünden anlamlı olduğu gösterilmiştir (40). FSH değeri dalgalanmalarına karşın over cevabı siklustan siklusa belirgin derecede bir iyileşme göstermemektedir.

2.2.2 Bazal Estradiol

Menstruasyonun 2. veya 3. gününde değerlendirilen E2 değerlerinin yüksek olması da over rezervinin kısıtlı olması yönünde uyarıcı olmaktadır (41). Ancak, E2 değerleri FSH'dan daha iyi bir belirleyici değildir. Yardımcı üreme tekniklerinde sadece 3.gün E2 değerleri ile tedavi sonucu arasında iyi bir korelasyon olmadığı gösterilmiştir. E2 düzeyi, FSH düzeyi ile birlikte değerlendirildiğinde klinik açıdan anlamlı olabilir. Üçüncü gün incelemelerinde yüksek E2 değerleri FSH üzerinde negatif geribildirim etki yoluyla FSH'nın olduğundan düşük olarak saptanmasına yol açarak sonucun güvenilirliğini etkileyebilmektedir. Overde bir önceki siklustan kalan persiste bir kistik yapı E2'nin yüksek seviyede ölçülmesine sebep olabilir.

2.2.3 İnhibin –B

Overlerden salgılanan inhibin-B'nin FSH salınımını inhibe ettiği bilinmektedir. İlerleyen yaş ve azalan over rezervi ile paralel olarak inhibin-B seviyesinin azaldığı gösterilmiştir, FSH değerlerinin inhibin-B değerleri ile kombine edilmesinin over rezervinin daha güvenilir şekilde tahminini sağlayacağı düşünülmektedir, İnhibin-B ölçümünde kullanılan farklı analiz yöntemleri mevcuttur. Laboratuvarların kendi

sınırlarına bağılı olarak üçüncü gün incelemesinde İnhibin-B düzeyi 45 pg/ml ve altında saptanan olgularda gebelik oranlarının düşük, tedavinin iptali riskinin ise yüksek olduğu gösterilmiştir (40,41).

2.2.4 Antimüllerian Hormon

Transforming growth factor-beta (TGF-b) ailesinin bir üyesi olan antimüllerian hormon (AMH) over rezervini belirlemede en önemli belirteçlerden birisidir, AMH, primordial follikül evresinden itibaren küçük preantral ve erken antral foliküllerce salgılanır. Bu aşamadan sonraki büyüme evrelerinde ve dominant foliküllerde ekspresyonu görülmemektedir (42). AMH primordial foliküllerden primer folikül aşamasına geçişi kontrol altında tutar. AMH ayrıca antral foliküllerin FSH' ya olan yanıtını azaltarak aralarından gelişecek olarak dominant folikülün seçimi üzerine de etki eder (42). Kan AMH düzeyi, over rezervi ve diğere rezerv göstergeleri ile kuvvetli korelasyon göstermektedir (43). İlerleyen yaş ile birlikte AMH değerleri azalır ve menopoza dan itibaren saptanamayacak seviyeye iner.

AMH'un diğere rezerv göstergelerine göre önemli avantajları bulunmaktadır(43). En önemli avantajı siklus gününden bağımsız olarak siklusun her döneminde doğru bir değerlendirme yapma imkanı tanınmasıdır. Bu özelliği FSH'ya karşı büyük bir avantaj teşkil etmektedir. Kan analizi ile kantitatif bir değer sağlanması ultrasonografi ile overlerin değerlendirilmesinde zorluk çekilen olgularda antral follikül sayımına karşı avantaj sağlamaktadır.

AMH değeri overlerin gonadotropin uyarısına vereceği cevabı öngörmeye kullanılan en güvenilir göstergedir. AMH değeri ile overden elde edilecek oosit sayısı arasında direkt ilişki bulunmaktadır. Hangi AMH değerinin altında overlerden yeterince yanıt alınamayacağı konusunda net bir fikir birliği bulunmamaktadır. Çok düşük değerlerde dahi spontan gebelik görülebileceği veya gonadotropinler ile overden oosit elde edilebileceği unutulmamalı ve hasta bilgilendirmesi bu yönde yapılmalıdır. Genel kanı 1 ng/ml'nin altındaki değerlerde over yanıtının kısıtlı olacağı, 3.5 ng/ml'nin üzerindeki değerlerde ise overlerden aşırı yanıt alınabileceği ve hiperstimülasyon riskine karşı önlem alınması gerektiği yönündedir (44).

2.2.5 Klomifen Sitrat Challenge Test (CCCT)

Over rezervinin değerlendirilmesinde klomifen sitrat Challenge testi kullanılabilir. Bu test kapsamında menstruasyonun 3.günü FSH ve E2 ölçümü yapılır. Takiben 5. ve 9. günleri arasında 100 mg/gün klomifen sitrat uygulanır. FSH ve E2 ölçümü 10. günde tekrarlanır ve seviyeler 2.-3. gündeki bazal değerlerle kıyaslanır. Klomifen uyarısı ile follikül gelişiminin uyarılması buna bağlı olarak follikülden E2 salgılanması beklenir. Artan E2'nin ise FSH'yı baskılması veya artışını dengelemesi beklenir. 10. günde FSH'nın bazal değerlere göre artmış olması veya E2 değerlerinde anlamlı bir yükselme olmaması olumsuz bir sonuç olarak değerlendirilir. 35 yaş üstündeki kadınlarda anormal yanıt insidansı yüksektir. Yüksek FSH değerleri olan kadınların %85'inde ovarian stimutasyona kötü yanıt elde edildiği gösterilmiştir (43). Klomifen sitrat challenge testinin pozitifliği yaş ile birlikte artar (40,45).

2.2.6 Transvajinal Ultrasonografi (USG)

FSH, E2 ve inhibin-B değerleri ile overin indüksiyona verdiği cevap arasında genellikle bir paralellik bulunmakla birlikte, bu ilişki her zaman birebir gerçekleşmemektedir. Overlerin ultrasonografideki görünümü ile indüksiyona verdikleri cevap arasında bağlantı olduğu bilinmektedir (36,46). Erken proliferatif fazda gerçekleştirilen bir ultrasonografik incelemede overlerde gözlenen antral follikül sayısı, overlerin gonadotropinler ile uyarıldığında vereceği cevabı belirlemektedir (47). Her iki overde toplam 15 ve daha üzeri antral follikül saptanması, bu overlerin uyarıya iyi cevap vereceğinin göstergesidir. Her iki overde toplam 5 veya daha altı antral follikül gözlendiği durumda over yanıtı tedavi için oldukça kısıtlı kalmaktadır.

2.3. Kontrollü Ovarian Hiperstimülasyon

Kontrollü ovarian hiperstimülasyon (KOH), yardımcı üreme tedavileri dahilinde overlerden en ideal sayı ve kalite oosit elde etmek amacı ile aynı siklusta çok sayıda follikülün geliştirilmesi tekniğidir. Tanım olarak ovulasyon indüksiyonundan farkı, multipl follikül gelişiminin hedeflenmesidir. Bu folliküllerden elde edilecek oositler,

embriyoloji laboratuvarında hastanın eşine ait spermiler ile fertilize edilecek ve geliştirilen embriyolar uterus içerisine yerleştirilecektir. Yardımcı üreme teknikleri tedavisinde başarı şansını belirleyen en önemli faktörlerden birisi embriyo kalitesidir. Embriyo kalitesi ise kendisini oluşturacak olan gametlerin kalitesi ile doğrudan ilişkidir. Dolayısıyla tedavide optimal bir başarı elde edebilmek için iyi kalitede ve sayıda oosit elde edilmeli, bu imkanı sağlayacak şekilde bir KOH gerçekleştirilmedi.

KOH uygulaması, birbirinden farklı özellikler taşıyan, birden fazla Protokol ile gerçekleştirilebilir. İdeal bir KOH uygulaması, her hasta için kendi bireysel özellikleri doğrultusunda planlanmalıdır. Tek bir protokole bağlı kalarak tüm hastalara aynı şablon tedaviyi uygulamak mümkün değildir ve başarıyı kısıtlar. Her olgu için en yüksek başarının elde edilebileceği bir KOH protokolü seçilmelidir. KOH uygulamaları da zaman içerisinde evrim geçirmiştir (48). Yıllar içerisinde embriyoloji alanındaki gelişmeler ve verimliliğin artışı sayesinde daha az sayıda embriyo transferi ile yüksek gebelik şansı elde edilebilmesi, KOH stratejisini de değiştirmiştir. Daha önceleri hedef mümkün olduğunca çok sayıda oosit elde etmek iken, günümüzde hedeflenen kısıtlı sayıda ama iyi kalitede oosit edilmesidir. Bu durum kullanılan protokollere, ilaç gruplarına ve dozlarına da yansımakta ve eskiye oranla daha hafif stimülasyon şemaları tercih edilmektedir.

KOH protokolleri, hipotalamus-hipofiz-over aksının tedavi siklusu öncesinde baskılanıp baskılanmasına göre uzun ve kısa protokoller olarak ikiye ayrılır.

2.3.1. Uzun protokoller

Uzun protokolde amaç, bir önceki siklusun midluteal döneminde gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) analogu (GnRH-a) kullanılarak endojen LH ve FSH'nın yani hipotalamus-hipofiz-over aksı fonksiyonunun baskılanması ve follikül gelişiminin hekim tarafından kontrol edilmesidir. Endojen FSH ve LH, GnRH analogunun etkisi ile baskılandığından, follikül gelişimi ekzojen gonadotropin preparatlarının yardımı ile kontrollü bir şekilde gerçekleştirilecektir.

Endojen gonadotropinlerin baskılanması iki farklı fayda sağlamaktadır (49). Birincisi, önceki siklusun geç luteal döneminde başlayan ve sonraki siklusta gelişecek olan dominant follikülün seçimini sağlayan erken FSH yükselmesi engellenecektir. Bu sayede dominant follikül seçimi gecikecek ve ekzojen gonadotropinlerin uygulanmasını takiben çok sayıda follikülün bir arada, yani senkronize şekilde büyümesi sağlanacaktır. Bu durum özellikle over rezervi azalmış ve bazal FSH düzeyi artmış, hızlı follikül geliştiren hastalarda avantaj sağlamaktadır. Folliküllerin senkronize bir şekilde büyümesi sayesinde birçok matür oosit elde etme imkanı olacaktır. Asenkronize gelişim gösteren folliküller tedavide zorlu yaratmaktadır. Bir veya iki follikül hızlı bir şekilde büyürken, arkadan gecikerek kohorta katılan folliküller arasında boyut ve maturasyon farkı olmakta, bu da folliküllerin son maturasyonunu sağlayan human korionik gonadotropin (hCG) uyarısı ile ovulasyonun tetiklenmesinin zamanlamasını zorlaştırmaktadır. Önden gelişen folliküllere göre hCG planlandığında çok sayıda oosit elde edilmesine karşın, kullanılabilir matür oosit sayısı kısıtlı kalmaktadır, Bunun aksine arkadan gelişen kohort beklendiğinde, bu sefer de önden gelişen folliküllerden postmatür veya dejenere oositler alınmakta ve prematür luteinizasyon / ovulasyon riski artmaktadır. Uzun protokollerin en büyük avantajlarından birisi senkron-uniform tarzda bir follikül gelişimini sağlamasıdır.

Uzun protokollerde endojen gonadotropinlerin baskılanmasının ikinci avantajı ise, endojen LH'nın erken ve kontrolsüz yükselmesi ve bunun sonucunda gelişecek prematür luteinizasyon ve ovulasyon riskinin azaltılmasıdır (49).

Uzun protokolün gerektiğinde faydalanılabilecek olan bir diğer bir avantajı da, GnRH analogunun idame dozunda uzun süre kullanılabilmesi ve bu sayede tedavinin, hasta, hekim ve ekibin çalışma programına göre arzu edilen şekilde programlanabilmesidir.

GnRH analoguna tedavi döneminden bir önceki siklusun 21. gününde veya ovulasyondan bir hafta sonra başlanır. Bu dönemin tercih edilmesinin sebebi, endojen gonadotropin seviyelerinin düşük olması ve bu sayede GnRH analoglarının ilk uygulandığı günlerde yaratacakları İlk alevlendirici (flare) etki ile gonadotropin salgısını üzerinde göstereceği geçici uyarıcı etkinin de kısıtlı kalmasıdır. Flare etki,

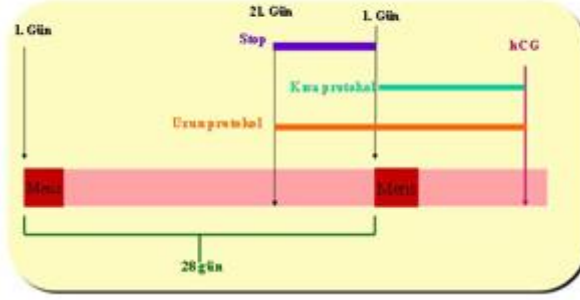
analog uygulamasının başlangıcından itibaren en fazla 5-7 gün sürmekte, daha sonra analogun baskılayıcı etkisi devreye girmektedir (50).

GnRH analogunun baskılayıcı etkisi genellikle 6-9 gün içerisinde başlar ve endojen gonadotropinlerin baskılanması ve dolayısıyla estrojen ve progesteron seviyelerinin düşmesi sonucunda vajinal kanama görülür. Kanamanın 3. günü veya analog kullanımının 14. günü hasta baskılanmanın kontrolü için hastaneye çağrılır, serum E2 düzeyi ve transvajinal ultrasonografi ile değerlendirilir. USG'de 10 mm'den büyük follikül olmaması ve 50 pg/ml altındaki E2 değerleri overlerin baskılandığının tanımlanması için yeterlidir.

14 gün analog kullanımına rağmen hormonal baskılanma sağlanamazsa, kullanım süresi 5-7 günlük sürelerle E2 değeri 50 pg/ml'nin altına düşüncüye kadar uzatılabilir veya analog dozu artırılabilir. Nadiren 3-4 haftalık uzatmaya ve doz arttırımına rağmen E2 istenen seviyeye düşmeyebilir. Bu durumda 10 mm'den büyük folikül olmaması şartı ile 100 pg/ml ye kadar olan değerlerde de gonadotropin indüksiyonuna başlanabilir.

Supresyon kontrolüne gelen hastalarda analogun alevlendirici etkisi sonucu oluşan basit follikül kistleri gözlenebilir. Çapı 3 cm'den küçük kistlerde herhangi bir girişim uygulamadan, E2 baskılanmış ise ovulasyon indüksiyonuna başlanabilir. Baskılanma oluşmamış ise analog süresi uzatılmalıdır. 3 cm'den büyük boyuttaki kistler ise, 7-10 günlük analog süresinin uzatılmasına rağmen küçülmez ise, vaginal yolla aspire edilerek overde yer kaplayan lezyon etkisi yok edilebilir ve estrojen seviyesinin düşmesi hızlandırılabilir. Bu hastalarda yeniden oluşan hemorajik koleksiyonun rezorbsiyonuna zaman sağlamak amacıyla kist aspirasyonunu takiben analog bir hafta kadar uzatılabilir.

Uzun, Kısa ve Stop Agonist Protokolleri



Şekil 1:Uzun, kısa ve stop analog protokolleri

Flare etki ile ve 5-6 ve daha çok sayıda kist varlığında ise, flare etkinin baskılanması için; analog süresi uzatılarak kistlerin gerilemesi beklenebilir, 5000-10.000IU hCG ile kistlerin luteinizasyonunu takiben analoğa devam edilerek 1-2 hafta sonra induksiyona başlanabilir veya analog kesilerek daha sonraki bir siklusta tekrar deneme yapılabilir.

Overlerin baskılandığı teyid edildikten sonra, doz baskıyı devam ettirecek seviyeye indirilerek idame GnRH analogu dozu ile devam edilmelidir

(Şekil 1.)GnRH analogları ve doz şemaları aşağıda sıralanmaktadır(Tablo 1)

Tablo 1. GnRH analogu doz şemaları

GnRH analogu	Kullanım yolu	Standart doz	Minidoz	Ultraminidoz
Leuprolide asetat	Subkutan	2 – 1 mg	1-0.5 mg	0.5 – 0.25 mg
Nafarelin asetat	Intranazal	1200 – 600 µgr	800-400 µgr	400 – 200 µgr
Buserelin asetat	Subkutan/intranazal	900 – 450 µgr	600 – 300 µgr	-
Triptorelin	Subkutan	500 – 100 µgr	300 – 100 µgr	-

Siklusun mid-luteal fazında GnRH analoguna başlanan bir olguda henüz klinik olarak farkedilemeyecek bir spontan gebeliğin ilk günlerinde analog kullanmış olma riski mevcuttur. Ne var ki, böyle istenmeyen bir durumun fetal anomaliye veya gebelik kaybına sebep olduğu gösterilmemiştir (52). Analog kullanımına rağmen E2 değerinin baskılanamadığı Olgularda, özellikle endometrium sekretuar fazda görünüyor ve overde korpus luteum izleniyorsa mutlaka B-hCG tayini ile olası bir gebelik araştırılmalıdır. Bu riski ortadan kaldırmak için analoğa menstruasyonun 2.

veya 3. günü başlanabilir (53). Ancak folliküler fazda analoge başlanan olgularda analogun alevlendirici etkisi nedeniyle overlerde follikül kistleri görülmesi ve E2'nin baskılanmaması riski daha yüksektir. Bu risk özellikle analoge başlama tarihi geciktikçe artmaktadır. Menstrasyonun 4. gününden sonra analoge başlandığında follikül kisti gelişme riski artmaktadır (54).

2.3.2. Standart doz / minidoz / ultraminidoz uzun protokoller

Uzun protokollerin dezavantajı, endojen gonadotropinlerin baskılanması nedeni ile follikül gelişimini sağlamak için gerekli olan gonadotropin dozunun artmasıdır (51). Baskılanma, kullanılan GnRH analogunun dozu ve kullanım süresi ile ilişkilidir. Overler üzerindeki baskıyı ve gonadotropin ihtiyacını azaltmak amacı ile yıllar içerisinde kullanılan GnRH dozu azaltılmış ve standart dozdan ziyade ağırlıklı olarak minidoz seviyesindeki dozların kullanımı tercih edilmiştir (Tablo 1). Ultraminidoz seviyesindeki dozlar overleri baskılamakla birlikte gonadotropin uyarısı başladığında baskılama yetersiz kalmakta ve prematür luteinizasyon ve ovulasyon sık görülmektedir. Bu nedenle ultraminidoz protokolü kullanılmamaktadır. Günümüzde uzun protokollerde tercih edilen şema, minidoz şemasıdır (55).

2.3.3. Analog-stop uzun protokol

Over yanıtı düşük olan olgularda bir diğer alternatif GnRH analogunun, overlerin baskılanmasından sonra kesilmesi ve idame doz verilmemesidir (Şekil 1). "Lupron-stop" protokolü olarak adlandırılan bu şemada idame doz ile baskı devam etmediği ve zamanla endojen gonadotropinler de devreye gireceği için over yanıtı kolaylaşmakta ancak bununla birlikte asenkron follikül gelişimi ve prematür luteinizasyon riski artmaktadır (51,56).

2.3.4. Ultralong protokol

Bazal LH düzeyi yüksek olan polikistik over olgularında veya derin infiltran endometriozis/adenomyozis olgularında endojen gonadotropinlerin daha etkin şekilde baskılanması için GnRH analogu daha uzun süre kullanılabilir. Ultralong protokol olarak adlandırılan bu şemada gonadotropinlere yanıtın da gecikeceği unutulmamalıdır.

2.3.5. Oral kontraseptif ile kombine uzun protokol

Bu protokolde, menstruel siklusun 2. veya 3. gününde oral kontraseptif (OKS) başlanarak GnRH analogunun başlangıcından 4-5 gün sonrasına kadar devam edilir. Bu sayede bu siklusta korpus luteum veya follikül kisti oluşumu baştan engelleneceğinden, GnRH analogunun flare etkisi ile görülebilecek follikül/korpus luteum kistleri ve buna bağlı yetersiz baskılama riski ortadan kalkmaktadır. Bu yöntemin diğer bir avantajı ise oral kontraseptif kullanımı süresinin istenildiği şekilde manipüle edilmesi ve tedavi zamanlamasının arzu edildiği şekilde planlanabilmesidir. Bu tekniğin dezavantajı ise overler üzerinde uygulanan baskının daha şiddetli olması ve over rezervi kısıtlı olgularda gonadotropin uyarısına olan cevabın zorlaşmasıdır. Bu nedenle OKS ile kombine protokol daha çok normal-yüksek over rezervli hastalar için tercih edilir (59).

2.3.6. Kısa protokoller

Kısa protokollerde, önceki siklusun midluteal döneminde GnRH analogu kullanılmaksızın menstruel siklusun başlangıcı ile indüksiyona başlanmaktadır. Dolayısıyla daha kısa süreli bir ilaç tedavisi yapılmış olacağından "kısa" protokol olarak adlandırılmıştır. Kısa protokollerde GnRH analogunun uzun süreli kullanımının getirdiği baskılamadan kaçınarak, overlerin maksimum düzeyde uyarılması hedeflenir. Ekzojen gonadotropinler ile yapılacak olan bu uyarının etkinliğini potansiyelize etmek için GnRH analoglarının alevlendirici etkisinden faydalanılır.

Kısa protokoller özellikle over rezervinin kısıtlı, yanıtın düşük olduğu olgularda tercih edilir (50,61), Kısa protokoller alevlendirici etki amacı ile GnRH analogunun kullanılıp kullanılmadığı, kullanıldı ise tarzı ve dozuna göre farklı isimler alırlar.

2.3.7. Co-flare protokolü

"Co-flare" protokolü adını GnRH analoglarının alevlendirici etkisinden almaktadır. Bu protokolde menstruasyonun ikinci gününde GnRH analoguna başlanır. Bir gün sonra gonadotropinler eklenerek indüksiyona devam edilir, 6. günden itibaren analogun baskılayıcı etkisi geçeceğinden, doz yarı yarıya azaltılarak devam edilir. Kısa protokollerde, endojen gonadotropinler baskılanmadığı için erken spontan LH piki,

buna bağılı prematür luteinizasyon ve ovulasyon görölme riski uzun protokollere oranla çok daha yüksektir (62). LH'nın bazal seviyesinin %10'u kadar yükselme göstermesi folliküllerde luteinizasyonu tetikleyebilmektedir. Bu nedenle önden büyüyen folikül 12-13 mm'ye ulaştığı andan itibaren, idrar LH testleri veya kan LH düzeyleri ile LH'nın yükselip yükselmediği kontrol edilmeli, önde giden folikülün 18-19 mm'yi aşmamasına gayret gösterilmelidir (62).

Özellikle ileri yaş kadınlarda asenkron folliküler gelişim daha sık görüleceğinden, LH piki riski de artmaktadır. Co-flare protolü de asenkron gelişime yatkınlık sağlamaktadır. Önden giden ve matür boyuta ulaşan birkaç follikülü çoğunlukla ara boyutta (12-14 mm büyüklükte), başka bir folikül grubu takip eder. Öncü folikülleri bırakarak arkadan gelen foliküllerin büyümesini beklemek kısa protokollerde kolaylıkla ovulasyonla veya spontan LH yükselişiyile sonuçlanabilmektedir.

2.3.8. Mikrodoz protokölü

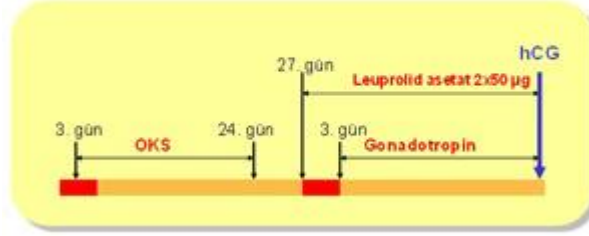
Co-flare protokölünde gözlenen riskler hekimleri daha güvenilir sistemler geliştirmeye teşvik etmiştir. GnRH analogunun alevlendirici etkisinin gözlenebileceği ama prematür ovulasyonun tetiklenmesi riskinin en düşük olduğu doz araştırmaları sonucunda mikrodoz protokölü geliştirilmiştir (63-65).

Mikrodoz protokölünde, önceki siklusta kombine oral kontraseptif kullanılarak follikül gelişimi ve dolayısıyla korpus luteum gelişimi engellenmektedir Bu sayede hem uzun protokoldeki GnRH analogu baskısına oranla daha hafif bir baskılama sağlanmakta, hem de tedavi siklusunda folliküler faz başlangıcında verilen GnRH analogunun alevlendirici etkisi ile gelişecek korpus luteumun korunması (corpus luteum rescue) problemi ortadan kaldırılmaktadır.

Mikrodoz protokölü şu şekilde özetlenebilir: 21 gün süre ile oral kontraseptif kullanılır (etinil estradiol 0.03 mg + gestoden 0,075 mg). İlaç bitiminde 3 gün ara verilmesini takiben estradiol (E2) değeri ile overlerin baskılandığı teyid edilerek 2 gün süre ile 2 x 40 ug leuprolide asetat başlanmakta ve 3. günden itibaren 450 IU FSH veya HMG eklenmektedir. Leuprolid asetat kullanımına, hCG gününe devam edilir (Şekil 2). GnRH analogunun yarattığı kısıtlı alevlendirici etki sayesinde ekzojen gonadotropin uyarısı, endojen hormonlar ile de desteklenir (66).

Alevlendirici etkinin dozu, klasik co-flare protokollerinde görülen erken LH yükselmesine sebep olacak düzeye ulaşmamaktadır.

Mikrodoz Protokolü



Şekil 2: Mikrodoz protokolu

Bu nedenle mikrodoz protokolünün co-flare protokollere oranla en büyük avantajı spontan LH yükselmesi riskinin minimal olmasıdır (67). Bu durum takipte büyük kolaylık ve tedavide güvenilirlik sağlamaktadır. Yakın ve ark.'nın gerçekleştirdikleri çalışmada mikrodoz protokolünün co-flare protokolüne oranla daha başarılı klinik sonuçlar sağladığı ve siklus iptali riskini azalttığı rapor edilmiştir (68). Ne var ki mikrodoz protokolünde de asenkronizasyon problemi yaşanmaktadır Günümüzde riskleri nedeniyle co-flare uygulaması yerini neredeyse tamamiyle mikrodoz protokolüne bırakmıştır.

2.3.9. Analoğsuz protokol

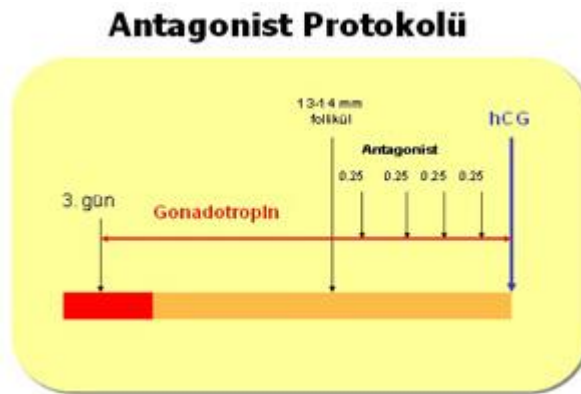
Zayıf over cevaplı olgularda analog kullanılmadan sadece gonadotropinler ile KOH gerçekleştirilebilir (69,70). Ancak analogun baskılayıcı etkisinden uzak kalınması nedeniyle prematür LH surge riski yüksek olacaktır. GnRH antagonistlerinin kullanıma girmesi ile geçmiş yıllarda kullanılan analoğsuz protokol yerini antagonist protokolüne bırakmıştır.

2.3.10. GnRH antagonisti protokolü

GnRH antagonistleri hem iyi hem kötü over yanıtı olan hastalar için iyi bir alternatif oluşturmuştur. GnRH antagonistleri saatler içerisinde endojen gonadotropinleri baskılayabildiğinden, KOH sırasında en büyük riski yaratan erken LH yükselmesi ve buna bağlı olarak gelişebilecek prematür luteinizasyon veya ovulasyon engellenmektedir (71,72)' Antagonistlerin kullanıma girmesi, prematür LH yükselmesi korkusuna karşı kullanılan uzun protokoller, GnRH analogu kullanımı ve

overlerin baskılanması gerekliliğini ortadan kaldırmıştır. Mentrüel siklus başında yapılan depo enjeksiyon veya günlük enjeksiyonlar ile prematür LH yükselmesi önlenmekte ve bu şekilde baskılayıcı bir ajan yardımına gerek duyulmadan multipl follikül gelişimi sağlanabilmektedir. Doz çalışmaları 250 mikrogram cetorelix veya ganirelix ile prematür LH yükselmesinin önlenemediğini, daha düşük dozlarda ovulasyon olmasa da prematür luteinizasyon riskinin arttığını göstermiştir (73). Daha yüksek dozlarda LH aşırı derecede baskılanmakta, bu durumda implantasyonu olumsuz yönde etkilemektedir. GnRH agonistleri ve antagonistlerini karşılaştıran ilk çalışmalarda tedavi başarısı açısından anlamlı fark bulunmamakla birlikte gebelik ve implantasyon oranlarının analoglar lehinde biraz daha yüksek olduğu gözlenmiştir (74). Aradaki fark antagonist sikluslarındaki asenkron follikül gelişimi, bazı hastalarda LH'nın aşırı baskılanması ve antagonist kullanımına alışma için gereken öğrenme süreci ile açıklanmıştır (75). Keza yaygın olarak kullanılmaya başlanmasını takiben yapılan çalışmalar agonist ve antagonist protokolleri arasında anlamlı bir farklılık olmadığını göstermektedir.

Antagonistler iki şekilde kullanılabilir. Sabit uygulama şemasında gonadotropin kullanımının 6. gününde 0.25 mg cetorelix veya ganirelix başlanır ve gonadotropinlerle birlikte hCG gününe dek, hCG günü de dahil olacak şekilde kullanılır. Değişken şemada ise önde giden follikül boyutlarının 13-14 mm'ye ulaşmasını takiben 0.25 mg antagoniste başlanır ve sabit şemada olduğu şekilde devam edilir (Şekil 3)



Şekil3:Antagonist Protokolü

Antagoniste başlanan gün, gonadotropinlere devam edilmesine karşın siklus seyrinde hafif bir yavaşlama gözlenmekle birlikte gonadotropin dozu artışına gerek duyulmamaktadır. Antagonistlerin endometrium üzerine direkt negatif etkisi olduğu iddia edilmişse de gelişen follikülün 14 mm'ye ulaşmasını takiben başlanacak uygulamasının endometrium üzerine minimal etkisi olacağı gösterilmiştir (76,77). Antagonist uygulaması bazı hastalarda LH düzeylerinin aşırı baskılanmasına yol açacağından bazı seçilmiş olgularda hMG veya LH içeren preparatlar eklenmesi önerilmektedir (78).

Toplam 12,212 olguya ait verileri içeren 73 randomize kontrollü çalışmanın bir arada değerlendirildiği metaanaliz sonucunda agonist ve antagonist siklusları arasında klinik sonuçlar açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (79). Dolayısıyla normal-iyi over yanıtı beklenen oranlarda her iki protokolün de aynı başarı ile kullanılabilirdiği düşünülebilir.

Antagonistler, KOH uygulamasında zorluklar yaşanan çok zayıf veya aşırı yüksek yanıt riski olan olgularda avantajlar getirmektedir. Çok zayıf yanıt riski olan olgularda, overler üzerinde herhangi bir baskılama uygulamadan yüksek doz gonadotropinler ile stimülasyon yapılarak overden maksimum yanıt almaya çalışılır. Bu esnada ortaya çıkan spontan LH yükselmesi riski de antagonistler yardımı ile engellenir (80). Aşırı yanıt riski olan olgularda ise antagonist siklusları uzun protokollerden farklı bir seyir göstermektedir. Antagonist sikluslarında den gelişen folliküllerin ardından büyüme başlayan, matür oosit eldesi imkanı sağlamadığı halde estrojen seviyelerinde artışa katkıda bulunan bu kohort daha sınırlı bir gelişim göstermekte, bu durum da OHSS riskini azaltmaktadır. Keza antagonist sikluslarında analog sikluslarına oranla daha az OHSS yaşanmaktadır (81). Lainas ve ark.'nın 220 olgu gerçekleştirdikleri randomize kontrollü bir çalışmada antagonist grubunda, agonist grubuna oranla benzer gebelik oranları elde edildiği' ancak OHSS riskinin daha düşük, kullanılan gonadotropin miktarının daha az ve siklus süresinin daha kısa olduğu gözlenmiştir (82). Antagonist sikluslarında ovulasyonun tetiklenmesi için hCG yerine agonist kullanılması OHSS riskini daha da azaltacaktır (72).

2.4. Gonadotropinlerin Kullanımı - Follikül Stimülasyonu

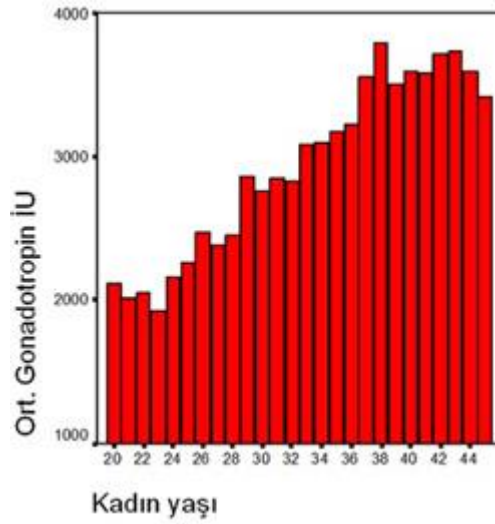
KOH uygulamasında hangi protokol kullanılırsa kullanılsın, temel hedef ekzojen gonadotropinlerin uyarısı ile ideal sayı ve kalite elde edilmesidir, Ekzojen gonadotropin olarak FSH ve HMG preparatları tek başına veya birarada kullanılabilir, yardımcı olarak LH preparat eklenebilir (84,85). Tipik polikistik over özellikleri sergileyen, özellikle bazal incelemede veya overlerin baskılanmasına rağmen yüksek LH düzeyleri saptanan olgularda, yalnızca FSH uyarısı tercih edilmektedir. Rekombinant preparatlarda, hastaya uygulanan FSH miktarının kesin olarak biliniyor olması ve preparatlarda ilaç partileri arası (batch-tobatch) fark olmaması büyük avantaj teşkil etmektedir (86,87). Follikül gelişiminin doz değişikliklerine çok hassas olduğu polikistik over olgularında rekombinant preparatların kullanımı, doz güvenilirliği konusunda önemli avantaj sağlamaktadır (88). Gonadotropin seçimi güvenilirlik, uzun vadeli riskler, hormon içeriğindeki olası değişiklikler, uygulama kolaylığı ve fiyat göz önüne alınarak yapılır (89,90).

KOH için gerekli olan gonadotropin dozunun ayarlanması, iyi bir follikül gelişimi, yeterli sayıda ve ideal kalitede oositler elde edilmesi yönünden büyük önem taşımaktadır, Başlangıç dozlarının belirlenmesinde dikkate alınması gereken faktörler şu şekilde sıralanabilir:

1. Kadın yaşı: Kadında ilerleyen yaş ile birlikte azalan over rezervi ve KOH'a alınan yanıtta azalma, tedavide başarı şansını olumsuz yönde etkilemektedir (91). Yaş ile birlikte overlerdeki primordial follikül sayısı azaldığı bilinmektedir (92). İlerleyen yaş ile birlikte stimülasyon için ihtiyaç duyulan gonadotropin miktarı artmakta, elde edilen matür oosit sayısı azalmaktadır. Yüksek dozda gonadotropin kullanımı ile elde edilen oositlerde çeşitli morfolojik anomaliler dikkati çekmekte ve bu oositlerden elde edilen embriyoların gelişiminde sıkıntılar yaşanmaktadır. Artan kadın yaşı ile kullanılan gonadotropin miktarındaki artış Şekil 4'teki tablo da net olarak görülebilmektedir.

2. Ultrasonografi ile belirlenen over rezervi: Overlerin ultrasonografideki görünümü ile indüksiyona verdikleri yanıt arasında bağlantı olduğu, over hacmi veya içerisinde barındırdığı antral follikül sayısı arttıkça over yanıtının arttığı

görülmektedir (46,47). Bu bilgiler ultrasonografide over rezervini belirleyen bir kriter olarak kullanılmaktadır (93). Antral follükül sayısı için 10 değeri bir cut-off olarak alındığında, antral follükül sayısı ile over yanıtının %89 sensitivite ve %83 spesifisite ile belirlenebildiği, bu şekilde negatif prediktivitenin mümkün olduğunca yüksek tutulabildiği gözlenmiştir (51). USG ile over değerlendirilmesinde antral follükül sayısına göre bir derecelendirme (grading) yapılmaktadır. Buna göre her iki overde toplam antral follükül sayısı 4 ve altında olanlar Grade I, 4 ile 6 arasında olanlar Grade II, 7 ve 10 arasında olanlar Grade III, 10'un üzerinde olanlar ise Grade IV olarak değerlendirilmektedir.



Şekil 4: Kadın yaşı-kullanılan gonadotropin miktarı

Grade IV olarak değerlendirilen overlerde over volümünün ve over stromasının artışı PKO lehine yorumlanmakta, özellikle antral follüküllerin kapsül altında 'ğerdanlık işareti (necklace sign)" şeklinde dizilmesi tipik PKO özelliği olarak belirlenmektedir. Over net olarak görüntülenebildiği halde belirgin follükül izlenemeyen overler de Grade I olarak tanımlanmaktadır. Over volümünün genellikle düşük olduğu dikkati çekmektedir. Bu tip overlerde ovulasyon indüksiyonu veya KOH'a cevap yetersizdir ve iptal veya başarısızlık şansı yüksek olmaktadır. Grade II over yapısında sahip olguların KOH'a beklenen yanıtları genellikle kısıtlıdır. Grade III overler, iyi cevap veren bazen ise aşırı yanıt gösteren overlerdir. Grade IV over ise polikistik veya multikistik yapıda olarak değerlendirilir; indüksiyon ajanlarına ve doz değişimlerine

çok hassastır. Bu olgularda folliküler atrezi veya ovarian hiperstimülasyon riski oldukça yüksektir.

3.Bazal FSH ve E2 düzeyleri: Siklusun 2. veya 3. gün bazal FSH değeri 10 mIU/ml'ye kadar olan kadınlar ovulasyon indüksiyonuna normal, 11-13 mIU/ml arasında olanlar işlem uygulanabilen fakat kötü cevaplı ve abortus oranı yüksek olgular, 13 mIU/ml'den büyük hastalar ise kötü cevaplı ve gebelik olasılığı çok düşük (% 5 in altında) hastalar olarak sınıflandırılmaktadır (34,35,39). Bazal E2 değerinin 75 pg/ml ve üzerinde olması da kötü cevabı gösteren bir başka bulgudur (83). FSH değeri 11 mIU/ml'ye, bazal E2 75pg/ml'ye yaklaşan olgularda, yaşa göre düşünülen dozların artırılması gerekmektedir (38).

4.Antimüllerian hormon (AMH) düzeyi: AMH düzeyinin 1.5 ng/ ml'nin altında olduğu olgularda over rezervinin düşük olduğu ve yanıtın kısıtlı olacağı öngörülerek doz yüksek tutulmalı, düzeyin 3.5 ng/ ml'nin olduğu olgularda ise aşırı yanıt ve OHSS olasılığı göz önünde bulundurularak doz düşük tutulmalıdır (95).

5.Vücut kitle indeksi: Vücut kitle indeksi 18 kg/ml'nin altında olan olgularda yaşa ve over rezervine göre planlanmış olan dozun azaltılması, 28 kg/m²'nin üzerinde olan olgularda ise artırılması önerilmektedir (96).

6.Geçirilmiş over cerrahisi: Overlerin geçirilmiş bir cerrahi nedeni ile kortika doku kaybına uğramış olması follikül havuzunu daraltmakta ve KOH'a düşük yanıt vermesine yol açmaktadır. Bu olgularda doz artışına ihtiyaç duyulabilir.

7.Overlerde yer işgal eden kitle varlığı (endometrioma, kist vb): Yine Over yanıtının kısıtlı olmasına yol açabileceğinden, doz ayarlamada gözönünde bulundurulması gerekir.

8. Önceki ovulasyon indüksiyonu veya KOH sonrasında Elde edilen yanıt: Hastanın önceki tedavi denemelerinde kullanılan ilaç dozları ve alınan yanıt yeni tedavide yol gösterici olmaktadır. Bazı olgularda beklenenin altında ve üzerinde yanıt alınabilmektedir Bu olgularda dozların alınan yanıtı göre belirlenmesi yeni tedavide daha olumlu sonuçlar alınması sağlayacaktır

Başlangıç dozunun belirlenmesi sırasında bu parametrelerin tümü birarada değerlendirilir. Pratik uygulamada hastanın hikayesi, Vücut kitle endeksi ve

ultrasonografik değerlendirmesi ile elde edilen bilgilere, biokirnyasal parametrelerden bazal FSH veya AMH değeri eklenir (36,37,40,97).

KOH için uygulanan gonadotropin dozu 75-450 IU arasında değişmektedir. Daha yüksek dozlar ile yanıtın değişmediği, buna karşın yüksek gonadotropine maruz kalan oositlerde olumsuz morfolojik değişiklikler gözlendiği dikkati çekmektedir (98). Normal yanıt alınacağı düşünülen olgularda KOH uygulamasına 150-225 IU/gün ile başlanır. Sterrenburg ve ark'nın yayınladıkları metaanalizde, 39 yaşının altındaki yeterli bir over yanıtı beklenen olgularda 200 U'nun üzerine çıkıldıkça klinik sonuçların değişmediği, buna karşın OHSS riskinin anlamlı oranda arttığı rapor edilmiştir (99). Hastanın bireysel özellikleri hormonal durumu ve over rezervi gözden geçirilerek doz ayarlaması yapılır. Her yaşta dikkate alınması gereken en önemli bulgu ovar rezervidir. 25 yaşındaki bir kadında ovar rezervi yetersiz olabileceği gibi, polikistik over bulguları olan 40 yaşında bir kadından aşırı Over yanıtı alınması mümkündür. Overlerde izlenen antral follikül sayısı doğrultusunda belirlenen over rezervi ile, KOH sonucu elde edilen over yanıtın iyi bir korelasyon gösterdiği saptanmıştır (51).

Başlangıçta önemle değerlendirilmesi gereken bir grup polikistik Over (PKO) olgularıdır. PKO olgularında follikül gelişimi doz değişikliklerine çok hassastır. PKO olgularında siklus öncesinde ovarian mikroevredeki hiperandrojenemik ortamın baskılanması, insülin rezistansının yenilmesi ve hiperandrojeneminin düzeltilmesine yönelik oral kontraseptifler, steroidler (deksametazon), dopamin agonistleri (bromokriptin, kabergolin), aromataz inhibitörleri (letrozol) ve insülin sensitize ajanlar (metformin) gibi djuvan ajanlar kullanılabilir. (51,100,101)

KOH protokolü ve gonadotropin başlangıç dozu seçimi ile ilgili kriterler tablo 2de sunulmaktadır.

Grup I. Bilinen / öngörülen normal Over yanıtı
Kriterler:

1. Yaş <35
- 2.Serum bazal FSH < 10 IU/L
- 3.AMH 1.5-3.5 ng/ml
- 4.Ultrasonografide yeterli antral follikül görünümü
- 5.Geçirilmiş over cerrahisi hikayesi yok
- 6.Önceki tedavilere ait normal over yanıtı hikayesi

KOH protokol tercihleri:

- 1.Midluteal GnRH analogu baskısı ile uzun protokol
- 2.GnRH antagonisti protokolü

Gonadotropin dozu seçimi:

150-225 IU FSH veya HMG

Grup II. Bilinen / öngörülen düşük over yanıtı

Kriterler:

- 1.Yaş >35
- 2.Serum bazal FSH > 10 IU/L
- 3.AMH < 1,5 ng/ml
- 4.Ultrasonografide az sayıda antral follikül görünümü
- 5.Geçirilmiş over cerrahisi hikayesi var
- 6.Önceki tedavilere ait düşük over yanıtı hikayesi

KOH protokol tercihleri:

- 1.Midluteal GnRH analogu baskısı ile uzun protokol
- 2.GnRH antagonisti protokolü
- 3.Co-flare kısa protokol
- 4.Mikrodoz kısa protokol
- 5.Klomifen / letrozol + gonadotropin kombinasyonu
- 6.Modifiye natürel siklus protokolü

Gonadotropin dozu seçimi:

300-450IU FSH veya HMG

Grup III. Bilinen / öngörülen yüksek yanıtı

Kriterler:

- 1.Ultrasonografide polikistik veya yoğun multikistik over görünümü
- 2.Polikistik over sendromu varlığı
- 3..AMH 'ın 3.5 ng/ml den büyük olması
- 4.Önceki tedavilere ait aşırı over yanıtı hikayesi
- 5..Ovarian hiperstimülasyon sendromu hikayesi

KOH protokol tercihleri:

- 1.Midluteal GnRH analogu baskısı ile uzun protokol
- 2.GnRH antagonisti protokolü

Gonadotropin dozu seçimi:

75-150 IU FSH veya HMG

Tablo 2: KOH prokolü ve gonadotropin başlangıç dozu seçimi

Klinisyenler arasında, düşük over rezervine veya zayıf over yanıtına sahip olan olgulara yaklaşım konusunda bir fikir birliği mevcut değildir. Bunun nedeni, hangi protokol uygulanırsa uygulansın zayıf yanıt veren olgularda ovarian cevabın büyük oranda değiştirilemeyeceği inancıdır (61,102). Bu olgularda gonadotropinleri belirli bir dozun üzerinde arttırmanın faydalı olmadığı gösterilmiştir (103,104). Çoğunlukla, zayıf over yanıtı olan olgular için kısa süreli GnRH analogu protokolleri veya antagonist protokolü tercih edilmektedir.

Zayıf over yanıtı olan olgularda KOH uygulamaları için farklı yaklaşımlar denenebilir. (61,102)

1.Gonadotropin dozunun arttırılması: Zayıf over yanıtı olan olgularda gonadotropin dozunun arttırılmasının elde edilen oosit sayısını anlamlı oranda arttırmadığı, buna karşın siklus maliyetini belirgin düzeyde yükseldiği bilinmektedir (103). Klinkert ve ark'nın çalışmasında bu tip olgularda düşük ve yüksek doz gonadotropin kullanımı randomize kontrollü olarak karşılaştırılmış ve klinik gebelik oranları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (104).

2.Gonadotropinlere LH eklenmesi: FSH değeri 9 IU /veya yaş 39'un üzerinde olan olgular ile daha önce zayıf over yanıtı alınan olgularda, özellikle de antagonist protokolü ile endojen gonadotropinleri baskılandığında, KOH'a LH eklenmesinin faydalı olabileceği ileri sürülmüştür (105). Ancak, Fabregues ve ark.'nın yayınladıkları randomize kontrollü çalışmada sadece FSH kullanan 60 olgu, FSH+LH kullanan 60 olgu ile karşılaştırılmış, klinik sonuçlar açısından gruplar arasında anlamlı bir bulunmamıştır (106).

3.Luteal fazda düşük doz GnRH analogu kullanımı (minidoz-ultraminidoz GnRH'a protokolleri): Zayıf yanıt veren olgularda overleri en az düzeyde baskılayacak şekilde analog protokolüne başlanarak uzun protokollün avantajlarından yararlanma yoluna gidilebilir (107). Cochrane analizinde bu tip olgularda antagonist ve analog protokolleri arasında anlamlı fark gösterilememiştir (108).

4.Luteal fazda başlanan GnRH analogunun gonadotropinlere başlandığında kesilmesi (Stop-Lupron protokolü): özellikle daha önceden öngörülemeyen zayıf

yanıtlı olgularda, gonadotropinlere olan yanıtta gecikme veya yetersizlik farkedildikten sonra analogun idame dozu kesilerek overler üzerindeki baskı kaldırılabilir (109,110). Ancak çoğu zaman yanıtı belirgin şekilde düzeltmediği gibi asenkroniteye yatkınlığı arttırabilir.

5.Luteal fazda estrojen kullanımı: 2011 yılında Smulders'in yayınladığı Cochrane analizinde farklı dizaynlara sahip çalışmaları birarada değerlendirilmiş; luteal fazda estrojen kullanımının klinik sonuçlar üzerinde etkisi olmadığı bildirilmiştir (111).

6. Kısa protokoller (co-flare ve mikrodoz protokolleri): Sbrasia ve ark.'nın her iki grupta yer alan 110 olgunun randomize kontrollü karşılaştırmasında, kısa ve uzun protokoller ile implantasyon ve klinik gebelik oranları açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır (112) Demirel ve Gürkan'ın 45'er olguyu karşılaştırdıkları randomize kontrollü çalışmada mikrodoz protokolünde antagonist protokolüne göre daha iyi klinik sonuçlar aldıkları belirtilmektedir (113).

7.Antagonist protokolü: Zayıf over yanıtı veren olgularda antagonist protokolünün, diğer protokollerden daha üstün olduğunu gösteren net bir veri bulunmamaktadır (114). Marci ve ark.'nın 60 zayıf over yanıtına sahip olguyu randomize ederek karşılaştırdıkları çalışmada, antagonist protokolünün, agonist protokolüne göre özel bir avantaj sağlamadığı görülmektedir (115). Kyrou ve ark.'nın bu döneme kadar yayınlanmış olan üç randomize kontrollü çalışma sonuçlarını birarada değerlendirdiği metaanalizde antagonist protokolünün, agonist protokolüne oranla daha başarılı sonuçlar vermediği izlenmekte, odds ratio antagonist lehine 1.03 (CI:0.45-2.39) olarak belirtilmektedir (116).

8.Klomifen sitrat veya letrozol kullanımı ile birlikte gonadotropin uyarısı: Weigert ve ark.'nın yaptıkları prospektif kontrollü çalışmada KOH'a klomifen sitrat eklenmesinin klinik sonuçları etkilemediği ancak siklus maliyetini belirgin derecede düşürdüğü saptanmıştır (117). Bedaiwy ve ark.'nın gerçekleştirdikleri randomize kontrollü çalışmada ise FSH ile birlikte letrozol kullanan 90 olgu, sadece FSH kullanan 69 olgu ile karşılaştırılmış, klinik sonuçlar arasında anlamlı fark gözlenmediği, ancak letrozol grubunda ihtiyaç duyulan toplam gonadotropin miktarının anlamlı olarak azaldığı bildirilmiştir (118). Mitwally ve Casper, letrozol kombinasyonunun klinik sonuçlar üzerinde olumlu etkisi olduğu iddia ederken,

Schoolcraft ve ark.'nın çalışmasında ise mikrodoz protokolü ile antagonist+letrozol kombinasyonu arasında anlamlı bir gözlenmediği rapor edilmiştir (119,120).

9.Adjuvan olarak düşük doz steroid, aspirin, heparin veya düşük molekül ağırlıklı heparin, büyüme hormonu, koenzim-Q veya DHEA kullanımı:Düşük over rezervine sahip olan olgularda uzun yıllarda çok farklı adjuvan ilaçların kullanımı denenmiş ancak hiçbirisine ait güvenilir bilimsel bir kanıt elde edilememiştir. Koenzim-Q dışında tüm adjuvan ajanların yan etkileri olduğu akılda tutulmalı, yeterli bilimsel kanıt olmadıgı sürece kullanımlarından kaçınılmalıdır (121-127).

10. Natürel siklusta IVF: Zayıf yanıtı Olgular için bir diğer alternatif natürel siklusta ICSI uygulamasıdır. Bu uygulamada hiç ilaç vermeden ve ovulasyon uyarısı yapmadan, doğal siklusta gelişen tek veya nadiren iki follikül takip edilmekte ve bu follikülden elde edilen oosit ile IVF/ICSI uygulaması gerçekleştirilmektedir (128,129). Amerikan Hastanesi kliniğinde gerçekleştirilen bir çalışmada, natürel siklus sonrası elde edilen tek embriyonun transferi ile farklı KOH uygulamaları sonrası transfer edilebilecek kalitede tek embriyoya sahip olguların sonuçları karşılaştırıldığında, natürel siklus ile tek embriyo transferinin anlamlı derecede daha başarılı sonular verdiği gözlenmiştir (130).

2.5. Follikül Gelişiminin Monitorizasyonu

Monitörizasyonda esas olarak iki yöntemden faydalanılmaktadır; ultrasonografi (USG) ile follikül gelişiminin takibi ve gelişme gösteren folliküllerden salgılanan estradiol (E2) seviyesinin tayini. Ultrasonografi ve E2 değerlerinin günlük takibi ile folliküler gelişimin hızı ve yeterliliği izlenmektedir. Takibinin sadece USG ile izlenmesi mümkün olmakla birlikte, özellikle polikistik over sendromu gibi folliküler gelişimin gonadotropin uyarısına çok hassas olduğu olgularda, E2 değerleri bilinmeden takibin emniyetli bir şekilde gerçekleştirilmesi mümkün değildir. Takipte bazı günlerde sadece E2 değerlerinin görülmesi, bazı günlerde ise sadece USG yeterli olabilir. Ancak monitörizasyonda her iki kriterin kombine edilerek kullanılması ile ovulasyon indüksiyonunda hem verim arttırılabilir, hem de yüksek güvenilirlik sağlanabilir.

Vajinal USG follikül gelişiminin izlenmesinde çok önemli bir yer teşkil etmektedir. Follikül boyutunun izlenmesi ve ovulasyonun tetiklenmesi için zamanlamanın tayini, USG bulgularına göre yapılmaktadır, Bununla birlikte ovulasyon induksiyonu veya KOH amacıyla kullanılacak olan başlangıç gonadotropin dozunun belirlenmesi, kohort süresince follikül gelişimine göre dozun ayarlanması, iyi veya kötü cevap verecek bir overin tanımlanması, hCG ve sonrası uygulamaların mekanizması ve OHSS riskinin tayini gibi pek çok basamakta USG temel karar kriterini oluşturmaktadır. Bu nedenle başarılı siklus yönetiminin ilk şartı, başarılı ve uyumlu follikülometri takipleridir. Matür follikül ölçümü için kabul edilen kriter follikülün, içten içe 17-19 mm'lik ölçüme ulaşmasıdır. Her klinisyen, özellikle ilk uygulamaları sonrasında, hCG ile ovulasyonun tetiklenmesi için belirlediği follikül boyutunun doğru olup olmadığını, laboratuardan elde edilen oositin morfolojisi ve matürasyonunu sorgulayarak, zamanlama konusunda doğru kararlar verip vermediğini kontrol etmelidir.

Son yıllarda ultrasonografik üç boyutlu USG yardımı ile overdeki hipoeoik bölgeleri tanıyarak, boyutları, ortalama çapı ve hacmi hesaplayan ve her hacmi farklı renkte kodlayarak görsel olarak değerlendirmeyi kolaylaştıran otomatik hacim ölçümü (SonoAVC) teknolojisi de gündeme girmiştir. Özellikle uygulama sayısı yüksek olan, çok sayıda klinisyenin çalıştığı merkezlerde ölçümlerin stardardizasyonu, optimizasyonu ve öğrenme sürecinin kısaltılması yönünden faydalı olması beklenmektedir (131,132).

Follikülometrinin son aşamasında uterus ve endometrium da gözden geçirilerek endometrial gelişim ve bu gelişimin follikül boyutları ile olan uyumu izlenir. Endometrium çift duvar kalınlığı ve ekojenik yapısı belirlenir. Endometriumun siklus seyri sırasında proliferatif ekojenite sergilemesi ve kalınlığında artış gözlenmesi beklenmektedir.

Siklus süresince artan E2 seviyesinin etkisi ile endometrial kalınlığın arttığı dikkat çekmektedir. Yardımcı üreme tekniklerinde endometrium kalınlığı ile gebelik sonuçları arasında anlamlı ilişki olduğu bilinmektedir. Endometrium kalınlığının 7 mm'nin altında olduğu olgularda gebelik oranının anlamlı oranda düşük olduğu, endometrium kalınlığının 5 mm ve altında olduğu olgularda ise gebelik elde

edilemediği gözlenmiştir (133). Ayrıca endometrial kalınlığın artışı ile implantasyon oranlarının bozulmadığı, implantasyon açısından risk taşıyan bir üst kalınlık sınırının mevcut olmadığı saptanmıştır (134).

Normal sınırlar içinde ilerleyen bir siklusta, geç folliküler fazda E2'nin birgün önceki değerine oranla %50 civarında artması, folliküllerin ise 1-3 mm/gün civarında büyümeleri beklenir (51). Yapılacak olan doz ayarlamaları ile E2 artışları bu sınırlar arasında tutulmaya çalışılır. Amaç belli bir siklus yönetim şeklini tüm hastalara uygulamak değil, folikül gelişimine göre gerekli düzenlemeyi yaparak her hasta için yeterli sayıda ve matürasyonda oosit elde etmektir.

Folliküller yeterli büyüklüğe ulaşmadan yüksek E2 değerlerine ulaşıldığı takdirde ovarian hiperstimülasyon (OHSS) riskinden korunmak amacı ile uygulanabilecek yöntemlerden biri gonadotropin kullanımına ara vererek siklusu kendi seyrine (coasting) bırakmaktır (135). Bu durum kontrollü bir follikül atrezisi getirecektir. Analoğa devam edildiği halde gonadotropin uyarısının kesilmesi, günler içerisinde önde giden foliküllerde büyümenin devam etmesine rağmen, E2 seviyesinin emniyetli seviyeye (<3500 pg/ml) düşmesine neden olacaktır. E2 emniyetli değere indikten sonra ovulasyon tetiklenerek follikül aspirasyonu yapılır. Coasting uygulaması OHSS riskini belirgin şekilde azaltmakta ancak tamamen engellememektedir (136). Ancak coasting süresinin uzaması halinde atreziye giden follikül sayısı artacağından, hastadan elde edilen oosit sayısı oldukça kısıtlı olabilir. Bu nedenle coasting rutin bir uygulama olarak algılanmamalı, riski olgularda folikül boyutları göz önüne alınarak tahmini ovulasyonun tetiklenmesi günü belirlenerek, kontrollü doz azaltmaları (step-down) ile mümkün olduğunca E2 artışı azaltılmaya çalışılmalı, buna rağmen katlayarak artışlar devam ediyorsa son çare olarak coasting uygulamasına başvurulmalıdır. Coasting uygulamasının erken dönemde (foliküller 14 mm'nin altında) başlatılması halinde şiddetli bir follikül atrezisi, folikül gelişiminin yavaşlaması ve az sayıda folikülün gelişime devam etmesi riski mevcuttur. Coasting süresinin uzaması halinde derin E2 düşüşleri ile karşılaşmak mümkündür (137,138). KOH uygulamalarında, gonadotropin indüksiyonuna başlanan günden ovulasyonun tetiklenmesi gününe kadar geçen süre 10-12 gündür. Bu süre düşük over rezervi olan veya aksine gonadotropin eşik değeri yüksek olan

geç cevaplı PCO vakalarında uzayabilmektedir. kohortun 10 günden kısa veya 12 günden uzun olduğu olgularda oosit kalitesi olumsuz yönde etkilenebilmektedir. (139). Klasik olarak önden gelen folliküllerin 17-19 mm boyutlarına ulaştığı dönemde ovulasyonun tetiklenmesi ile matür oositler elde edileceği kabul edilir. Ancak matür oosit elde edilmesi için gerekli follikül boyutu her merkezde follikül gelişimini takip eden hekim tarafından yeniden değerlendirilmelidir. Klinik takip bulguları ve ovulasyonun tetiklenmesi, elde edilen oositlerin disseksiyon ve hyaluronidaz öncesi kumulus yapısı ve oositin morfolojik bulguları ile karşılaştırılarak klinik-laboratuvar kontrolü sağlanmalıdır. Öncü olarak gelişen matür foliküller ile arkadan gelen intermediate foliküller arasındaki ölçüm farkı büyükse 3 veya 4 tane matür oositin yanısıra çok sayıda immatür oosit elde edilebilir. Bu nedenle gelişen foliküllerin mümkün olduğunca yakın büyüklükte ve senkronize olup olmadığına dikkat edilmelidir. Gerekirse, erken gelişen ve arkadaki asıl büyük gruptan kopan birkaç folikülün postmatür ölçülere ilerlemesine izin verilerek, ikinci grubun olgunlaşması beklenerek ovulasyon tetiklenebilir. Folikül büyüklüğünün yanı sıra E2 değeri de gelecek oositlerin matüritesi hakkında bilgi verebilir.

Düşük E2 değerlerinde sadece matür ve matüre yakın ölçülerdeki öncü foliküllerden olgun oosit geldiği görülürken, yüksek E2 değerlerinde olgun oosit elde edilen folikül boyutlarının 12 mm'ye kadar indiği görülmektedir.

2.6. Ovulasyonun Tetiklenmesi

Foliküllerin matür oosit barındıracak büyüklüğe ulaştığına karar verildiğinde ovulasyon tetiklenir. Burada amaç oluşturulan LH piki etkisi sayesinde ovulasyonun gerçekleştirilmesi değil, oositin metafaz-II safhasına geçişini uyarmaktır. Son yıllara kadar bu amaçla 5000-10.000 ünite üriner kaynaklı hCG kullanılmıştır. Son yıllarda rekombinant DNA teknolojisinin gelişmesi ile saf hCG ve LH üretilmiş olup, ovulasyonun tetiklenmesinde 250 mikrogram rekombinant hCG veya 82,5 ünite rekombinant LH da kullanılabilir. Benzer şekilde antagonist sikluslarında son aşamada GnRH analogu kullanılarak, flare etkisinden yaralanmak suretiyle ovulasyon tetiklenebilir. Bu amaçla GnRH analogu kullanımının avantajı, hCG'nin uzun süreli ve potent etkisinden uzak kalınarak OHSS riskinin azaltılması, dezavantajı ise GnRH analogunun baskın luteolitik etkisi nedeni ile daha yüksek

dozda lüteal destek yapılmasına gerek duyulmasıdır (140). Galindo ve ark.'nın 257 oosit donasyon siklusu üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada hCG grubunda 10 olguda OHSS saptanırken GnRH analogu ile ovulasyonun tetiklendiği grupta hiç bir olguda OHSS gözlenmediği vurgulanmaktadır (141). Toftager ve arkadaşlarının 2016'da yayınladıkları 1050 olguyu değerlendiren randomize kontrollü çalışma antagonist kullanımının OHSS riskini hCG'ye oranla anlamlı derecede azalttığını ortaya koymaktadır (142), Ovulasyonun tetiklenmesi amacı ile tercih edilen ajanlar, kullanım yolları ve dozları Tablo 3'te özetlenmektedir,

Tablo 3: Ovulasyonun tetiklenmesi amacı ile kullanılan ajanlar

Ajan	Kullanım yolu	Doz
Üriner hCG	Intramuskuler	5000-10.000 ünite
Rekombinat hCG	Subkutan	250 mikrogram
Rekombinant LH	Subkutan	82,5 ünite
Leuprolide asetat	Subkutan	1 mg
Buserelin asetat	Subkutan/intranazal	0.5 mg
Triptorelin	Subkutan	0.2 mg

Son yıllarda daha az gonadotropin uyarısı ile en fazla sekiz oosit elde etmeyi hedef alacak şekilde daha hafif bir stimülasyon yapılması önerilmektedir (143). Hafif stimülasyon sayesinde hastanın Yüklendiği maddi külfetin ve psikolojik stresin azaltılması, OHSS gibi komplikasyonların riskinin minimalize edilmesi ve az sayıda embriyo transferi ile çoğul gebeliklerin ortadan kaldırılması hedeflenmektedir. Keza çoğul gebeliklerin komplikasyon oranlarının yüksek olması ve erken doğum gibi nedenler ile maliyetin artması nedeni ile pekçok ülkede transfer edilen embriyo sayısının kısıtlanması yoluna gidilmektedir. Ülkemizde de Sağlık Bakanlığı'nın Mart 2010 tarihinden itibaren geçerli olan talimatnamesi uyarınca 35 yaşından genç olgularda tek, 35 yaş üzeri olgularda ise iki embriyo transferi yapılmaktadır (12). Gelecekte embriyoloji laboratuvarlarının ve in-vitro kültür şartlarının daha da geliştirilmesi ve gebelik potansiyeline sahip embriyoların daha etkin şekilde seçilebilmesi sayesinde, daha az sayıda oositin başarılı bir sonuç için yeterli olacağı ve KOH uygulamalarında çok daha hafif stimülasyonların gerçekleştirileceği öngörülebilir.

2.7. Follikül aspirasyonu

Ovulasyonun tetiklenmesini takiben 34-36 saat sonra follikül aspirasyonu (oocyte pick-up, OPU) işlemi gerçekleştirilir. GnRH analogları ile gerçekleştirilen bir KOH uygulamasında ovulasyonun tetiklenmesini takiben 38 saatten önce ovulasyon beklenmez. Ancak bu ilacın doğru saat ve dozda uygulanması gerektiği bilgisi çiftte önemle hatırlatılmalıdır. Oosit toplama işlemi, ilk başlarda genel anestezi altında ve laparoskopi ile yapıldığından, her iki uygulamanın taşıdığı riskleri beraberinde getirmekteyken günümüzde son derece basit ve komplikasyonu az olan bir işlem haline gelmiştir. Bu gelişimin temel nedeni görüntüleme tekniklerinde kaydedilen aşamadır. Transvajinal ultrasonografinin yaygın kullanıma girmesi ile OPU, günümüzde tüm yardımcı üreme teknikleri merkezlerinde lokal anestezi altında ve transvajinal ultrasonografi rehberliğinde yapılmaktadır. Her iki lateral fornikse yapılacak olan lokal anestetik uygulaması ve intravenöz sedasyon genelde yeterli olmaktadır. Nadiren işlemi tolere edemeyen, ya da overlerin pozisyonu nedeni ile işlemin zor olacağı öngörülen hastalarda genel anestezi gerekebilir. İşlem öncesi vajen serum fizyolojik veya özel olarak formüle edilmiş dengeli solüsyonlarla irrigasyon edilir. Antiseptik olarak povidin-iyot da kullanılabilir ancak antiseptik bol irrigasyon ile tamamen temizlenmelidir (144). İşlem 16-17G follikül aspirasyon iğnesi ile gerçekleştirilir, İğne tek veya çift lümenli olabilir. Çift lümen aspirasyon-irrigasyon işlemini kolaylaştırmaktadır. Follikül sıvısı 120 mmHg'yı geçmeyecek bir negatif basınç ile aspire edilir, aspiratta oosit gözlenmediği takdirde follikül içerisi özel dengeli solüsyonlarla irrigasyon edilerek mükerrer aspirasyon-irrigasyon ile oosit eldesi gerçekleştirilir (145).

OPU temelde basit bir işlem olmakla birlikte, overlerin aşırı derecede mobil olduğu yada uterusun arkasında bulunduğu olgularda işlem sırasında güçlük yaşanabilmektedir. Bu gibi durumlarda tenakulum yardımı ile uterus aşağıya doğru çekmek veya transuterin olarak overe ulaşmak gerekebilir (146,147). Ultrasonografide yeterli sayıda olgun oosit bulunduğu halde OPU esnasında oosit bulunamaması zaman zaman söz konusu olabilir. Boş follikül sendromu (empty follicle syndrome) adı verilen bu durum çoğu zaman insan faktörüne bağlı hatalardan kaynaklanmaktadır. hCG enjeksiyonunun yanlış zamanda ya da miktarda yapılması en sık karşılaşılan nedendir (148). Boş follikül sendromu olan hastalarda oosit aspire

edilemediği zaman diğer overe geçmeden işleme son vermek ve ek bir hCG enjeksiyonu yapıldıktan 24-36 saat sonra işlemi tekrarlamak, fertilize olabilir oosit elde etmek açısından en uygun yaklaşım şeklidir. Nadiren, mayotik bölünme aşamasında görülen genetik kaynaklı bir blok sebebiyle de oosit elde edilmesi mümkün olmayabilir (149,150).

Oosit toplama işleminin komplikasyon oranı oldukça düşüktür. En sık karşılaşılan komplikasyon OPU iğnesinin geçtiği lateral fornikslerden olan kanamalardır (151,152), Bu kanamalar tamponlama ile kolaylıkla durdurulabilir. Çok nadiren barsak, mesane, damar gibi komşu organ yaralanmaları görülebilir. Nadir karşılaşılan bir başka komplikasyon da pelvik absedir. Endometrioma varlığı, içerdiği kanın uygun besi yeri olması nedeni ile pelvik abses açısından önemli bir risk faktörüdür (153,154). OPU esnasında endometrioma içine girildiğinde vajinal flora inoküle olduğundan risk artmaktadır. Lokal anestezi altında transvajinal OPU, genelde tolere edilmesi kolay, nispeten daha az invazif ve komplikasyon olasılığı düşük bir işlemdir.

2.8.Luteal faz desteği

KOH ve follikül aspirasyonu gerçekleştirilen hastalarda relatif bir lüteal yetmezlik oluşmaktadır, Bunun nedeni GnRH analogu kullanan hastalarda analogun baskılayıcı etkisi nedeni ile korpus luteum üzerine LH uyarısı olmaması, analog kullanmayan olgularda ise follikül aspirasyonunun travmatik etkisi ile korpus luteumlardan yeterli progesteron salgısının olmayacağı düşüncesidir. GnRH analogu ile birlikte gonadotropinler ile yapılan kontrollü ovarian hiperstimülasyon sikluslarında olguların %49'unda luteinize edici hormon seviyeleri düşük olarak bulunmaktadır ve bu hasta grubunda erken gebelik kayıpları beş kat fazla gözlenmektedir (78). Bu amaçla follikül aspirasyonun ertesi gününden itibaren mikronize veya yağda progesteron veya hCG (oral, vajinal veya intramuskuler yol ile) kullanılır. Oral kullanımının vajinal veya İM yol ile kullanıma oranla yeterli düzeyde etkili olmadığı, pelvik seviyede yeterli progesteron konsantrasyonu sağlayamadığı ve klinik sonuçları daha düşük olduğu görülmüştür. İntrarnusküler progesteron gürde 1 yada 2 defa 25 mg. olarak uygulanırken intravajinal kullanımda gürde 3 defa 200 mg,

şeklinde verilir. hCG ise üç günde bir 1500-2000 IU uygulanır. Progesteron ya da hCG'nin sonuçlar açısından birbirine üstünlüğü yoktur, ancak hCG ovarian hiperstimülasyon sendromu riskini arttırdığından kan estradiol değeri 2500 pg/ml üstünde olan hastalarda kullanılmamalıdır (155). Antagonist protokollerinde ovulasyonun tetiklenmesi amacıyla GnRH analogu kullanıldığında daha etkin luteal desteğe ihtiyaç duyulduğu görülmektedir. Bu olgularda analoge ek olarak düşük doz hCG (1500 IU) veya daha yüksek doz progesteron kullanımı düşünülebilir. Luteal desteğin optimal süresi tam olarak belirlenmemiş olmakla birlikte genellikle gebeliğin 10-12. haftasına devam edilir. Bu dönemden itibaren korpus luteumun progesteron salgısı fonksiyonunu plasentaya devrettiği kabul edilir .

2.9 Ovarian hiperstimülasyon sendromu

Kontrollü ovarian hiperstimülasyon uygulamasının en önemli komplikasyonu ovarian hiperstimülasyon sendromudur (OHSS). Overlerin aşırı yanıt vermesi veya gerektiğinden fazla uyarılması sonucunda oluşan bir tablodur. Multipl folliküllerden özellikle LH veya hCG sonrası luteinizasyon ve vaskülarizasyon artışını takiben yoğun şekilde salgılanan vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) tetiklenmesi ile endotel permabilitesinde değişiklikler, renin anjiotensin sisteminin uyarılması ve intravasküler volumun hızlı bir şekilde ekstrasvasküler boşluğa geçişi ve çok yüksek estrogen seviyeleri ile karakterizedir. Tablo batin içerisinde hafif sıvı koleksiyonundan yaygın asit, şiddetli perikardial effüzyon, anüri, hemokonsantrasyon venöz trombüs şok, kardiyak yetmezlik ve kollapsa kadar değişen çok geniş bir yel şeklinde karşımıza çıkabilir.

OHSS'nin önlenmesinde en önemli basamak riskli hastanın belirlenmesi ve overlerin aşırı uyarılmasından kaçınılmasıdır (156). Eğer over yanıtı baştan iyi öngörülemez ve KOH sırasında OHSS riski yaratacak bir gelişme görülürse gonadotropin uyarısı keserek tedaviye devam etmek (coasting uygulaması), siklusu iptal etmek ve hCG uyarısından kaçınmak alternatifleri dikkatlice değerlendirilmelidir, Risk alınarak ovulasyonun tetiklenmesi düşünülüyorsa hCG'den ziyade GnRH analogları tercih edilmelidir. Tablonun gelişeceği fark edilmez veya iyi öngörülmeden ovulasyon tetiklenirse klinik tablonun kontrolü güçleşecektir. Hasta çok sıkı takip edilmeli, intravasküler sıvı kaybını dengeleyen parenteral sıvılar (albümin, hidroksietil-nişasta

solüsyonları gibi) kullanılmalıdır. Son dönemde patofizyolojinin temelinde görev alan VEGF'in baskılanmasına yönelik olarak bir dopamin agonisti olan kabergolin kullanımı başarılı bir yöntem olarak ortaya çıkmaktadır (157). Kabergolinin, riskli hastalarda tablo tam oturmadan önce kullanımına başlanması başarısını arttırmaktadır (158).

OHSS genellikle kendini sınırlayan ve gebelik olmadığı takdirde 7-10 gün içerisinde spontan olarak gerileyen bir tablodur. Ancak embriyo transferi ile gebelik elde edilmesi, buna bağlı yeniden giderek artan seviyelerde hCG uyarısının başlaması tablonun gerilemesini geciktirebilir veya çok şiddetlendirebilir. Bu nedenle çok riskli olgularda tüm embriyoların dondurularak saklanması ve embriyo transferinin iptali iyi bir seçenektir.

Yüksek riskli görünen veya daha önce şiddetli OHSS hikayesi olan olgularda gonadotropin ile uyarılmadan overlerden antral folikül aspirasyonu yapılması ve elde edilen inmatür oositlerin in-vitro maturasyon ile geliştirilerek yardımcı üreme teknikleri ile kullanılması alternatifi değerlendirilmelidir, In-vitro maturasyon tekniği konvansiyonel tekniklere göre daha düşük gebelik oranı sağlanmasına karşın OHSS riskini ortadan kalkması önemli bir avantaj yaratmaktadır.

2.10. Gamet hazırlanması ve kültürü

OPU işlemi sırasında aspire edilen folikül içeriği hemen laboratuvara gönderilir. Laminer flow altında bir inverted mikroskop ile incelenen bu sıvının içinde bulunan oosit kültür sıvısının içine konarak inkübatöre kaldırılır. İnkübatör, sıcaklığı 37 C, karbondioksit oranını da %5-6 düzeyinde sabit tutar. Matür oositler 4-6 saat sonra fertilizasyon için hazır hale gelmektedir. Oositlerin matür olmadığı durumlarda ise 30 saate kadar beklenebilir. Oositin matür olup olmadığı çevresindeki kümülüs-korona hücre kompleksinin morfolojisi, germinal vezikülün parçalanıp parçalanmaması ve birinci polar cisimciğin atılıp atılmamasına göre değerlendirilmektedir. Matür olan metafaz II oositlerde, kümülüs-korona hücreleri oositin çevresinde homojen bir yayılım gösterirken, germinal vezikül parçalanmış ve birinci polar cisimcik atılmıştır. KOH sonrası çapı 18-22 mm arasında olan foliküllerin yaklaşık %80'inden metafaz II oosit elde edilir. Geri kalan %20 oosit ise metafaz I ya da germinal vezikül (GV) evresindedir (148). Standart IVF ortamlarında

kültüre edildiklerinde metafaz I oositlerin yaklaşık %50'si ve GV'lerin %20'si 24 saat içinde spontan olarak metafaz II evresine ulaşmaktadırlar (160). Ancak bu tür oositlerin fertilizasyon yetenekleri kısıtlı ve gelişen embriyoların gebelik oluşturma şansı daha düşük olmaktadır.

2.11 Fertilizasyon

Kadından oositlerin toplandığı esnada erkek de sperm verir. Sperm alınması için en ideal yöntem mastürbasyondur. Ejekulatında canlı sperm bulunamayan kişilerde ise cerrahi olarak epididim veya testisten sperm elde edilir. Elde edilen semen özel bir kap içine alınır ve likefiye olması beklenir. Likefiye olan semen, sperm sayısı, hareketliliği ve morfolojisi yönünden incelenir. IVF planlanan hastalarda en önemli kriter progresif hareketli sperm sayısıdır. İncelenen sperm fertilizasyon için hazırlanır. Sperm hazırlaması iki nedenden dolayı önemlidir. Bunlardan birincisi seminal plazmada bulunan yabancı proteinleri temizlemek. ikincisi ise akrozom reaksiyonunu indükleyerek hiperaktivasyon sağlamaktır.

Oosit kültürü ve sperm hazırlanması tamamlandıktan sonra fertilizasyon işlemine geçilir. Eğer IVF planlanıyor ise oosit başna 20.000 sperm ile inseminasyon yapılır. Sperm parametrelerinin bozuk olduğu durumlarda bu sayı arttırılabilir. Erkek faktörü varlığında veya nedeni açıklanamamış infertilite olgularında ICSI tercih edilmelidir. Bu uygulamada her bir oosit içerisine mikromanipülatör yardımı ile bir sperm enjekte edilir.

Mikroenjeksiyon ya da in-vitro fertilizasyon tekniklerinden hangisi tercih edilirse edilsin, 16-18 saat sonra iki pronukleus, yani fertilizasyon olup olmadığı araştırılır.

2.12. Embriyo kültürü ve seçimi

Elde edilen embriyolar inkübatörler içerisinde gerekli CO2 basıncı, nem ve sıcaklık şartları sağlanarak uygun in-vitro kültür ortamında 2-5 gün süre ile geliştirilirler. Birden fazla embriyo elde edilmesindeki amaç, bir kohort içerisinde en hızlı büyüyen ve gebelik sağlama açısından en yüksek potansiyele sahip olan embriyo veya embriyoların seçilmesi, diğer iyi kalitedeki embriyoların ise dondurularak daha sonra kullanılmak üzere saklanmasıdır. Embriyoların kalitesini ve gebelik sağlama potansiyelini gösterdiğine inanılan ve seçimlerinde kullanılan kriterler şu şekilde özetlenebilir (161):

1. Pronukleus morfolojisi ve skoru
2. Klivaj hızı
3. Blastomer sayısı
4. Blastomerleri birbiri ile olan ilişkisi
5. Blastomerler arası fragmanların yoğunluğu ve dağılımı
6. Multinuclear blastomer varlığı
7. Blastokist morfolojisi
8. Hatching varlığı (embriyonun kendisini saran zona pellusida zarının dışına çıkması)

Bu kriterlerle birlikte bazı invaziv ve noninvaziv yöntemlerle de embriyonun sağlığı ve gebelik oluşma potansiyeli değerlendirilebilir. Faydası ve güvenilirliği henüz net olarak kanıtlanmamış olan bu yöntemler ise şu şekilde sıralanabilir:

1. Blastomer biopsisi ve anöploidi taraması
2. Blastomerde mitokondrial DNA kontent analizi
3. Embriyonun içinde bulunduğu kültür ortamında yapılan analizler
 - a. HLA-G ekspresyonu
 - b. Metabolomik analizler
4. Embriyo gelişiminin (time-lapse) video kaydı ile monitorizasyonu

2.13. Embriyo transferi

2.13.1 Transfer zamanı

Elde edilen embriyolar pronükleer fazdan blastokist aşamasına kadar herhangi bir dönemde transfer edilebilmekle beraber, en sık tercih edilen transfer zamanı embriyo

gelişiminin 3. günü, embriyonun 6-8 hücreli olduğu aşamadır. Transfer günü ile klinik gebelik oranları açısından anlamlı bir fark bulunmamasına karşın, geç dönemde transferin avantajı, in-vitro ortamda daha iyi gelişme gösteren ve daha viable olması muhtemel embryoların seçilebilmesidir. Bazı çalışmacılar üçüncü ve beşinci gün transferi arasında anlamlı fark olmadığını savunurken diğerleri blastokist transferi ile özellikle implantasyon oranlarının anlamlı şekilde arttığını ileri sürmektedirler (161,162). Blastokist transferinin en önemli avantajlarından biri klinik gebelik oranlarını etkilemeden, daha az sayıda embriyo transfer edilmesine olanak tanınmasıdır. Transfer edilen embriyo sayısı azaldıkça yardımcı üreme tekniklerinin en önemli komplikasyonlarından biri olan çoğul gebeliklerin görülme sıklığı da azalmaktadır. Embriyo kalitesi, başarıyı etkileyen en önemli faktörlerden birisidir (161). En az bir tane grade I ya da 2 blastokist transfer edildiğinde gebelik oranları çok yükselmektedir. Hangi olgularda embriyoların blastokist aşamasına kadar ilerletileceğine karar verirken dikkat edilmesi gereken ana kriter üçüncü gündeki blastomer sayısıdır. 72. saatte altı - sekiz hücre aşamasına gelen embriyolar blastokist transferi için en uygun adaylardır.

2.13.2 Transfer edilecek embriyo sayısı

Yardımcı üreme tekniklerinde transfer edilen embriyo sayısı ile klinik gebelik oranları arasında direkt bir ilişki mevcuttur. İki den fazla sayıda embriyo transfer edildiğinde çoğul gebelik oranları oldukça yükselmektedir ancak bu risk artan kadın yaş ile birlikte azalmaktadır. Çoğul gebeliklerde maternal ve fetal morbiditedeki artış nedeni ile pek çok ülkede transfer edilen embriyo sayısının kısıtlanması yoluna gidilmektedir. Ülkemizde Sağlık Bakanlığı'nın Mart 2010 tarihinden itibaren geçerli olan talimatnamesi uyarınca 35 yaşından genç olgularda tek, 35 yaş üzeri olgularda ise iki embriyo transferi yapılmaktadır. Genç olgularda iki kez tek embriyo transfer edilmesine karşın gebelik elde edilemez ise sonraki uygulamalarda iki embriyo transferi yapılabilir (163).

2.13.3 Transfer tekniği

Embriyo transferi için tercih edilen yöntem litotomi pozisyonunda, dolu mesane ve transabdominal ultrasonografi rehberliğinde transservikal yaklaşımdır. Transfer

sırasında hastanın diz-dirsek pozisyonunda olmasının litotomi pozisyonuna bir üstünlüğü yoktur. Embriyoların Fallop tüpleri içine bırakılması tekniği (ZİFT) hem daha invazif olması hem de klinik gebelik oranlarında iyileşme sağlamaması nedeni ile günümüzde neredeyse terk edilmiştir. Transservikal transfer için değişik marka ve tiplerde kateterler mevcut olmakla birlikte gebelik oranları açısından kateterler arasında anlamlı bir fark yoktur (164). Endoservikal kanalın çeşitli nedenler ile geçilemediği nadir durumlarda transuterin yaklaşım denenebilir. Transfer sırasında dikkat edilmesi gereken nokta fundusta travma yaratmamak ve embriyoları fundusun yaklaşık 1 cm altına bırakmaktır. Uterin manipülasyona gerek duyulduğunda üterin kontraksiyonları tetiklenecek ve gebelik şansı olumsuz yönde etkilenecektir. Aynı şekilde transfer kateterinde kan görülmesi, fundusa değilmesi ve kateterin kıvrılması gebelik şansı belirgin derecede azaltmaktadır (165,166).

Transfer sırasında spekulumun serviksi en iyi şekilde göreceği şekilde yerleştirilmesi gerekir. Uygun olmayan spekulum serviksin görüntülenmesini zorlaştıracağı gibi uterus pozisyonunu da olumsuz yönde etkileyebilir. Vajen ve serviks özel dengeli solüsyonlar ile temizlenir ve servikal mukus uzaklaştırılır. Bu işlemler sırasında serviksin travmatize edilmemesine özen gösterilir. Transfer kateterinin yumuşak yapıda olması transfer başarısını arttıracaktır. Bazı vakalarda serviks-istmus arasındaki açının belirgin olması sebebiyle daha rijid kateterlerle ihtiyaç duyulabilir. Öncelikle steril bir prova kateteri ile servikal kanaldan kaviteye geçiş provası yapılır. Kateterin tipi ve servikal kanalda nasıl yol aldığı belirlendikten sonra laboratuarda embriyolar 20-30 mikrolitre transfer kültür ortamı içerisinde katetere yüklenir. Kateter ultrasonografik gözlem altında kavite içerisine yerleştirilerek embriyolar intrauterin boşluğa transfer edilir.

Transfer sonrasında 15-30 dakika süre ile yatak istirahati uygulanır, Embriyo transferi sonrası istirahatın sonuçları üzerine etkisi olmadığı bilinmektedir.

Klivaj evresi embriyo transferinden 12 gün, blastokist transferinden 10 gün sonra serum kantitatif beta-hCG ölçümü yapılır. Eğer test pozitif ise 2 gün sonra tekrarlanarak beta-hCG düzeyindeki artış kontrol edilir. Sağlıklı bir artış gözlenir ise 15 gün sonra hasta ilk gebelik ultrasonografisine çağırılır. Serum beta-hCG düzeylerinde sağlıklı artış gözlenmez veya değerlerin düşmeye başladığı görülürse ektopik gebelik açısından dikkatli bir takip yapılmalıdır.

2.14 Kriyoprezervasyon

Üremeye yardımcı tedavilerde elde edilen oosit ve spermiler ile transfer edilmeyen embriyolar daha sonraki tedavilerde kullanılacak şekilde dondurularak saklanabilir. Embriyo, gelişiminin her evresinde yavaş dondurma veya vitrifikasyon teknikleri ile dondurulabilmekte ve -196 derecede sıvı nitrojen içerisinde uzun yıllar korunabilmektedir. Ülkemizde embriyoların dondurularak saklanması, 1996 yılı Kasım ayında Sağlık Bakanlığı tarafından yayınlanan yönetmelik sonrasında uygulamaya başlanmıştır. Bu tarihten itibaren dondurulup çözülen embriyoların kullanımı ile çok sayıda canlı doğum ve devam eden gebelikler elde edilmiştir. Kriyoprezervasyon tekniklerinin başarı ile uygulanabilmesi hem kümülatif gebelik oranlarını arttırmakta ve hem de tedavi maliyeti düşürmektedir. Son 10 yıl içerisinde vitrifikasyon tekniklerindeki gelişmeler sayesinde dondurulmuş-çözülmüş oosit veya embriyolar ile aynı taze sikluslardakine benzer gebelik başarısı elde etmek mümkün hale gelmiştir (167). Sağlık Bakanlığı'nın 2014 tarihli yönetmeliği uyarınca şu şartlar dahilinde oosit veya embriyo kriyoprezervasyonu gerçekleştirilebilir (168):

- 1 . Embriyo transferi için gerekli olan sayıdan daha fazla embriyo elde edilmesi,
- 2 Yumurtalıkların aşırı uyarılması; ovarian hiperstimulasyon bulguları (OHSS) varlığı,
- 3 Endometriumun embriyo transferi için uygun olmaması,
- 4 Transfer günü ateşli hastalık veya herhangi bir başka hastalık nedeniyle teratojenik etkiye sahip olabilecek bir tedavi gerekliliği
- 5 Fertilite potansiyelini kaybetme riski yaratabilecek medikal veya cerrahi tedavi gerektiren durumlarda fertilitenin prezervasyonu
- 6 Over rezervi düşük olan veya ailesinde erken menopoz öyküsü olan kadınlarda fertilite potansiyelinin korunması

2.15. Preimplantasyon genetik tanı

Oosite ait polar cisimcikler, embriyoya ait blastomer hücreleri veya blastokiste ait trofoblast hücrelerinin biopsisi ile, oosit ve embriyonun genetik yapısı yüksek bir doğruluk payı ile belirlenebilmektedir. Preimplantasyon genetik tanı olarak adlandırılan bu uygulamada Polimeraz zincir reaksiyonu ve komperatif genomik

hibridizasyon teknikleri kullanılarak hücrede Down sendromu veya translokasyonlar gibi yapısal ve sayısal kromozom anomalileri ile birlikte talasemi gibi çok sayıda tek gen hastalığı araştırılabilir. PGT ülkemizde 1998 yılından başarıyla uygulanmaktadır (169). Özellikle parental genetik hastalık taşıyıcılığı (translokasyon veya tek gen hastalığı gibi sayısal veya yapısal kromozom bozuklukları), gibi durumlarda blastokist aşamasındaki embriyonun trofoblastik hücrelerinden alınan örnekler genetik olarak incelenir ve normal yapıda olduğu belirlenen embriyoların anneye transferi ile sağlıklı gebelikler elde edilebilir. Ne var ki preimplantasyon genetik tanının, yardımcı üreme teknikleri uygulanan ve fetal anöpoidi riski artmış olan ileri maternal yaşa, tekrarlayan erken gebelik kayıplarına veya tekrarlayan implantasyon başarısızlığına sahip olan olgularda anöploid taraması amacıyla uygulanmasının, tedaviye başlatılan hasta veya siklus başına gebelik şansını veya sağlıklı doğum oranlarını belirgin düzeyde arttırmadığı görülmektedir (170-172).

2.16. Yardımcı üreme teknikleri sonuçlarının değerlendirilmesi

Tedavi sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılan temel kriterler şunlardır:

- 1. Siklus başına gebelik oranı:** Tedaviye kabul edilen ve KOH gerçekleştirilen hastaların içerisinde gebelik elde eden hastalar değerlendirilir.
- 2. OPU başına gebelik oranı:** OPU işlemi gerçekleştirilen hastaların içerisinde gebelik elde eden hastalar değerlendirilir (KOH sonucunda yetersiz follikül gelişimi veya prematür ovulasyon nedeniyle iptal edilen hastalar değerlendirme dışında bırakılır)
- 3. Embriyo transferi başına gebelik oranı:** Embriyo transferi yapılan hastaların içerisinde gebelik elde eden hastalar değerlendirilir (OPU sonrası matür oosit elde edilemeyen, fertilizasyonu olmayan veya transfer edilecek sağlıklı embriyosu bulunmayan hastalar değerlendirme dışı bırakılır)
- 4. Klinik gebelik oranı:** Embriyo transferi yapılan hastalar içerisinde gebelik gözlenen ve 7. hafta ultrasonografisinde fetal kalp atımları izlenen hastalar değerlendirilir. (ilk beta-hCG testi pozitif çıktıktan sonra kan değerleri düşen ve biokimyasal abortus olarak kabul edilen hastalar değerlendirme dışı bırakılır)

5. İmplantasyon oranı: Hastalara transfer edilen toplam embriyolar içerisinde fetal kalp atımları müspet olarak izlenen embriyolar değerlendirilir.

6. Eve götürülen bebek oranı: Embriyo transferi yapılan hastalar içerisinde eve canlı bebek doğumu ile dönen hastalar değerlendirilir.

Yardımcı üreme tekniklerinde temel hedef sadece gebelik elde etmek değil, sağlıklı bebeklerin doğmasıdır. Bir tedavi merkezinin gerçek başarısını gösteren kriter implantasyon oranı ve eve götürülen canlı bebek oranıdır (173,174). İmplantasyon oranı, uterus kaviteye yerleştirilen II. infertilite her bir embriyonun gebelik oluşturma potansiyelini gösterir. İmplant edilen embriyo sayısı artırılır. Bu durum çoğul gebeliklerin artmasına yol açacaktır. implantasyon oranı ne kadar yüksek ise gebelik o kadar korunacak, çoğul gebelik risk ise o derece azalacaktır. çoğul gebelik bir başarı değil aksine bir komplikasyon olarak değerlendirilmez.

3. MATERYAL VE METOD

Ondokuz Mayıs Üniversitesi IVF merkezinde Ocak /2015 to Aralık/2018 tarihleri arasında yapılan tüm frozen otolog embriyo transferleri retrospektif olarak taranmıştır. Çalışmaya yalnızca HRT ile endometrium hazırlanan embriyo transferleri dahil edilmiştir. Çalışmaya yalnızca 5. Gün embriyo transferi yapılan hastalar dahil edilmiştir. Tüm hastalarda önceki bir ivf döngüsünden donmuş embriyoları vardı.. 18-40 yaş arası 226 hasta çalışmaya dahil edilmiştir.

3 ten fazla başarısız transfer öyküsü olan hastalar çalışma dışında bırakılmıştır. 11. Günde endometrium kalınlığı 7 mm altında olan hastalar çalışma dışında bırakılmıştır.

Hastalar endometrium hazırlığında GnRh Agonist kullanılıp kullanılmamasına göre değerlendirilmiştir.

GnRH Agonist kullanılan hastalar: Önceki Siklusun midluteal fazında 0,5 mg GnRh agonist leuprolide asetat başlanarak adetın ikinci gününde GnRh agonist dozu 0,25 mg'a düşölerek estrofem 1-4.günlerde 4mg/gün, 5-8.günlerde 6mg/gün, ve 9.günden itibaren 8mg/gün estrofem olacak şekilde verilmiştir.

GnRH Agonist kullanılmayan hastalar :Endometrial hazırlık siklusun 2-3 gününde başlatılmıştır oral estradiol hemihydrate(estrofem 2 mg;Novo Nordisk Denmark)ile başlatılmıştır.Endometrium hazırlık protokolü 1-4 günde 4 mg estrofem ile ,5-8 günde 6 mg ,9.günde 8 mg estrofem şeklinde başlatılmıştır.

Her iki grupta da;

İkinci transvaginal ultrasound östrojen tedavisinden 10 gün sonra gerçekleştirildi.Embriyo transferinin endometrial kalınlığının en az 7 mm'ye ulaştığında yapılması planlandı.Embriyo transferinden 5 gün önce,progesteron(progestan50 mg ;Koçak Türkiye)intramusculer 100 mg dozda uygulandı.Hastanın yaşına ,embryonun kalitesine ve sayısına göre bir veya iki embriyo transfer edildi.Tüm embriyolar 5 günlük embriyoydu.

Transferlerin tamamı deneyimli bir reproduktif endokrinolog (D.G) tarafından yapılmıştır. Luteal destek olarak gebelikte fetal kardiak atım görölüne kadar 8 mg estradiol (estrofem 2 mg; Novo Nordisk, Denmark). ve progesteron (progestan 50 mg; Koçak, Turkey) uygulanmıştır

Transferden 14 gün sonra bakılan bhcg pozitifliği biyokiyasal gebelik olarak değerlendirilmiştir. Abortus ise 20. Gebelik haftasından önce gebeliğin sonlanması olarak tanımlanmıştır.

İstatistik Analizler:

Veriler IBM SPSS V23 ile analiz edildi. Normal dağılıma uygunluk Komogorov Smirnov testi ile incelendi. Normal dağılım göstermeyen nicel verilerin lucrin varlığına göre karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı. Kategorik verilerin lucrin ile karşılaştırılmasında ise kikare testi kullanıldı. Analiz sonuçları nicel veriler için ortanca (min-mak), kategorik olanlar ise frekans (yüzde) olarak sunuldu. nem düzeyi $p<0,05$ olarak al

4.BULGULAR

Tablo 4. Tanımlayıcı istatistikler

	Group 1 (n=204) (Gnrh Agonist kullanılmayan)	(Lucrinli (n=22) (Gnrh Agonist kullanılan)	Toplam (n=226)	P
Yaş	30 (21 - 39)	31 (25 - 41)	30 (21 - 41)	00,719
Fsh (siklus başındaki FSH)	7 (3 - 14)	4,45 (1 - 11)	7 (1 - 14)	<<0,001
E1 (siklus başındaki estradiol)	37 (5 - 153)	31,5 (5 - 63)	36 (5 - 153)	00,239
L1 (siklus başındaki LH)	4,7 (0,1 - 42)	2,35 (0,1 - 11)	4,3 (0,1 - 42)	<<0,001
P1 (siklus başındaki Progesteron)	0,2 (0,05 - 5,7)	0,2 (0,05 - 1)	0,2 (0,05 - 5,7)	00,124
Endometrium kalınlığı	10 (6 - 17)	9 (5 - 12)	10 (5 - 17)	<<0,001
E2 (Transfer öncesi estradiol)	205 (45 - 638)	231 (100 - 459)	208 (45 - 638)	00,464
P2 (Transsfer öncesi progesteron)	0,2 (0,02 - 7,4)	0,2 (0,03 - 0,8)	0,2 (0,02 - 7,4)	00,176
L2 (Transfer öncesi LH)	9 (0,1 - 78)	2,65 (0,3 - 7,1)	8 (0,1 - 78)	<<0,001
Antral folikül sayısı	17 (4 - 26)	15 (7 - 18)	16,5 (4 - 26)	00,029
İnfertilite süresi	3 (2 - 4)	2 (2 - 4)	3 (2 - 4)	00,089

Yaş ortanca değerleri gruplara göre farklılık göstermemektedir ($p=0,719$). Grup 1 de ortanca değer 30 iken Lucrinli olanlarda 31 olarak elde edilmiştir. Fsh ortanca değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Grup 1 de ortanca değer 7 iken grup 2 de 4,45 olarak elde edilmiştir. E1 ortanca değerleri gruplara göre farklılık göstermemektedir ($p=0,239$). Grup 1 de ortanca değer 37 iken grup 2 olanlarda 31,5 olarak elde edilmiştir. L1 ortanca değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Grup 1 de ortanca değer 4,7 iken grup 2 de 2,35 olarak elde edilmiştir. P1 ortanca değerleri gruplara göre farklılık göstermemektedir ($p=0,124$). Grup 1 de ortanca değer 0,2 iken grup 2 de 0,2 olarak elde edilmiştir. Endometrium ortanca değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Grup 1 de ortanca değer 10 iken grup 2 de 9 olarak elde edilmiştir. E2 ortanca değerleri gruplara göre farklılık göstermemektedir ($p=0,464$). Grup 1 de ortanca değer 205 iken grup 2 de 231 olarak elde edilmiştir. P2 ortanca değerleri gruplara göre farklılık göstermemektedir ($p=0,176$). Grup 1 de ortanca değer 0,2 iken grup 2 olanlarda 0,2 olarak elde edilmiştir. L2 ortanca değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p<0,001$). Grup 1 olanlarda ortanca değer 9 iken grup 2 de 2,65 olarak elde edilmiştir. Antral folikül sayısı ortanca değerleri gruplara göre farklılık göstermektedir ($p=0,029$). Grup 1 de ortanca değer 17 iken grup 2 de 15 olarak elde

edilmiştir. İnfertilite süresi ortanca değerleri gruplara göre farklılık göstermemektedir (p=0,089). Grup 1 de ortanca değer 3 iken grup 2 de 2 olarak elde edilmiştir.

Tablo 5. Kategorik verilerin gruplar arasında karşılaştırılması

	Grup 1 (n=204)	Grup 2 (n=22)	Toplam (n=226)	p
İnfertilite Nedeni:				
Açıklanamayan infertilite	130 (63,7)	14 (63,6)	144 (63,7)	0,239
Düşük over	18 (90)	2 (%10)	20 (8,8)	
Male faktör	54 (26,5)	8 (36,4)	62 (27,4)	
Transfer edilen embryo Sayısı				
1	151 (74)	18 (81,8)	169 (74,8)	0,588
2	53 (26)	4 (18,2)	57 (25,2)	
Embryo Grade				
Blast	180 (88,2)	13 (59,1)	193 (85,4)	<0,001
G1	20 (9,8)	9 (40,9)	29 (12,8)	
G2	4 (2,0)	---	4 (1,8)	
Gebelik sonucu				
Negatif	115 (56,4)	16 (72,7)	131 (58)	0,212
Pozitif	89 (43,6)	6 (27,3)	95 (42,0)	
Abortus				
Yok	198 (97,1)	22 (100)	220 (97,3)	1,000
Var	6 (2,9)	---	6 (2,7)	

Gruplar arasında infertilite nedenleri,embryo sayısı , gebelik ve abortus açısından farklılık göstermemektedir (p değerleri sırasıyla 0,239, 0,588, 0,212 ve 1,000). Embryo Grade gruplar arasında anlamlı olarak farklıdır (p<0,001). Grup 1 de %88,2'si blast iken %9,8'i G1 ve %2'si de G2'dir. Grup 2 olanlar incelendiğinde %59,1'i Blast ve %40,9'u G1 olarak belirlenmiştir.

5.TARTIŞMA

Frozen–thawed embryo transfer (FET) günümüzde IVF pratiğinde oldukça sık uygulanmaktadır. Tek IVF siklusunda elde edilen embryoların saklanması ve istenilen zamanda transfer edilmesi , ovaryen hiperstimülasyon sendromu (OHSS) riskini azaltması gibi pekçok avantajı mevcuttur.

FET başarısında en önemli konu endometrium ile embryonun senkronizasyonunun sağlanmasıdır. Bu nedenle endometrium hazırlığının güzel yapılması oldukça önemlidir(8).

Endometrium hazırlığında doğal siklus ve artifisyel sikluslar uygulanmaktadır. Artifisyel sikluslarda ise GnRh Agonist ile supresyon yapılabilir.

Bu konuyla ilgili daha önce yapılan randomize kontrollü çalışmalar vardır. Bunlardan birincisinde fix dozda mikronize östradiol oral olarak verilmiştir. GnRh agonist kullanan gruba 6 mg ,kullanmayan gruba 4 mg doz verilmiştir. Gebelik sonuçları arasında fark bulunmamıştır(6).

Diğer çalışmada ise transdermal östrojen step up şeklinde verilmiş ve GnRh agonist kullanımının gebelik sonuçlarını etkilemediği saptanmıştır(5).

Hebsiha ve arkadaşları yaptıkları prospektif çalışmada oral fiks dozda östrojen kullanmışlar ve diğer çalışmalardan farklı olarak GnRh agonist kullanımının gebelik oranı ve implantasyon oranını artırdığını göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda retrospektif değerlendirildiğinde GnRh agonist kullanımının gebelik sonuçları üzerinde anlamlı etkisi saptanmamıştır.

Simon ve ark yaptıkları çalışmada (6) siklus iptal oranı (4.3%) açısından iki grup arasında farklılık saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda ise her iki grupta da siklus iptali olan hasta olmamıştır.

Yapılan çalışmalarda östrojen replasmanının ilk 3 gün içinde başlanırsa spontan ovulasyonu önlediği saptanmıştır. Eğer 3. Günden sonraya bırakılırsa spontan LH surge ve endometriumun luteinizasyonuna neden olabilir. Ayrıca yapılan çalışmalarda HRT ile hazırlanan sikluslarda dominant folikül görülüp görülmemesinin gebelik sonuçları üzerine etkisi olmadığı görülmüştür(9). Ve step up

protokollerin normal fizyolojiyi daha iyi taklit ettikleri ve daha iyi implantasyona neden olabileceği belirtilmiştir(11).

Çalışmamızın eksik yönlerinden biri retrospektif olması ve hasta sayısının az olmasıdır.



SONUÇLAR:

Günümüzde IVF tedavisinde frozen embryo transferi sıkça uygulanmaktadır. Transfer öncesi endometrium hazırlığı konusunda pekçok protokol bulunmaktadır. Literatürde bu protokolleri karşılaştıran az miktarda çalışma bulunmaktadır.

Yaptığımız çalışmada literatürle uyumlu olarak GnRh Agonist kullanımının gebelik oranlarını değiştirmediğini saptadık. Zamanın uzaması ve maliyetin artması göz önüne alındığında GnRh Agonist kullanımını avantajlı görülmemektedir.



KAYNAKLAR

1. Muasher SJ, Kruthoff C, Simonetti S, Oehninger S, Acosta AA, Jones GS. Controlled preparation of the endometrium with exogenous steroids for the transfer of frozen-thawed pre-embryos in patients with anovulatory or irregular cycles. *Hum Reprod* 1991;6:443–5.
2. Schmidt CL, de Ziegler D, Gagliardi CL, Mellon RW, Taney FH, Kuhar MJ, et al. Transfer of cryopreserved-thawed embryos: the natural cycle versus controlled preparation of the endometrium with gonadotropin-releasing hormone agonist and exogenous estradiol and progesterone (GEEP). *Fertil Steril* 1989;52:609–16
3. Lelaidier C, de Ziegler D, Gaetano J, Hazout A, Fernandez H, Frydman R. Controlled preparation of the endometrium with exogenous oestradiol and progesterone: a novel regimen not using a gonadotrophin-releasing hormone agonist. *Hum Reprod* 1992;7:1353–6.
4. Queenan JT Jr, Ramey JW, Seltman HJ, Eure L, Veeck LL, Muasher SJ. Transfer of cryopreserved-thawed pre-embryos in a cycle using exogenous steroids without prior gonadotrophin-releasing hormone agonist suppression yields favourable pregnancy results. *Hum Reprod* 1997;12:1176–80.
5. Luca Dal Prato, M.D., Andrea Borini, M.D., Monica Cattoli, M.D., Maria Antonietta Bonu, B.Sc., Raffaella Sciajno, B.S. and Carlo Flamigni, M.D. Endometrial preparation for frozen-thawed embryo transfer with or without pretreatment with gonadotropin-releasing hormone agonist. *FERTILITY AND STERILITY*. VOL. 77, NO. 5, MAY 2002
6. Simon A, Hurwitz A, Zentner BS, Bdolah Y, Laufer N. Transfer of frozen-thawed embryos in artificially prepared cycles with and without prior gonadotrophin-releasing hormone agonist suppression: a prospective randomized study. *Hum Reprod* 1998;13:2712–7.
7. S. A. Hebisha, H. M. Adel. GnRh Agonist Treatment Improves Implantation and Pregnancy Rates of Frozen–Thawed Embryos Transfer. *The Journal of Obstetrics and Gynecology of India* (March–April 2017) 67(2):133–136

8. Cohen J, DeVane GW, Elsner CW, et al. Cryopreserved zygotes and embryos and endocrinologic factors in the replacement cycle. *Fertil Steril*. 1988;50:61–7.
- 9 . Glujovsky D, Pesce R, Fiszbajn G, Sueldo C, Hart RJ, Ciapponi A..Endometrial preparation for women undergoing embryo transfer with frozen embryos or embryos derived from donor oocytes. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; 20: CD006359.
10. Remohi J, Vidal A, Pellicer A. Oocyte donation in low responders to conventional ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1993;59:1208–15.
11. Hill MJ, Miller KA, Frattarelli JL.A GnRH agonist and exogenous hormone stimulation protocol has a higher live-birth rate than a natural endogenous hormone protocol for frozen-thawed blastocyst-stage embryo transfer cycles: an analysis of 1391 cycles. *Fertil Steril* 2010; 93:416-22.
12. Urman B, Yakin K:The new Turkish Legislation on assisted reproductive techniques and centers; a step forward in the right direction? *Reprod BioMed Online* 21:729.
13. Society for Assisted Reproductive Technology and the American SocietyforReproductive Medicine: Assisted reproductive technology in the United States: results generated from the American society for Reproductive Medicine and Society for Assisted Reproductive Technology Registry. <https://ftp.cdcgov/puti.>
14. Alataş C, Aksoy E, Akarsu C, et al. Evaluation of intrauterine abnormalities in infertile patients by sonohysterography. *Hum Reprod* 1997;12:487.
15. Alatas C, Urman B, Aksoy S, et al. Evaluation of uterine cavity by sonohysterography in women scheduled for intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1998;13:2461.
16. Kodaman PH: Hysteroscopic polypectomy for women undergoing IVF treatment When is it necessary? *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2016;28:184.
17. Groszmann YS, Benacerraf BR: Complete evaluation of anatomy and morphology of the infertile patient in a single visit; the modern infertility pelvic ultrasound examination. *Fertil Steril*.

18. Zepiridis LI, Grimbizis GE, Tarlatzis BC: Infertility and uterine fibroids. *Best Res Clin Obstet Gynaecol*.
19. Christopoulos G, Vlismas A, Salim R, et al.: Fibroids that do not distort the uterine cavity and IVF success rates: an observational study using extensive matching criteria. *BJOG*.
20. Hart R, Khalaf Y, Yeong C-T, et al.: A prospective controlled study of the effect of intramural uterine fibroids on the outcome of assisted conception. *Hum Reprod* 2001; |
21. Surrey ES, Lietz AK, Schoolcraft WB: Impact of intramural leiomyomata in patients with a normal endometrial cavity on in vitro fertilization-embryo transfer outcome. *Fertil Steril*. 2001; 75:405.
22. Noventa M, Gizzo S, Saccardi C, et al.: Salpingectomy before assisted reproductive technologies: a systematic literature review. *J Ovarian Res*.
23. Pereira N, Pryor KP, Voskuilen-Gonzalez A, et al.: Ovarian Response and in Fertilization Outcomes After salpingectomy: Does salpingectomy Indication Matter? *Minim Invasive Gynecol*. 2017;4:446.
24. de Witw, Gowrising a, Kuik DJ, et al.: Only hydrosalpinges visible on ultrasound are associated with reduced implantation and pregnancy rates after in-vitro fertilization. *Hum Reprod*
25. McCon.b PE Taylor
26. Surrey ES, Schoolcraft WB: Laparoscopic management of hydrosalpinges before in vitro fertilization — embryo transfer: salpingectomy versus proximal tubal occlusion. *Fertil Steril*.
27. de Ziegler D, Pirtea p, Galliano D, et al.,• Optimal uterine anatomy and physiology necessary for normal implantation and placentation. *Fertil Steril*. 2016;105844.
28. González-Comadran M, Schwarze JE, Zegers•Hochschild F, et al.: The impact of endometriosis on the outcome of Assisted Reproductive Technology. *Reprod Biol Endocrinol*.

29. Surrey ES, Silverberg KM, Surrey MW, et al.: Effect of prolonged gonadotropin-releasing hormone agonist therapy on the outcome of in-vitro fertilization-embryo transfer in patients with endometriosis. *Fertil Steril*.
30. Singh SS, Suen MW.: Surgery for endometriosis: beyond medical therapies. *Fertil steril*.
31. Urman B, Alper E, Yakin K, et al: Removal of unilateral endometriomas is associated with immediate and sustained reduction in ovarian reserve. *Reprod Biomed Online*
32. American College of Obstetrics and Gynecology Committee Opinion; Carrier screening for genetic conditions. 691 March 2017.
33. American College of Obstetrics and Gynecology Committee Opinion; Genetic screening in the age of genomic medicine. 690; March 2017.
34. Vaegter KK, Lakic TG, Olovsson M, et al.: Which factors are most predictive for live birth after in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection (IVF/ ICSI) treatments? Analysis of 100 prospectively recorded variables in 8,400 IVF/ ICSI single-embryo transfers. *Fertil Steril*. 2017;107:641.
35. Muasher SE, Oehninger S, Simonetti S, et al.:The value of basal and or stimulated serum gonadotropin levels in prediction of stimulation response and in vitro fertilization outcome. *Fertil steril*. 1998; 50:298.
36. Bancsi LF, Broekmans FJ, Eijlmans W, et al.: Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertil steril*. 2002; 77:328.
37. McDonough PG: Ovarian reserve-drawing distinctions between the quality and numbers of oocytes. *Fertil Steril*.
38. Abdalla H, Thum MY: An elevated basal FSH reflects a quantitative rather than qualitative decline Of the ovarian reserve. *Hum Reprod* 2004; 19:893.
39. Lass A, Gerrard A, Abusheikha N, et al.: IVF performance of women who have fluctuating early follicular FSH levels. *J Assist Reprod Genet*. 2000; 17:566.

40. Kwee J, Elting MW, Schats R, et al.: Comparison Of endocrine tests with respect to their predictive value on the outcome of ovarian hyperstimulation in IVF treatment: results Ofa prospective randomized study. Hum Reprod.
41. Ficicioglu C. Kutlu T, Demirbasoglu S, Mulayim B. The role of inhibin B as a basal determinant Of ovarian reserve. Gynecol Endocrinol.
42. Dewailly D, Anderson CY, balen A, et al. The physiology and clinical utility of antimüllerian hormone in women. Hum reprod Update 2014;20:370.
43. Broer SL, Dolleman M opmeer BC, et al.AMH and AFC as predictors of excerssive response in controlled ovarian hyperstimulation: a-metaanalise. Hum Reprod Update 2011;17:46
44. Bokurt B, Erdem M, Mutlu MF, et al: Comparisonof age-related changes in antimüllerian hormon levels and other ovarian reserve testbetween healthy fertile and infertile popülation. Humfertil 2016;19:192
45. Csemiczky G Harlin J, Fried G Predictive power of chlomiphene citrate challenge test for failure of in vitro fertilization treatment. Acta Obstet Gynecol Scand 2002;81:954.
46. Erdem M, Erdem A, Biberoglu K, Arslan M. Age-related changes in ovarian vo. lume, antral follicle counts and basal follicle stimulating hormone levels: cornparison between fertile and infertile women. Gynecol Endocrinol.
47. Frattarelli JL Lauria-Costa DF, Miller BT, et al.: Basal antral follicle number and mean ovarian diameter predict cycle cancellation and ovarian responsiveness in assisted reproductive technology cycles. Fertil Steril. 2000;74: 512.
48. Arslan M, Bocca S, Mirkin S, et al. Controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization: two decades of experience after the birth of Elizabeth Carr. Fertil steril.
49. Meldrum DR: GnRH agonists as adjuncts for in vitro fertilization. Obstet Gynecol surv.

50. Cedars MI, Surey E, Hamilton E et al. Leuprolide acetate lowers circulating bioactive luteinizing hormone and testosterone concentrations during Ovarian stimulation for oocyte retrieval. *Fertil Steril*.
51. Kahraman S, Yakin K. Ovulasyon indüksiyonu. *Esin Ofset*, 2000.
52. Pellicer A, Simon C, MirO, F, et al.: Ovarian response and outcome of in-vitro fertilization in patients treated with gonadotropin-releasing hormone analogues in different phases of the menstrual cycle. *Hum Reprod*. 1989;4:285.
53. San Ramon GA, Surrey ES, Judd HL, et al.: A prospective randomized comparison of luteal phase versus concurrent follicular phase initiation Of gonadotropin-releasing hormone agonist for in vitro fertilization. *Fertil Steril*.
54. Meidrum DR, Wisot A, Hamilton F, et al.: Timing of initiation and dose schedule of leuprolide influences the time course of ovarian suppression. *Fertil Steril*
55. Feldberg D, Farhi J, Ashkenazi J, et al.: Minidose gonadotropin releasing hormone agonist is the treatment of choice in poor responders with high follicle-stimulating hormone levels, *Fertil Steril*.
56. Dirnfeld M, Fruchter O, Yshai D, et al: Cessation Of gonadotropin releasing hormone analogue (GnRH-a) upon down-regulation versus conventional long GnRH-a protocol in poor responders undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1999;12,406.
57. Surrey ES, Silverberg KM, Surrey MW, et al.: Effect of prolonged gonadotropinre leasing hormone agonist therapy On the outcome of in-vitro fertilization embryo transfer in patients with endometriosis. *Fertil Steril*.
58. Rickes D, Nickel I, Kropf S, Kleinstein J: Increased pregnancy rates after ultralong postoperative therapy with gonadotropin releasing hormone analogs in patients with endometriosis. *Fertil Steril*.
59. Gong X, Zhang S, et al: A modified ultra-long pituitary downregulation protocol improved endometrial receptivity and clinical outcome for infertile patients With polycystic ovarian syndrome. *Exp Ther Med*. 2015; 10:1865.

60. Kligman I, Rosenwaks Z; Differentiating clinical profiles: predicting good responders, poor responders, and hyperresponders. *Fertil Steril*. 2001
61. BC, ZepiridiS L, Grimbizis G, Bonus J: Clinical management of tesonse to stimulation for IVF: a systematic review. *Hum Reprod update*
62. Spar,dorfer S. Navarro J. Kump LM, et al.: "Co-flare" stimulation in the poor predictive value of the flare response. *J Assist Reprod Genet*
63. schOOIcraat W, schler,kerr, Gee M, et al.: Improved controlled ovarian hyperstf rnulotion in poor
64. Surrey ES, Bower J, Hill [3M. et al.: Clinical and endocrine effects of a microdose GnRH agonist flare regimen administered to poor responders who are undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*.
65. Surrey ES, Schoolcraft WB: Evaluating strategies for improving ovarian response ofthe poor responder undergoing assisted reproductive techniques. *Fertil Steril*.
66. Scott RT, Navot D: Enhancement of ovarian responsiveness with microdoses Of gonadotropin-releasing hormone agonist during ovulation induction for in vitro fertilization. *Fertil steril*.
67. Leondires MP, Escalpes M, Segars JH, et al.: Microdose follicular phase gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH-a) compared with luteal phase GnRH-a for ovarian stimulation at in vitro fertilization. *Fertil Steril*.
68. Yakin, Kahraman, S., Kumtepe, Y., Akarsu, C, Samll, Dönrnez, "ART programında uzun süreli dü#ük doz GnRH analoâu ile kötü yamt gözlenen Olgularda mikrodoz GnRH analogu bir alternatif olu\$urabilir mi?", *Turk Fertilite Dergisi*
69. Thompson KA, LaPolt PS, Rivier J, et al.: Gonadotropin requirements of the developing follicle. *Fertil steril*. 1995;63ü73.
70. Benadiva CA, Davis O, Kligman I, et al.: Clomiphene citrate and hMG: an alternative stimulation protocol for selected failed in vitro fertilization patients. *J Assist Reprod Genetics*

71. Meldrum DR, Rivier J, Garzo G, et al.: Successful pregnancies with unstimulated cycle oocyte donation using an antagonist of gonadotropin-releasing hormone, Fertil steril.
72. Oberye ML, Mannaerts BMJL, Huisman JAM, et al.: Pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of ganirelix (Antagon/Orgalutran). Part II dose-proportionality and gonadotropin suppression after multiple doses of ganirelix in healthy female volunteers. Fertil Steril
73. The ganirelix dose-finding study group: a double-blind, randomized, dose-finding study to assess the efficacy of the gonadotropin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462) to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone (Puregon). Hum Reprod
74. Al-Inany H, Aboulghar M: GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review, Hum Reprod.
75. The North American Ganirelix study group: Efficacy and safety of ganirelix acetate versus leuprolide acetate in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation. Fertil steril.
76. Hernandez ER: Embryo implantation and GnRH antagonists: embryo implantation: the Rubicon for GnRH antagonists. Hum Reprod. 2000;15:1211.
77. Kol S: Embryo implantation and GnRH antagonists in ART: lower embryo implantation? Hum Reprod,
78. Westergaard LG, Laursen SB, Andersen CY: Increased risk of early pregnancy loss by profound suppression of luteinizing hormone during ovarian stimulation in normogonadotropic Women undergoing assisted reproduction, Hum Reprod.
79. Al-Inany HG, Youssef MA, Ayeleke RO et al. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. Cochrane Database Syst Rev

80. Mahutte NG, Arici A. Role of gonadotropin-releasing hormone antagonists in poor responders. *Fertil Steril*. 2007;87:241.
81. Youssef MA, Van derVeen F, Al-Inany HG, et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist versus HCG for oocyte triggering in antagonist assisted reproductive technology cycles. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010 Nov 10;11:CD008046
82. Lainas TG, Sfontouris IA, Zorzovilis IZ, et al. Flexible GnRH antagonist protocol versus GnRH agonist long protocol in patients With polycystic ovary syndrome treated for IVF: a prospective randomised controlled trial (RCT). *Hum Reprod*
83. Engmann L, DiLuigi A, Schmidt D, et al. The use of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist to induce oocyte maturation after cotreatment with GnRH antagonist in high-risk patients undergoing in vitro fertilization prevents the risk of ovarian hyperstimulation syndrome: a prospective randomized controlled study. *Fertil steril*. 2008
84. Westergaard LG, Erb K, Laursen S, et al.: The effect of human menopausal gonadotropin and highly purified, urine-derived follicle-stimulating hormone on the outcome of in-vitro fertilization in down-regulated normogonadotrophic women. *Hum Reprod*.
85. Daya S, Gumby J: Recombinant versus urinary follicle stimulating hormone for ovarian stimulation in assisted reproduction cycles. *Cochrane Database Syst Rev*.
86. Daya S. Updated meta-analysis of recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) versus urinary FSH for ovarian stimulation in assisted reproduction. *Fertil steril*. 2002; 77:711-4.
87. Zwartvan Rijkom 'E, Broekmans FJ, Leufkens HG: From HMG through purified urinary FSH preparations to recombinant FSH: a substitution study. *Hum Reprod*
88. Hugues JN, Barlow DH, Rosenwaks Z, et al.: Improvement in consistency of response to ovarian stimulation with recombinant human follicle stimulating

hormone resulting from a new method for calibrating the therapeutic preparation. *Reprod Biomed Online*.

89. Soderstrom-Anttila V, Foudila F, Hovatta O: A randomized comparative study of highly purified follicle-stimulating hormone and human menopausal gonadotropin for ovarian hyperstimulation in an oocyte donation programme. *Hum Reprod*.
90. Gleicher N, Vietzke M, Vidali A: Bye-bye urinary gonadotrophins? Recombinant FSH: a real progress in ovulation induction and IVF? *Hum Reprod*.
91. Broekmans FJ, Klinkert ER. Female age in ART: when to stop? *Gynecol Obstet Invest*.
92. Oktem Oktay K: The Ovary: Anatomy and Function Throughout Human Life *Ann NY Acad sci*. 2008; 1127:1.
93. Klinkert ER, Broekmans FJ, Looman CW, et al. The antral follicle count is a better marker than basal follicle-stimulating hormone for the selection of older patients with acceptable pregnancy prospects after in vitro fertilization. *Fertil Steril*
94. Quinn Makhlouf A, et al. Simultaneous evaluation stimulating hormone and 17 beta-estradiol response to gonadotropin-releasing hormone analogue stimulation: an improved predictor of ovarian reserve. *Fertil*
95. La Marcha A, Sighinolfi G, Radi D et al. Anti-müllerian hormone as a predictive marker in assisted reproductive technology. *Hum Reprod Update* 2010;16,113
96. Zhang D, Zhu Y, Gao H, et al. Overweight and obesity negatively affect the outcomes of ovarian stimulation and in vitro fertilization: a cohort study of 2628 Chinese women. *Gynecol Endocrinol* 2010;26:325
97. Knauff hormone. inhibin B and antral follicle count in young women with varying degrees of hypergonadotropic ovarian failure. *J Clin Endoc-*
98. Yakin K, Balaban B, Isiklar A, Urman B. oocytedysmorphism is not associated with aneuploidy in the developing embryo. *Fertil Steril*.

- 99 Sterrenburg MD, Veltman-verhulst SM, Eijkemans MJ, et al. Clinical outcomes in relation to the daily dose of recombinant follicle-stimulating hormone for ovarian stimulation in in vitro fertilization in presumed normal responders younger than 39 years: a meta-analysis *Hum Reprod Update* 2011;17:184.
100. Mitwally ME Casper RF: Use of an aromatase inhibitor for induction of ovulation in patients with an inadequate response to clomiphene citrate. *Fertil Steril*
101. Stadtmauer LA, Toma SK, Riehl RM, et Metformin treatment of patients with polycystic ovarian syndrome undergoing in vitro fertilization improves outcomes and is associated with modulation of the insulin-like growth factors. *Fertil Steril*.
- 102 Loutradis D, Vomvolaki E, Drakakis P. Poor responder protocols for in-vitro fertilization: options and results. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2008;20:374.
- 103 Jevcic YB, Bhandari HM. Effective treatment protocol for poor ovarian response: A systematic review and meta-analysis. *J Hum Reprod Sci*. 2016;9:70.
104. Klinkert ER, Broekmans FJ, Looman CW et al. Expected poor responders on the basis of an antral follicle count do not benefit from a higher starting dose of gonadotrophins in IVF treatment: a randomized controlled trial. *Hum Reprod*.
105. Alviggi C, Clarizia R, Mollo A, et al. Outlook: who needs LH in ovarian stimulation? *Reprod Biomed Online*.
106. Fábregues F, Creus M, Penarrubia J, et al. Effects of recombinant human luteinizing hormone supplementation on ovarian stimulation and the implantation rate in down-regulated women of advanced reproductive age. *Fertil Steril*.
107. Youssef MA, van Wely M, Al-Inany H, et al: A mild ovarian stimulation strategy in women with poor ovarian reserve undergoing IVF: a multicenter randomized non-inferiority trial. *Hum Reprod*. 2017;32:112.
108. Al-Inany H, Aboulghar M. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception. *Cochrane Database Syst Rev*. 2001 1750.

109. Faber 8M, Mayer J, Cox B: Cessation of gonadotropin-releasing hormone agonist therapy combined with high-dose gonadotropin stimulation yields favorable pregnancy results in low responders. *Fertil Steril.* 1998; 69:826.
110. Dirnfeld M, Fruchter O, Yshai D, et al.: Cessation of gonadotropin-releasing hormone analogue (GnRH-a) upon down-regulation versus conventional long GnRH-a protocol in poor responders undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*
111. Smulders B. van Oirschot SM, Farquhar C, et al. Oral contraceptive pill, progestogen or estrogen pre-treatment for ovarian stimulation protocols for women undergoing assisted reproductive techniques. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010
112. Sbracia M. Farina A, Poverini R, Morgia F, Schimberni M. Aragona C. Short versus long gonadotropin-releasing hormone analogue suppression protocols for superovulation in patients > or = 40 years old undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2005;84:644
113. Demiroglu A, Gurgan T. Comparison of microdose flare-up and antagonist multiple-dose protocols for poor-responder patients: a randomized study. *Fertil Steril.*
114. Copperman AB: Antagonist in poor-responder patients. *Fertil Steril* 2003;80 Suppl 1:16
115. Marci R, Caserta D, Dolo V, et al. GnRH antagonist in IVF poor-responder patients. results of a randomized trial. *Reprod Biomed Online.* 2005;11:189.
116. Kyrou D, Kolibianakis EM, Venetis CA, et al. How to improve the probability of pregnancy in poor responders undergoing in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2009;91:749
117. Weigert M, Krischker W, Pohl M, et al.: Comparison of stimulation with clomiphene citrate in combination with recombinant follicle-stimulating hormone and recombinant luteinizing hormone to stimulation with a

- gonadotropin-releasing hormone agonist protocol: a prospective, randomized study. *Fertil Steril*
118. Bedaiwy MA, Shokry M, Mousa N, et al. Letrozole co-treatment in infertile women 40 years old and older receiving controlled ovarian stimulation and intrauterine insemination. *Fertil Steril*. 2009;91 :2501
 119. Mitwally MF, Casper RE: Aromatase inhibition improves ovarian response to follicle-stimulating hormone in poor responders. *Fertil Steril*.
 120. Schoolcraft WB, Surrey ES, Minjarez DA, et al. Management of poor responders: can outcomes be improved with a novel gonadotropin-releasing hormone antagonist/letrozole protocol? *Fertil Steril*.
 121. Datta AK, Campbell S, Deval B, Nargund G. Add-ons in IVF programme - Hype or Hope? *Facts Views Vis Obgyn*.
 122. Nardo LG, El-Toukhy T, Stewart J, et al.: British Fertility Society Policy and Practice Committee: adjuvants in IVF: evidence for good clinical practice. *Hum Fertil* 2015;182.
 123. Yakin K, Urman B. DHEA as a miracle drug in the treatment of poor responders; hype or hope? *Hum Reprod* 2011
 124. Gleicher N, Weghofer A, Barad DH. Improvement in diminished ovarian reserve after dehydroepiandrosterone supplementation *Reprod Biomed Online*
 125. Motteram C, Vollenhoven B, Hope N, et al: Live birth rates after combined adjuvant therapy in IVF-ICSI cycles: a matched case-control study. *Reprod Biomed Online*.
 126. Bassiouny YA, Dakhly DM, Bayoumi YA, Hashish NM. Does the addition of growth hormone to the in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection antagonist protocol improve outcomes in poor responders? A randomized, controlled trial

127. urman B, Ata B, Yakin K, Alatas C, Aksoy S, Mercan R, Balaban B. Luteal phase empirical low molecular weight heparin administration in patients with failed embryo transfer cycles: a randomized open-label Pilot trial. *Hum Reprod*
128. Hoek A, Simons AH, et Efficacy of natural cycle IT: a review of the literature, *Hum Reprod Update*
129. Yakin, K., Kahraman, S., Kumtepe, Dönmez, E. A., "Zorunlu tek embriy0 transferi: sonuçlar ve etkili Fertilite Dergisi 200073-4;43.
130. Ata B, Yakin K, Balaban B, urman B. Embryo implantation rates in natural and stimulated assisted reproduction treatment cycles in poor responders. *Reprod Biomed online*
131. Raine-Fenning N, Jayaprakasan K, Clewes J, et al. sonoAVC a novel method of automatic volume calculation. *Ultrasound Obstet Gynecol*.
132. Rodriguez-Fuentes A, Hernandez J, Garcia-Guzman R, et al- Prospective evaluation of automated follicle monitoring in 58 in vitro fertilization cycles: follicular volume as a new indicator of oocyte maturity. *Fertil Steril*
- 133 Kovacs P, Matyas S, Boda K, Kaali SG: The effect of endometrial thickness on ICSI outcome. *Hum Reprod* 2003: 182337.
134. Yakin K, Akarsu C: Cycle lumping or—sampling a witches' brew? *Fertil Steril-*
135. IJrman B, Pride SM, Yuen EH: Management of overstimulated gonadotrophin cycles with a controlled drift period. *Hum Reprod*.
136. Levinsohn-Tavor O, Friedler S, Schachter M, et al: Coasting-what is the best formula? *Hum Reprod-* 2003; 18:93.
137. Fluker MR,, Hooper WM, Yuzpe AA: Withholding gonadotropins ("coasting") to minimize the risk of ovarian hyperstimulation during superovulation and in vitro fertilization-embryo transfer cycles. *Fertil Steril*.
138. Tortoriello DV,, McGovern PG, Colon JM., et al: •Coasting- does not adversely affect cycle outcome in a subset of highly responsive in vitro fertilization patients. *Fertil Steril*.

139. Clark L, Stanger J, Brinsmead M: Prolonged follicle stimulation decreases pregnancy rates after in vitro fertilization. *Fertil Steril*.
140. Humaidan P, Papanikolaou EG., Tarlatzis BC: GnRHa to trigger final oocyte maturation: a time to reconsider. *Hum Reprod*
141. Galindo Bodri D, Guillén J), et al. Triggering with HCG Or GnRH agonist in GnRH antagonist treated oocyte donation cycles: a randomised clinical trial. *Gynecol Endocrinol*.
142. Toftager M, Bogstad J, Bryndorf T, et al. Risk of severe ovarian hyperstimulation syndrome in GnRH antagonist versus GnRH agonist protocol: RCT including 1050 first IVF/ICSI cycles. *Hum Reprod*.
143. Fauser BC, Nargund G, Andersen AN, et al. Mild ovarian stimulation for IVF. 10 years later. *Hum Reprod* 2010;25:2678.
144. Healy MW, Hill MJ, Levens ED. Optimal oocyte retrieval and embryo transfer techniques: where we are and how we got here. *Semin Reprod Med*. 2015; 33:83.
145. Tan SL, Waterstone J, Wren M. et al.: A prospective randomized study comparing aspiration only with aspiration and flushing for transvaginal ultrasound-directed oocyte recovery. *Fertil Steril*. 1992;58:356.
146. Licciardi FL, Schwartz LB, Schmidt-Sarosi C: A tenaculum improves ovarian accessibility during difficult transvaginal follicular aspiration: a novel but simple technique. *Fertil Steril*.
147. Wisanto A, Bollen N, Camus M, et al.: Effect of trans-uterine puncture during transvaginal oocyte retrieval on the results of human in-vitro fertilization. *Hum Reprod*.
148. Quintans CJ, Donaldson MI, Blanco LA. et al.: Empty follicle syndrome due to human errors: its occurrence in an in-vitro fertilization programme. *Hum Reprod*.
149. Blazquez A, Guillen D, Colome C. Empty follicle syndrome prevalence and management in oocyte donors. *Hum Reprod*

150. Papier S, Lipowicz R, De Vincentiis S, et al.: Pregnancy obtained by the transfer of frozen-thawed embryos originating from a rescued empty follicle syndrome cycle. *Fertil steril.* 2000;74:603.
151. Dicker D, Ashkenazi J, Feldburg D, et al: Severe abdominal complications after transvaginal ultrasonographically guided retrieval of oocytes for in vitro fertiliza-
152. Bennett SJ, Waterstone J, Chevy WC, et al.: Complications of transvaginal ultrasound-directed follicle aspiration: a review of 2670 consecutive procedures. *J Assist Reprod Genet.*
153. Yaron Y, Peyser MR, Samuel D: Infected endometriotic cysts secondary to oocyte aspiration for in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1994;9:1759.
154. Younis JS, Ezra Y, Laufer N, Ohel G. Late manifestation of pelvic abscess following oocyte retrieval, for in vitro fertilization, in patients with severe endometriosis and ovarian endometriomata. *J Assist Reprod Genet.* 1997;14:343.
155. Araujo E Jr, Bernardini L, Frederick JL, et al.: Prospective randomized comparison of human chorionic gonadotropin versus intramuscular progesterone for lutealphase support in assisted reproduction. *J Assist Reprod Genet.*
156. Humaidan P, Quartarolo J, Papanikolaou EG: Preventing ovarian hyperstimulation: guidance for the clinician. *Fertil Steril* 2010;94:389.
157. Youssef MA, van Wely M, Hassan MA, et al.: Can dopamine agonists reduce the incidence and severity of OHSS in IVF/ICSI treatment cycles? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2010;16:459.
158. Mourad S, Brown J, Farquhar C. Interventions for the prevention of OHSS in ART cycles: an overview of Cochrane reviews. *Cochrane Database Syst Rev.*
159. Smitz J, Janssenswillen C, Liu J. Retrospective analysis of superovulated cycles for ICSI yielding an increased number of immature oocytes. *Proceedings of the Twenty-sixth annual conference of the Australian Society*

- for Reproductive Biology, September 26-28 Brisbane, Australia. Abstract Book, Abstract no 23. 1994.
160. Smits J, Cortvrindt R: Oocyte in-vitro maturation and follicle culture: current clinical achievements and future directions. *Hum Reprod*
 161. Balaban B, Urman B: Embryo culture as a diagnostic tool. *Reprod Biomed Online*.
 162. Gardner DK, Balaban B. Assessment of human embryo development using morphological criteria in an era of time-lapse, algorithms and 'OMICS': is looking good still important? *Mol Hum Reprod*.
 163. Balaban B, Urman B, Alatas C, et al.: Blastocyst-stage transfer of poor-quality cleavage-stage embryos results in higher implantation rates. *Fertil Steril*. 2001
 164. Resmi Gazete: Sağlık Bakanlığın Üremeye Yardımcı Tedavi Uygulamaları ve Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezleri Hakkında Yönetmelik. 30 Eylül 2014, Sayı: 29135.
 165. Rienzi Gracia C, Maggiulli R, et al Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Hum Reprod Update*. 2017 baskıda
 166. Nagy ZP, Anderson RE, Feinberg EC, et al. The Human oocyte Preservation Experience (HOPE) Registry: evaluation of cryopreservation techniques and oocyte source on outcomes. *Reprod Biol Endocrinol*.
 167. Urman B, Aksoy S, Alatas C, et al.: Comparing two embryo transfer catheters. use of a trial transfer to determine the catheter applied. *J Reprod Med*.
 168. Brown J, Buckingham K, Buckett W, AbouBetta AM: Ultrasound versus 'Clinical touch' for catheter guidance during embryo transfer in women. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;
 169. Coroleu B, Carreras O, Veiga A, et al.: Embryo transfer under ultrasound guidance improves pregnancy rates after in-vitro fertilization. *Hum Reprod*

170. Yakin K, urman B. What next for preimplantation genetic screening? A clinicians perspective. Hum Reprod
171. Mastenbroek S, Repping S. Preimplantation genetic screening: Back to the future. Human Reproduction, 2014;29:1846.
172. Sermon K, Capalbo A, Cohen J. Et al. The why, the how and the when of PGS 2.0: current practices and expert opinions of fertility specialists, molecular biologists, and embryologists. Mol Hum Reprod
173. Urman B, Yakin K. Balaban B. Recurrent implantation failure in assisted reproduction: how to counsel and manage. A. General considerations and treatment options that may benefit the couple. Reproductive BioMedicine Online. 2005; 1 1 : 371.
174. Urman B, Yakin K. Balaban B. Recurrent implantation failure in assisted reproduction: how to counsel and manage. B. Treatment options that have not been proven to benefit the couple. Reproductive BioMedicine Online, 1:382.