

**T.C.
AFYONKARAHİSAR KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**OVARIAN HİPERSTİMULASYON SENDROMUNUN
ÖNLENMESİNDE RAT MODELİNDE CABERGOLİN
VE MELOKSİKAMIN ETKİNLİKLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. ARİF SAYLAN

AFYONKARAHİSAR-2008

**T.C.
AFYONKARAHİSAR KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**OVARIAN HİPERSTİMULASYON SENDROMUNUN
ÖNLENMESİNDE RAT MODELİNDE CABERGOLİN
VE MELOKSİKAMIN ETKİNLİKLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. ARİF SAYLAN

**TEZ DANIŞMANI: YRD.DOÇ.DR.DAĞISTAN TOLGA
ARIÖZ**

AFYONKARAHİSAR-2008

T.C.
AFYONKARAHİSAR KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

Tez Başlığı: Ovarian Hiperstimulasyon Sendromunun Önlenmesinde Rat Modelinde Cabergolin ve Meloksikamın Etkinliklerinin Karşılaştırılması

Tezi Hazırlayan: Arif Saylan

Tez Danışmanı: Dağıstan Tolga Arıöz

Tez Savunma Tarihi: 31.03.2008

İşbu çalışma jürimiz tarafından KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI' nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Doç.Dr.Mehmet YILMAZER

ÜYE

Y.Doç.Dr.Dağıstan Tolga ARIÖZ

ÜYE

Y.Doç.Dr.Emine COŞAR

ONAY

DEKAN

Prof.Dr.Necat İMİRZALIOĞLU

TEŐEKKÜR

YetiŐmemde bŸyŸk emeği geçen, asistanlığım sŸresince ilgi ve desteğini esirgemeyen ve her zaman saygıyla anacağım sayın hocalarım Doç.Dr.Mehmet YILMAZER, Yrd.Doç.Dr.Dağıstan Tolga ARIÖZ, Yrd.Doç.Dr.GŸlengŸl KÖKEN, Yrd.Doç.Dr.Figen KIR ŐAHİN ve Yrd.Doç.Dr.Emine COŞAR'a sonsuz saygı ve teŐekkŸrlerimi sunarım.

Tezimin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen Yrd.Doç.Dr.Dağıstan Tolga ARIÖZ'e teŐekkŸr ederim.

Asistanlığım sŸresince beraber çalıŐmaktan zevk aldığım asistan arkadaşlarıma teŐekkŸr ederim.

Her zaman yanımda olan, desteklerini esirgemeyen ve bugŸnlere gelmemde bŸyŸk payı olan aileme, her zaman desteğini ve sevgisini hissettiğim eŐime ve oğluma sonsuz teŐekkŸrlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İNFERTİLİTE	3
2.2. KONTROLLÜ OVARIAN HİPERSTİMULASYON	4
2.2.1. KONTROLLÜ OVARIAN HİPERSTİMULASYON PROTOKOLLERİ	5
2.2.2. OVÜLASYONUN TETİKLENMESİ	8
2.3. OVARIAN HİPERSTİMULASYON SENDROMU	9
2.3.1. RİSK FAKTÖRLERİ	12
2.3.2. OHSS'DEN KORUNMA	13
2.3.2.1. ENDOKRİN MONİTÖRİZASYON	13
2.3.2.2. USG İLE FOLİKÜLER MONİTÖRİZASYON	13
2.3.3 OHSS'Yİ ÖNLEME	14
2.3.3.1. PCOS'LU HASTALARDA OHSS'Yİ ÖNLEME	20
2.3.4. OHSS TEDAVİSİ	21
2.3.4.1. HASTANEDE KLİNİK BİYOMONİTÖRİZASYON	23
2.3.4.2. MEDİKAL TEDAVİ	23
2.3.4.3. CİDDİ OHSS'DE ASİT SIVISI VE PLEVRAL EFÜZYONUN ASPİRASYONU	25
2.3.4.4. CERRAHİ TEDAVİ	27
III. GEREÇ YÖNTEM	28
IV. BULGULAR	32
V. TARTIŞMA	39
VI. SONUÇ	45
VII. ÖZET	47
VIII. SUMMARY	49
IX. KAYNAKLAR	51

TABLolar ÇİZELGESİ

Tablo I. Çalışma sonucu elde edilen tüm veriler

Tablo II. Ratların tedavi öncesi ve sonrasında vücut ağırlıklarının karşılaştırılması

Tablo III. Ratların over ağırlıklarının karşılaştırılması

Tablo IV. Ratların over çaplarının karşılaştırılması

Tablo V. Ratların vasküler geçirgenliğinin karşılaştırılması

ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

Şekil I. Ratların tedavi öncesi ve sonrasında vücut ağırlıklarının karşılaştırılması

Şekil II. Ratların over ağırlıklarının karşılaştırılması

Şekil III. Ratların over çaplarının karşılaştırılması

Şekil IV. Ratların vasküler geçirgenliğinin karşılaştırılması

I. GİRİŞ

Ovarian hiperstimülasyon sendromu (OHSS) gonadotropinlerle yapılan ovulasyon indüksiyonunun iatrojenik komplikasyonudur. Bu sendrom hayatı tehdit eden komplikasyonlara neden olabilmektedir. Ovarian hiperstimülasyon sendromunda semptomatik hastalarda vasküler permeabilitenin artması ve sıvının intravasküler alandan ekstravasküler alana kaçmasından dolayı vücut boşluklarına sıvı akımı meydana gelir. Bu masif ekstravazasyonun sonucunda hemokonsantrasyon, organ perfüzyonunun azalması, tromboembolik olaylar ve intravasküler sıvının peritoneal kaviteye ve akciğerlere kaçması sonucu abdominal rahatsızlık ve respiratuar distres sendromundan oluşan durum ovarian hiperstimülasyon sendromu olarak tanımlanır (1).

Gonadotropinlerle tedavi edilen infertil kadınların en önemli komplikasyonu olan OHSS'nin spesifik bir tedavi yöntemi yoktur. OHSS vascular endothelial growth factor (VEGF)'nin, vascular endothelial growth factor receptor-2 (VEGFR-2)'yi aktive etmesine bağlı olarak vasküler geçirgenliğin (VG) artması sonucu ovarian hipersekresyon ile oluşur (2).

OHSS gelişmesi için Luteinize Hormon (LH) benzeri aktivite gösteren human koryonik gonadotropinin (hCG) corpus luteum ve/veya antral folikül evresindeki overe eklenmesi gerekir, hCG'nin tek başına vazoaktif aktivitesi yoktur, bunun olması için bu gonadotropine cevap olarak overden bir veya daha fazla anjiogenik maddenin salınması gerekir (3,4).

Düşük doz dopamin reseptör 2 (Dp-R2) agonisti cabergolinin (cb2), spesifik VEGF/VEGFR-2 yolu kullanılarak vasküler permeabilitenin arttığı hastalıklarda, anjiogenezi etkilemeden OHSS'yi tedavi edebildiği söylenebilir (5).

Meloksikam bir siklooksijenaz-2 (COX-2) inhibitörüdür. Meloksikam ile VEGF ekspresyonunun azaldığı avidin-biotin peroxidaz kompleksi kullanılarak immunohistokimyasal olarak gösterilmiştir. Bu çalışmada ayrıca OHSS'de görülen ovarian ağırlık artışının ve VEGF ekspresyonunun daha az olduğu bildirilmiştir (6).

Bizim amacımız, OHSS'deki semptomların büyük kısmının vasküler geçirgenlikteki artışa bağlı olduğu ve bu geçirgenliğin VEGF bağımlı olduğu düşünüldüğünde VEGF ekspresyonunu azalttığı düşünülen cb2 ve meloksikam (COX-2 inhibitörü) adlı iki ilacın OHSS'yi önlemedeki etkinliklerini karşılaştırmaktır.

II. GENEL BİLGİLER

2.1.İNFERTİLİTE

OHSS sıklıkla yardımcı üreme teknikleri kullanılan infertil hastalarda kontrollü ovarian hiperstimulasyon (KOH) uygulanırken ortaya çıkan iatrojenik bir durumdur.

İnfertilite, çiftlerin en az bir yıl süreyle, hiçbir kontrasepsiyon yöntemi kullanmaksızın, düzenli cinsel ilişkide bulunmalarına rağmen çocuk sahibi olamama durumudur. Toplumda sağlıklı çiftlerin %10-15'inde infertilite problemi bulunmaktadır (7). Daha önce hiç gebelik oluşmamışsa, primer infertilite, canlı doğumla sonuçlansın ya da sonuçlanmasın, en az bir gebelik oluşmuşsa, sekonder infertilite denir. Bir menstrüel siklusta, gebe kalabilme olasılığına fekdabilite, bir siklusta canlı doğuma kadar gidebilecek gebelik oluşma olasılığına ise fekdite denir. Fekondabilite fertilitate potansiyeline sayısal baz oluşturması nedeni ile değerli ve bilimsel bir kavramdır. Ayrıca çeşitli fertilitate tedavilerinin yeterliliğinin sayısal olarak tahmin edilebilmesini ve optimal tedavinin planlanmasını sağlar. Sağlıklı çiftlerde yapılan çalışmalarda ilk üç ay boyunca fekdabilite 0,25 iken, sonraki 9 ayda 0,11 olarak bulunmuştur. On iki ayın sonunda gebelik elde edemeyen çiftlerde ise tedavi edilmediği takdirde bu oran 0,00 ile 0,04 arasındadır (7). Birinci yılın sonunda sağlıklı çiftlerin %85-90'ında gebelik gerçekleşir. Yani infertilite, üretken çağdaki çiftlerin %10-15'inde görülür (8). Ancak, 30'lu yaşların sonlarında olan kadınlarda, infertilite görülme oranı %25'e ulaşırken, 40 yaşından sonra fertilitate azalma daha hızlı olur (9,10).

Yetmişli yıllardan itibaren uygulanmaya başlanan in-vitro fertilizasyon (IVF) ve 1992'den itibaren uygulanan intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) yöntemleri erkek faktör infertilitesi başta olmak üzere günümüzde çeşitli nedenlere bağlı infertilitede umut olmuştur (8). Yardımcı üreme tekniği (YÜT) kullanılacak hastalarda KOH ile multiple folliküllerin, bunun sonucunda çok

sayıda oosit ve embriyoların elde edilebilmesi ile YÜT başarısını arttırmak amaçlanmıştır. Ne var ki, KOH uygulanan siklularda %20'lere varan prematür LH pikinin oluşmasının gebelik sonuçlarını olumsuz etkilediği görülmüştür. Pituitier bez gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) reseptörleri üzerinde desensitizasyona neden olarak endojen LH artışının engellenebileceğinin bulunması ile GnRH analoglarının kullanıma girmesi, bu prematür LH piki oluşumunu %2'lere düşürmüş, gebelik oranlarını arttırmıştır (9). Günümüzde gonadotropinlerle beraber GnRH agonistleri en sık reçete edilen tedavi ajanlarıdır. Agonist tedavi protokolleri arasında en sık kullanılanı uzun protokoldür. Ancak, bu tedavi protokolü 2-3 haftalık bir desensitizasyon süresi gerektirdiğinden tedavi süresi, ihtiyaç duyulan gonadotropin miktarı ve OHSS riski artmıştır. Hastalar desensitizasyon periodunda sıcak basması, baş ağrıları, kanama ve vajinal kuruluk gibi yan etkilere maruz kalmışlardır. GnRH zincirinde aminoasitlerin multiple noktalarda başka moleküllerle yer değiştirmesi ile elde edilen ve reseptöre yüksek afinite ile bağlanıp endojen gonadotropin salınımını engelleyen GnRH antagonistlerinden beklenti oldukça fazla olmuş, olumlu farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri ile agonistlerin yerini alabilecekleri düşünülmüştür. İlk flare up etkisinin olmaması, uzun desensitizasyon süresi gerektirmemesi ve böylece östrojen eksikliği semptomları yaşanmaması, kısa sürede yeterli LH baskılaması sağlaması, etkisinin doza bağımlı olması ve antagonist etkinin GnRH ya da agonisti ile hızlıca geri döndürülebilmesi antagonistleri agonistlere üstün kılan özellikleridir (11,12). Ayrıca yapılan çalışmalar tedavi süresinin ve kullanılan gonadotropin dozunun antagonist protokolde daha az olduğu yönündedir (12,13). Yapılmaya devam edilen ve yapılacak çalışmalarla antagonist tedavisinin agonist protokolü kadar gebelik sonuçları açısından etkili olduğu gösterilebildiğinde, antagonistler bu avantajlı etkileri ile klinik kullanıma daha sık girebilecektir.

2.2. KONTROLLÜ OVARIAN HİPERSTİMULASYON (KOH)

Ovarian stimülasyon sadece amenore ve anovülasyon durumlarında değil, tubal, erkek ya da nedeni bilinmeyen infertilite olgularında da kullanılmaktadır. KOH konsepti IVF pratiğinden doğmuştur. Uterusa birden fazla embriyo

verilerek gebelik hızının arttığı anlaşılmışla iyi kalitede yumurtaların seçilebilmesine imkan verecek ve mümkün olduğunca çok folikülün elde edilebileceği KOH rejimleri önem kazanmıştır. KOH rejimlerindeki amaç çoğul öncü foliküllerin eşik noktasını azaltarak dominant folikül seçim sürecini bertaraf etmektir (14).

2.2.1.KONTROLLÜ OVARIAN HİPERSTİMULASYON PROTOKOLLERİ

2.2.1.1.KLOMİFEN SİTRAT

Klomifen sitrat (CC)'ın gonadotropinlerle beraber kullanılması ilk kez IVF hastaları için önerildi fakat %20'lere varan prematür LH artışının oluşması bu rejimin etkinliğini gölgeledi. Bu problemin çözümünde 1980'lerin ortalarından itibaren GnRH agonistleri ve yakın zamanda ise endojen LH salınımını anında suprese eden GnRH antagonistleri tedavi protokollerine girmiştir (13).

2.2.1.2.GnRH ANALOGLARI

Peptid yapıdaki GnRH'nın primer yapısının delesyon ya da bir veya birkaç aminoasitin yer değiştirmesi ile elde edilen GnRH yapısal analoglarından çok sayıda mevcuttur.

GnRH agonistleri (GnRH-a)

Deneysel ve klinik çalışmalarda tekrarlayan invivo kullanımının gonadotropinler üzerinde bifazik salınım yaptığı bulunmuştur. İlk olarak folikül stimüle edici hormon (FSH) ve LH'da ani salınım (flare up etki) olur, daha sonra GnRH reseptörü down regülasyonu ve hücre içi uncoupling ile pituiter desentisizasyon aşaması gelişir. Gonadotropin sentezindeki progresiv azalma GnRH-a kullanımı oldukça devam eder. Desentisizasyonun şiddet ve süresi en azından LH için doza bağımlıdır. Yine doz ve formülasyona bağlı olarak ilaç bırakıldıktan sonra da endojen GnRH'a refrakter bir period oluşur. GnRH-a'nın bu özellikleri iki tedavi protokolünde kullanılmaktadır (15,16).

GnRH antagonistleri

GnRH'nin sentetik analogları olan bu ilaçlar pituiter GnRH reseptörlerine yüksek afinite ile bağlanırlar ancak GnRH reseptör çapraz bağlanmasını ve dolayısı ile kalsiyum aracılı gonadotropin salınımını yapamazlar. Böylece LH salgılanması üzerinde ilk flare up etkisi olmadan güçlü, kısa sürede ve reversible supresyon yaparlar; desensitizasyon periodu gerektirmezler (16,17). Agonistlerle karşılaştırıldığında antagonistlerin etkisi oldukça doza bağlı olup etki mekanizması endojen GnRH ile antagonist arasındaki dengeye bağlıdır (18). Şimdiye dek 3 jenerasyon antagonist kullanılmıştır. İlk ikisi histamin salınımı da yaptıklarından geçici sistemik ödem ve enjeksiyon bölgesinde inflamasyon (1. jenerasyon) ya da sadece lokal reaksiyona (2. jenerasyon) neden olmaktadır. Üçüncü jenerasyonun histamin salınım etkisi az olup, antiovlutuar etkisi 2. jenerasyona eşdeğerdir.

GnRH antagonistleri ile GnRH-a uzun protokolle karşılaştırmalı çalışmalarda sonuçlar tartışmalıdır. En azından çok merkezli çalışmalarda over folikül sayısı, toplanan oosit sayısı ve gebelik oranları agonist protokolüne göre daha az bulunmuştur (19). Foliküler gelişim açısından bakıldığında agonist siklusa göre antagonist sikluslarda foliküllerin başlangıçta hızlı büyüdüğü ve estradiol (E2) seviyesinin daha çabuk arttığı görülmüştür (18). Antagonist protokolünün kısa olması nedeni ile hasta uyumunun ve 3. jenerasyon antagonistlerin klinik toleransının yüksek olması antagonist protokolünün avantajlarıdır. Ayrıca kullanılan eksojen gonadotropin miktarının, OHSS sıklığının ve toplam maliyetin az olması da ek avantajlarıdır.

2.2.1.3.GONADOTROPİNLER

FSH preparatları

FSH ve LH karışımı olan düşük spesifisiteye sahip ve alerjik reaksiyonlara neden olan diğer üriner proteinleri içeren insan menapozal gonadotropini (hMG) yıllardır kullanılmaktadır. Rekombinant teknolojinin gelişimi ile LH ve FSH'ın tek başına olan paylarını ayırabilmek mümkün olmuştur (14). Gonadotropin seçimi kullanılan GnRH analog rejimine ve overin tahminsel cevabına göre

yapılmalıdır. Sözelimi, hipogonadotropik hipogonadizmde hMG preparatları yeterli östrojen üretimi ve endometrial matürasyonu sağlaması nedeniyle tercih edilmektedir veya polikistik over sendromlu (PCOS) hastalarda FSH kullanımı ile hMG ye göre daha az oranda OHSS izlenmektedir. Pituitier desensitizasyon yokluğunda FSH ile, hMG ye göre siklus başına klinik gebelik oranlarının daha fazla olduğu bildirilmektedir (13).

İlk olarak 1958’de pituitier bez FSH ekstraktları, 1962’de üriner ekstraktlar tariflendi. Saflaştırılmış insan idrar FSH’ı (u-hFSH) %95’ten fazla oranda saf FSH ve 9000 IU FSH/mg içerir. Sonraları rekombinant DNA teknolojisiyle saf insan FSH’ı follitropin alfa ve follitropin beta üretildi. R-hFSH’ı %99’dan fazla oranda saf FSH ve 10000 IU FSH/mg spesifik aktiviteye sahiptir (13).

Çeşitli çalışmalarda ve metaanalizlerde toplam oosit sayısı, FSH tüketimi ve süresi, gebelik oranları açısından r-FSH’in üriner ürünlere göre daha etkin olduğu belirtilmektedir (14,20,21).

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

-Kadın yaşı: Yaş tek başına spontan fertilitenin ve fertilitate tedavilerinin tüm çeşitlerinin sonuçlarının tahmin edilmesinde en önemli faktördür. Yaş arttıkça kullanılması gereken gonadotropin miktarı da artar (13,22).

-Over rezervi: Düşük rezervli hastalarda yüksek dozlarla başlanır (13).

-Vücut kitle indeksi (VKİ): Overin gonadotropinlere ovulasyon cevabı VKİ ile ters orantılıdır. PCOS’luların obez olanlarında insülin rezistansından bağımsız olarak daha yüksek doz gonadotropin gerektiği, buna karşın daha az sayıda oosit toplanabildiği gözlenmiştir (22). Buna karşın PCOS lu olmayanlarda artmış VKİ ile over cevabının etkilenmediğine dair yayınlar bulunmaktadır (23,24).

-Sigara içiciliği: İlk YÜT sikluslarında sigara içmeyenlerde gebe kalma oranı %38 iken içenlerde bu oran %28 olup doza bağlı olarak sigara içicilerinde konsepsiyon yaklaşık 2 ay gecikir. Fertilitedeki bu bozulma ve geç konsepsiyon, oosit sayısında azalma, implantasyon başarısızlığı ve erken düşüklere ilgilidir. YÜT sikluslarında sigara içicileri, içmeyenlere göre daha yüksek oranda gonadotropin dozu gerektirmektedir (13,25).

-Önceki ovülasyon indüksiyonu ya da KOH cevabı: Her ne kadar hem FSH hem de LH normal foliküler östrojen sentezi için gerekse de süperovülatuar sikluslarda FSH tek başına GnRH-a kullanılsa bile östrojen üretimini sağlayabilmektedir (14). Klinik çalışmalar GnRH-a uzun protokolüne LH eklenmesi ile siklus sonucunun değişmediği bildirmektedir. Öte yandan IVF siklusundaki hipogonadizmi hastalarda LH'tan yoksun ortamda gelişmiş oositlerde fertilizasyonun aynı hastaların FSH+LH kombine tedavisi ile elde edilen fertilizasyondan düşük olduğu görülmüştür (18). Bazı araştırmacılar geç foliküler fazda LH'nin foliküler büyümeyi kontrol ettiğini ve LH konsantrasyonları >0,5-1 IU/l olması ile foliküler sıvı E2 seviyesi, oosit miktarı ve fertilizasyonun daha iyi olduğunu ileri sürmektedir (14,18). R-hLH'nin iyi tolere edilebildiği, doza bağlı olarak E2 üretimi ve endometrial kalınlık sağladığı görülmüştür. Foliküler gelişim ve steroidogenez için gerekli LH miktarı minimaldir. Çünkü steroidogenezin devamı için LH reseptörlerinin %1' inden azının tutulumu yeterlidir (18). Hipogonadotropik hipogonadizmi hastalarda minimal etkin doz olan 75 IU ile yeterli foliküler matürasyon ve endometrial kalınlık sağlanabilmiştir (26).

2.2.2.OVÜLASYONUN TETİKLENMESİ

hCG: GnRH-a kullanılan IVF protokollerinde LH artışı sağlamak için u-hCG kullanılmaktadır. Bu ürün idrardan elde edilen diğerlerinin dezavantajlarını taşıdığından saf yapıda rekombinant teknolojiyle hCG (r-hCG) üretilmiştir. Bu ürünün 250 mikrogramı 5000 IU u-hCG'ye eşdeğerdir. Çalışmalarda toplanan oosit sayısı ve matür oosit sayısı konusunda çelişkili sonuçlar olmakla beraber

ortak nokta hCG sonrası serum progesteron konsantrasyonunun r-hCG ile daha yüksek olduğu yönündedir (13,27,28).

Rekombinant LH (r-hLH) : r-hLH ın yarılanma ömrü 2 saat iken u-hCG'nin 24 saat olup aralarında 10 kat fark ve yaklaşık 7 günlük aktivite farkı vardır. Daha uzun ömrü ve yüksek afinitesi nedeni ile u-hCG ile, GnRH-a'ya veya LH'a göre OHSS riski daha fazladır (29).

GnRH agonistleri: GnRH-a ile indüklenen endojen LH artışı indirekt mekanizmaya ve hastanın kendi pituitar cevabına bağlıdır. Böylece hCG nin abartılı luteotrofik etkisinden farklı olarak daha fizyolojik seviyede estradiol ve progesteron konsantrasyonu sağlandığı görülmüştür. Sonuç olarak pratikte ovülasyon indüksiyonunda GnRH-a kullanımı yüksek OHSS riski olan kadınlarda, multiple gebelik riskinde ve daha önce pituitar desensitizasyon uygulanmamış sikluslarda avantajlıdır (30).

2.3.OVARIAN HİPERSTİMULASYON SENDROMU (OHSS)

Gonadotropinlerle tedavi edilen infertil kadınların en önemli komplikasyonu olan OHSS semptomatik hastalarda vasküler permeabilitenin artması ve sıvının intravasküler alandan ekstrasvasküler alana kaçmasından dolayı vücut boşluklarına sıvı akımı olur. Bu masif ekstrasvazyonun sonucunda hipotansiyon, renal kan akımı azalması, idrar çıkışında azalma, hemokonsantrasyon, organ perfüzyonunun azalması, tromboembolik olaylar ve sıvının peritoneal kaviteye ve akciğerlere kaçması sonucu abdominal rahatsızlık ve respiratuar distres sendromu oluşabilir. Overlerin aşırı büyümesine bağlı adnexial torsiyon gelişebilir. Bu semptomların ortaya çıkması birçok ölümün sebebi olan OHSS yi tanımlar (1).

Gonadotropinlerle tedavi edilen infertil kadınların en önemli komplikasyonu olan OHSS'nin spesifik bir tedavi yöntemi yoktur. Kapiller permeabilitenin artması patofizyolojik olarak en çok kabul gören hipotezdir. Vascular endotelial growth factor ve diğer sitokinler OHSS patogeneğinde

merkezi rol oynar. Buna göre OHSS; VEGF'nin, VEGFR-2'yi aktive etmesine bağlı olarak vasküler geçirgenliğin artması sonucu ovarian hipersekresyon ile oluşur (2).

Daha önceden OHSS rodent modelinde artmış VG'nin VEGF reseptör antagonisti olan SU5416 ile VEGFR-2'nin inaktive edilmesiyle önlenebildiği gösterilmiştir. Buna karşın toksisitesi (tromboemboli) ve VEGFR-2 bağımlı anjiogenik prosesin bozulmasının gebelikte kritik olmasından dolayı klinikte kullanılamamıştır (3).

OHSS gelişmesi için LH benzeri aktivite gösteren hCG corpus luteum ve/veya antral folikül evresindeki overe eklenmesi gerektiği bilinir, çünkü ooferektomi uygulanmış veya hCG verilmemiş kişilerde sendrom gelişmemektedir (4). hCG'nin tek başına vazoaktif aktivitesi yoktur, bunun olması için bu gonadotropine cevap olarak overden bir veya daha fazla anjiogenik maddenin salınması gerekir (3).

Ovarian hiperstimulasyon sendromu tamamen iatrojeniktir. OHSS çok nadir olarak PCOS'lu hastaların spontan sikluslarında ve klomifen sitrat tedavisini takiben gelişebilse de pratikte eksojen gonadotropin tedavisinin postovulatuvar bir komplikasyonu olarak sayılmaktadır. OHSS nin iki önemli komponenti vardır; birincisi ani ve bilateral over büyümesi, ikincisi ise intravasküler sıvının akut olarak üçüncü alana sızmasıdır. Overler 5-12 cm çapa ulaşabilir. Tipik olarak hCG verildikten 7-12 gün sonra başlar ve hafif olabileceği gibi çok şiddetli de olabilir. Hastaların %8.4-23'ünde hafif hiperstimulasyon görülür ki bu overlerde hafif büyüme ve minimal semptomlarla karakterizedir. Orta derecede hiperstimulasyon hastaların %6-7' sinde ve şiddetli hiperstimülasyon %0.8-2'sinde görülür (31). Orta derecedeki formunda hafif hiperstimulasyon bulgularına ek olarak ultrasonografik olarak saptanabilen asit de mevcuttur. Şiddetli formu oldukça kötü sonuçlara yol açabilir. Overlerde ileri derecede büyüme, asit, plevral efüzyon, hemokosantrasyon ve hiperkoagulabilite, over torsiyonu ve rüptürü, ileri

derecede elektrolit bozuklukları, epileptik nöbet, solunumda bozulma, böbrek yetmezliği ve ölüme kadar giden bir tabloya yol açabilir. Ovarian hiperstimulasyon sendromu şöyle sınıflandırılabilir (31);

Grade1: Abdominal distansiyon

Grade2: Abdominal distansiyon, bulantı, kusma ve /veya diare

Grade3: Hafif hiperstimulasyon bulgularına ek olarak ultrasonografik olarak saptanan asit

Grade4: Klinik asit, hidrotoraks, dispne

Grade5: Hemokonsantrasyon, koagülasyon bozuklukları, böbrek fonksiyonunda bozulma

OHSS oluşturan nedenler arasında birincil aday, vasküler endotel geçirgenlik faktörü olarak da adlandırılan VEGF olup hCG bağımlı ovarian anjiogeneziste en önemli mediatördür (32,33). Hatta hCG eklendikten sonra granüloza hücrelerindeki VEGF mRNA seviyesinin arttığı bilinir (33,34). VEGF sadece yeni damar oluşumunu uyarmaz ayrıca reseptör-2 (VEGFR-2) aracılıklı vasküler hiperpermeabiliteyi de uyarır (2).

OHSS rodent modelinde, vasküler permeabilite artışı, SU5416 kullanılarak VEGFR-2'nin intraselüler fosforilasyonu bloke edilerek önlenmiştir (3,35). Yan etkilerinden (tromboemboli, kusma) ve erken gebelik döneminde gelişebilecek ovarian ve uterin anjiogenezis ile ilişkili implantasyonu bloke edebileceğinden dolayı OHSS tedavisinde klinik kullanımı olmamıştır (36,37,38).

Yüksek doz Dopamin reseptör-2 (Dp-R2) agonistinin eklenmesi fare kanser modelinde VEGF/VEGFR-2 sinyal aracılıklı tümör ilişkili anjiogenezisi ve vasküler permeabiliteyi bloke etmiştir. İnvitro çalışmalar sonucunda altta yatan VEGFR-2 aracılıklı moleküler mekanizmanın Dp-R2'nin aktivasyonu ile indüklendiğini gösterilmiştir (39). Dp-R2 agonistleri tümör modeline göre hipofizden prolaktin salgılanımı azaltmak için çok daha düşük dozlarda kullanılır. Düşük doz Dp-R2 agonisti insanlarda hiperprolaktinemi tedavisinde

kullanılır (40,41). İlginç olarak düşük doz Dp-R2 agonistleri antianjiogenik aktivite göstermez ve bu fizyolojik durumlarda örneğin; corpora lutea veya gebelikteki yüksek seviyede VEGFR-2 bağımlı vasküler aktivite etkilenmez (40,41,42). Düşük doz Dp-R2 aktive eden ilaçlar anjiogenezi etkilemeden vasküler permeabiliteyi düşürebiliyorsa bu etki VEGFR-2 aracılıklı etki ile olur. Anjiogenezi etkilememesi nedeniyle gebeliğin implantasyonunu da engellemediği düşünülebilir.

Prolaktinin ratlarda -fakat insanlarda değil- corpus luteumun oluşumu ve fonksiyonu için proanjiogenik dönemde önemli olduğu iyi bilinir (43). Buna karşın OHSS rat modelinde Dp-R2 agonisti eklememiz sadece VEGF/VEGFR-2 yolunu etkilemez (5).

Bu gözlemlere dayanarak bir Dp-R2 agonisti olan düşük doz cabergolinin yeni, spesifik, nontoksik yaklaşımda VEGF/VEGFR-2 yolu kullanılarak vasküler permeabilitenin arttığı hastalıklarda, anjiogenezi etkilemeden OHSS'yi tedavi edebildiği söylenebilir.

Meloksikam bir COX-2 inhibitörüdür. Daha önceden yapılmış bir çalışmada meloksikam ile VEGF ekspresyonunun azaldığı avidin-biotin peroxidaz kompleksi kullanılarak immunohistokimyasal olarak gösterilmiştir (6). VEGF'nin birçok kanserde ekspresyonu gösterilmiş ve prognozla ilişki kurulmuştur. Prostat kanserinde VEGF ve siklooksijenaz-2 enzimi (COX-2) arasındaki ilişki gösterilmiştir. Prostat kanserinde hipoksinin VEGF'yi indüklediği gösterilmiş ve COX-2 inhibitörlerinin VEGF'nin hipoksiye cevap olarak artışını inhibe ettiği bildirilmiştir. Bu çalışmada VEGF ekspresyonundaki artışın prostaglandin E2 (PGE2) aracılıklı olduğu bildirilmiştir. PGE2 aracılıklı VEGF artışı da COX-2 inhibitörleri ile azaltılmıştır (44).

2.3.1.RİSK FAKTÖRLERİ

OHSS gelişme riski aşağıdaki özellikleri taşıyan kişilerde daha fazladır (45). :

- 1.Genç
- 2.Polikistik Over Hastalığı
- 3.Yüksek serum östrojen seviyeleri (>2000 pg/ml)
- 4.Önceki sikluslarda OHSS
6. Küçük ve orta büyüklükteki 15'ten fazla folikül

2.3.2.OHSS'DEN KORUNMA

OHSS tedavisinde kesin tanının ve aktif önlemin çok önemli olduğu belirtilmiştir (46,47). Araştırmacılar ovarian stimülasyon boyunca OHSS'nin kesin tanısı için USG kullanımı ve foliküler gelişimin endokrin monitörizasyonunun kombine edilmesini tavsiye etmişlerdir (48).

2.3.2.1.ENDOKRİN MONİTÖRİZASYON

Yapılan bir çalışmada 70 ovulasyon döngüsünde plazma 17- β estradiol ve 24 saatlik üriner estriol glukronid ve USG kullanımı kıyaslanmıştır. Plazma estradiolü, hiperstimülasyon skorunun en iyi göstergesidir. Plazma estradiol seviyesi < 1000 pg/ml olduğunda OHSS görülmemekte ve estradiol > 4000 pg/ml olduğunda tüm gebelerde OHSS ortaya çıkmaktadır (49).

2.3.2.2.USG İLE FOLİKÜLER MONİTÖRİZASYON

USG'nin gebeliğe yardımda foliküler gelişimin monitörizasyonunda geniş kullanımı vardır. OHSS'de foliküllerin boy, sayı ve dağılım paternini göstermek için değerlidir. Tal ve arkadaşları, gelişmemiş folikül sayısı ve OHSS arasında pozitif korelasyon bulmuştur (50).

Donninger ve arkadaşlarının çalışmasında stimülasyon öncesi ovarian bazal volümün OHSS oluşmasındaki riskini araştırmıştır. Üç boyutlu USG ile ovarian stimülasyondan önceki ve hCG enjeksiyon gününde ölçümler yapmışlardır. Araştırmada OHSS'yi göstermek için günlük transvaginal (TV) renkli doppler kullanılmıştır. OHSS ve bazal ovarian volüm arasında anlamlı korelasyon bulmuşlardır (51). Yazarlar riskli hastaların ortaya çıkmasında ovarian volümetrinin fikir verdiğini belirtmişlerdir (48).

Moohan ve arkadaşları, intraovarian kan akımı ve OHSS'nin ciddiyeti arasındaki ilişkiyi belirlemek için renkli TV USG ve pulsed doppler görüntüleme kullanmışlardır. Yazarlara kontrol altındaki ovarian hiper stimülasyonlu hastalarda OHSS gelişmesindeki risk hakkında intra ovarian vasküler direnç fikir vermiştir. Yazarlar estradiol seviyesi ve USG'nin OHSS'yi göstermede en iyi yöntem olduğunu söylemektedirler. USG ile folikül izlemi hCG vermek için en iyi zamanı belirlemek, estradiol seviyesi ve USG'de küçük ve ara boyuttaki foliküller OHSS oluşma olasılığını göstermekte kullanılır (52).

2.3.3.OHSS'Yİ ÖNLEME

Rizk OHSS'nin önlenmesinde "ON KURAL"dan bahsetmektedir (47).

ON KURAL

1. hCG vermeme: en genel metod
2. Kontrollü drift periyodunda hCG'yi geciktirme
3. Ovülasyonu tetiklemek için GnRH-a kullanımı
4. Foliküler aspirasyon
5. Luteal faz desteği için progesteron
6. Kriyoprezervasyon ve daha sonraki sikluslarda dondurulup çözülmüş embriyoların tekrar yerleştirilmesi
7. PCOS'ta yavaş hMG protokolü ve laporoskopik drilling
8. Oositlerin atılım anında albumin verilmesi
9. Spontan konsepsiyonda selektif oosit atılımı
10. Glukokortikoid verilmesi

hCG Vermemek: Rizk ve Aboulghar, sendrom gelişmesi için yüksek riskte olan hastalarda hCG verilmemesinin en genel yöntem olduğunu belirtmişlerdir. hCG vermemenin kötü yanı siklusun durması pahasına OHSS'nin insidansını daha aza indirmektir (53). Serum estradiol seviyeleri yüksekken hCG vermeme çeşitli merkezlerde sıkça kullanılmaktadır. Schenker ve Weinstein, serum estradiol seviyesi > 800 pg/ml iken hCG vermemektedir (54). Blankstein ve arkadaşları 1700 pg/ml ve Haning ve arkadaşları 4000

pg/ml'yi üst limit olarak önermektedirler (49,55). Forman ve arkadaşları, hCG vermemeyi her biri 12 mm çaptan büyük ve 15 folikülden fazla olan foliküller ve estradiol seviyesinin 2000 pg/ml'nin üzerinde olmasının birlikte olmasıyla önermektedir (56).

hCG Vermeyi Geciktirmek: Ribinovici, gonodotropin ile yardımla oluşan 12 siklusta gelişen ciddi OHSS'lerde hCG'yi geciktirmenin başarılı olduğunu belirtmiştir. Biyokimyasal hiperstimülasyon veya hiperstimülasyon riski artan 12 hastada hCG tedavisi, tedavinin 2. ve 10. günleri arasında durdurulmuştur. Çoğu folikülün büyümesine rağmen plazma estradiol seviyesi düşmekte olan 9 hastanın 6'sında aşırı stimülasyon tespit edilmiş. Hiçbir hasta hCG'yi takiben gebe kalmamış, estradiol seviyesi hCG gününe kadar yükselmeye devam eden 3 hastada gebelik görülmüştür (57).

Urman, PCOS'lu 32 hastanın 40 siklusunda kontrollü ovarian stimülasyon uygulamıştır. Klinik gebelik yüzdesi her siklusta %25 ve OHSS %2,5 oranında ortaya çıkmıştır (58).

Benediva, gonadotropin verilmemesinin ciddi OHSS gelişmesi için yüksek riskli olan hastalarda etkili bir alternatif olduğunu söylemiştir. Buna rağmen risk tamamen elimine edilememekte ve bu strateji yüksek gebelik oranına tekrar çoklu dondurma ve eritme sikluslarına ulaşmada kullanılmaktadır (59).

Ovulasyonu Tetiklemede GnRh-a Kullanımı: Gonen ve Itscovitz, ovulasyonun ortaya çıkmasında agonistin ani başlangıç etkisini kullanmışlar. OHSS riski olan hastalara intranasal buserelin (8 saatlik intervallerle 200 mg'lık) ovulasyon tetiklemesi için kullanılmış ve OHSS vakası olmadan %22'lik gebelik oranı elde edilmiştir (60-62).

İmohedemhe, gösterilmiş OHSS riski olan 38 hastada GnRh-a kullanmış serum estradiol seviyeleri 4000'in üzerinde OHSS oluşmadan 11 gebelik elde

etmiştir (63). GnRh kullanımında temel sınırlayıcı GnRh–a ile pitüiter desensitizasyon yapıldıktan sonra over stimülasyonlarıdır.

Foliküler Aspirasyon: OHSS insidansı; IVF sikluslarında artmamasına rağmen ilk ciddi OHSS vakası IVF programı sırasında gelişmiştir. IVF serilerindeki orta ve ciddi OHSS insidansı % 0,6 ‘dır (47,64).

Robinowitz ve arkadaşları, multiple foliküler aspirasyon koşulunda, folikülde sıvı granüloza hücresi yönünden çoğu boş olan hücrelerin aspirasyonunun OHSS’ye karşı koruyucu etkisinin olduğunu belirtmiştir. Dönem boyunca OHSS gelişen 85 hastanın 4’ünde multiple folliküler puncture ve aspirasyon yumurtayı kurtarmış ve sendrom oluşması engellenmiştir (57).

Aboulghar ve arkadaşları retrospektif çalışmasında aynı süperovulasyon protokolü uygulanan, ılımlı ve ciddi OHSS riski olan, foliküler aspirasyon yapılan 182 hasta ile foliküler aspirasyon yapılmayan 137 hastayı karşılaştırmıştır. OHSS ortaya çıkmasında foliküler aspirasyonun koruyucu olmadığını bulmuşlardır (65).

Egbase ve arkadaşları, prospektif randomize çalışmasında hCG verilmesinden önceki unilateral foliküler aspirasyonun ciddi OHSS’den koruduğunu belirtmişlerdir (66).

Luteal Faz Desteği: Doğal sikluslarda ovülasyondan yaklaşık 4 gün sonra tepe noktasına ulaşan steroid hormonlar 1 hafta bu seviyede kalır ve menstrual perioddan 5 gün önce düşmeye başlar. Uyarılmış sikluslarda luteal faz hormon üretimi multiple korpus luteum varlığından dolayı suprafizyolojiktir, ancak daha kısa sürelidir. Stimüle edilmiş IVF sikluslarında ovum toplanmasından sonraki ilk haftada steroid üretimi yeterli görülmektedir. Ancak, KOH sikluslarında GnRH’ın kullanılması ile korpus luteum fonksiyonunun anormal olduğu görülmüş ve luteal faz desteğinin önemi açığa çıkmıştır. Progesteron olduğu kadar östrojen de direkt olarak luteinizasyonu sağlamasa da progesteron

reseptörü yenilenmesinde gerekli olduğu için önemlidir. Bu nedenle korpus luteumdan hem östrojen hem de progesteron salınımı üzerindeki uyarıcı etkisinden dolayı hCG kullanımı ileri sürülmüştür. Teorik olarak korpus luteum devamlılığını sağladığı için GnRH-a sikluslarında hCG'nin progesterondan daha etkili olması beklenir. Ancak yapılan klinik çalışmalara göre GnRH-a kısa ya da uzun protokollerinde, tek başına veya östrojenle kombine intramusküler (İ.M.) progesteron ya da vajinal yolla verilen progesterona göre hCG nin üstünlüğü olmadığı sonucuna varılmıştır. İ.M. progesteron vajinal yolla karşılaştırıldığında klinik gebelik oranı ve doğum oranı açısından daha etkili olduğu ve tüm tedavi formlarına göre oral progesteronun en etkisiz olduğu görülmüştür. İ.M. ya da vajinal progesterona 2-6 mg oral östrojen eklenmesiyle implantasyon oranının arttığı tespit edilmiştir (11,67).

Embriyonun Dondurularak Korunması ve Sonradan Eritilerek Yerleştirilmesi:

Dondurularak koruma daha sonraki sikluslarda dondurulup eritilmiş ve yerleştirilmiş gebelik oluşmasını olumlu kılar ve dönem kaybını engeller. Amso, dondurulup korunmuş ve sonra tekrar yerleştirme sonucu hiperstimulasyondan kaçınılmış ve gebelik ile sonuçlanmış 4 vaka bildirmiştir (68). Bourn Hall kliniğinde 1989 ve 1990'da hiç ciddi OHSS vakasına rastlanmamıştır. Embriyonun dondurulup korunması riskli hastalarda uygulanmıştır. Sonraki dönemlerde dondurma sonrası eritilerek yerleştirme sonucu klinik gebelik oranı % 37'dir (47).

Wada, OHSS'den korunmada elektif dondurulup korunmanın başarılı olduğunu söylemiştir (69). Queenan, tüm prezigotları dondurup korunmanın ciddi hiperstimulasyon olan hastalarda sendromu elimine etmediğini fakat dondurulup eritilerek sonradan yapılan transferin gebelik şansını artırdığını belirtmiştir (70).

Spontan yumurtlama döneminde selektif oosit elde etme: Selektif oosit elde etme IVF programında hCG verilmesinden 35 saat sonra ovarian

foliküllerin en iyilerinin alınmasıyla OHSS'den korunma ve spontan yumurtlamada çoklu gebelik elde etmek için kullanılır (47).

Glukokortikoid tedavisi: OHSS için yüksek risk taşıyan 17 hastaya steroid verilerek yapılan randomize çalışmada 100 mg. I.V. hidrokortizon oosit atılmasından hemen sonra verilmiştir. Daha sonra 3x1 10 mg. dozunda 5 gün verilmiştir. Sonraki 3 gün 2x1 10 mg. verilmiştir ve 2 gün 1x1 10 mg. verilmiştir. 14 kişiden oluşan kontrol grubuna hiç glukokortikoid tedavisi verilmemiştir. Çalışmada ovarian cevap her iki grupta da benzer bulunmuştur. Tedavi edilen grupta OHSS gelişmesi %41,2 iken kontrol grubunda %42,9'muş. OHSS insidansı her iki grupta da yüksekmiş (sadece ılımlı ve ciddi formlar sayıldığında). Kortikosteroid alanlarda hafif %11 ve ciddi %6, kontrolde hafif %7 ve ciddi %7 saptanmış. Yazarlar glukokortikoidlerin OHSS yüzdesini düşürmediğinde birleşmişlerdir (71). Bu çalışmada OHSS riskini düşürmede glukokortikoidlerin daha uzun kullanılmaması gerektiği anlaşılmıştır. Buna karşın randomize vaka sayısı az olduğu için kesin sonuçlar elde edilememiş. Son zamanlardaki çalışmalar OHSS'nin inflamatuvar etyopatolojisinde kortikosteroid ve diğer antiinflamatuvarları kullanmayı tekrar düşündürmektedir.

İntavenöz albumin verilmesi: Üç boşluğa değişik şekillerde sıvı kaçağı olan hastalardaki çalışmalar albuminin hemodinamik stabiliteyi korumada önemli bir araç olduğunu göstermiştir. Yüksek OHSS riski olan hastalarda onkotik basıncı artırmak ve İV boşluktan sıvı kaçışını tersine çevirmek için albumin kullanılmıştır (72,73). OHSS'nin önlenmesinde albuminin multifaktöriyel rolü olduğu düşünülmektedir. Özellikle corpus luteumdan salgılanan vazoaktif maddelerin parçalanmasını sağlar. Albuminin 10-15 gün yarı ömrü vardır. Hastalar hCG enjeksiyonundan 3-10 gün sonra OHSS geliştirirler, bu olay embriyo transferinden bağımsızdır. Oositin alınması sırasında ve hemen sonrasında albumin verilmesi bu faktörlerin geri alınmasını ve inaktive edilmesini sağlayabilir. Albumin onkotik özellikleriyle İV volümü düzenlemede hipovoleminin, asitin ve hemokonsantrasyonun azalmasını

sağlayabilir. Ancak bazı çalışmacılar profilaktik İ.V. albumin tedavisine rağmen bazı hastalarda OHSS geliştiğini belirtmişlerdir (74).

Hidroksietil nişasta solüsyonunun (HES) profilaktik infüzyonu: İnsan albumini verilmesiyle infektif virüslerin potansiyel geçişi gözlenmiş, bazı gruplarda non-biyolojik HES'in güvenliği test edilmiştir. HES'in moleküler ağırlığı 200'den 1000 kDa'a kadardır ve intravasküler ve onkotik basıncı etkili olarak artırır. HES'in serum yarı ömrü 10 saattir ve ayrıca platelet agregasyonunu engeller. Bir prospektif çalışmada HES'in 100 yüksek riskli hastada (E2 seviyeleri >3000 pg/ml veya >20 oosit olan) etkileri araştırılmıştır. Bu hastalara oosit geri alımında 1000 ml ve 48 saat sonra 500 ml %6 HES verilmiştir. HES'le tedavi edilmemiş 82 yüksek riskli hastadan oluşan kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Gerçekten HES kullanılanlarda hafif OHSS oranı daha düşüktür fakat ciddi OHSS'de azalma görülmemiştir (75).

Plasebo kontrollü prospektif randomize çalışmada 101 yüksek riskli hasta (E2 >1500 pg/ml veya >10 folikül) embriyo transferini takiben hemen %6'lık 1000 ml. HES verilmiş ve plasebo grubu ile karşılaştırılmıştır. HES grubunda hafif OHSS'li bir vaka ve plasebo grubunda 1 ciddi OHSS'li ve 6 hafif OHSS'li vaka ortaya çıkmıştır (p=0,031) (76).

Başka bir çalışmada yüksek riskli hastalarda (E2 >3000 pg/ml veya >20 folikül) 500 ml. %6'lık HES (n=85) verilen ve 50 ml %20 insan albumini (n=85) veya plasebo (n=83) verilen hastalar prospektif randomize bir çalışmayla karşılaştırılmış. Plasebo grubunda 4 tane ciddi OHSS gözlenirken albumin ve HES grubunda ciddi OHSS gözlenmemiştir (77).

Son yıllarda OHSS'yi önlemede cb2 ve meloksikamla ilgili de çalışmalar yapılmıştır. Gomez ve arkadaşları ratlarda yaptıkları çalışmada düşük doz cb2 verilmesinin VEGFR-2 aracılıklı luteal anjiogenezi etkilemeden VEGF aracılıklı vasküler geçirgenliği azalttığını ve VEGF ekspresyonunun azaldığını belirtmişlerdir (78). Quintana ve arkadaşlarının da ratlarda yaptığı bir çalışmada

OHSS geliştirilen ratlarda meloksikam tedavisi alan grupta over ağırlıkları ve VEGF ekspresyonunun kontrol grubuna göre daha düşük olduğu saptanmıştır (6). Bu çalışmalar OHSS önlenmesinde yeni tedavi seçenekleri açısından umut vericidir.

2.3.3.1.PCOS'LU HASTALARDA OHSS'Yİ ÖNLEME

Rizk ve Smiths, PCOS'lu ovarian stimülasyon yapılan hastalarda OHSS'nin ciddi formlarının oluşma riskinin çok yüksek olduğunu şiddetle belirtmişlerdir (79). OHSS'den korunmada bu grup hastalarda karşılaşılan en büyük zorluk OHSS gelişimine sebep olacak doz ile stimülasyonu sağlayacak dar aralıktır.

Düşük doz HMG veya FSH step-up protokolü non İVF için güvenli bir protokoldür. Aboulghar düşük doz FSH ve HMG protokolünü ciddi OHSS hikayesi olan hastaların tedavisinde kullanmışlardır (80). OHSS gelişen PCOS'lu hastalarda rekombinant FSH düşük doz protokolü, düşük doz HMG protokolüne eşit oranda başarı oranına sahiptir. PCOS'lu ve ciddi OHSS olan hastalarda düşük doz HMG ve rekombinant FSH düşük doz tedavisi ovülasyon ve gebelik sağlamada eşit oranda başarılıdır. Ayrıca bu protokol OHSS gelişim riski açısından güvenilirdir. Eğer İVF için ovarian hiperstimülasyon yapıldıysa daha düşük doz HMG veya FSH ile başlanması önerilir. Eğer hastanın OHSS gelişim riski altında olduğu bulunduyorsa HMG enjeksiyonu durdurularak ve estradiolün 4000 pg/ml'nin altına düşünceye kadar takip edilmesi mükemmel ve güvenilir bir protokoldür. Diğer protokol de hCG enjeksiyonunu durdurmaktır (80).

Laparoskopik ovarian drenizasyon metodu PCOS'lu hastalarda OHSS'yi engellemede başarıyla kullanılmıştır. Ovarian diatermi ve lazer vaporizasyonu OHSS riski olan hastalarda ovarian stimülasyon başlamadan hemen önce kullanılmış yöntemlerdir (81,82). Ovarian diatermi 1 veya 2 overde kullanılmıştır. Sonuçları cesaret vericidir. Ancak bu yaklaşımı sınırlayan bir çok etken vardır. Ovarian atrezi veya atrofi riski özellikle mikrocerrahi yerine makro

cerrahi tercih edildiğinde göz önüne alınması gereken bir risktir. Standart için gereken genel anestezi başka bir çekinedir. Son günlerde Almada ve Rizk ilk mikro laparoskopik ovarian drenizasyonunu PCOS'lu bir hastada gerçekleştirdiklerini bildirmişlerdir (83). Şu ana kadar devam eden serideki vakaların sonuçları umut vericidir. Bu minimal invaziv metod gelecekte ilerlenecek bir yol olabilir.

2.3.4.OHSS TEDAVİSİ:

OHSS geliştiği zaman tedavide öncelikle konservatif yaklaşılr. OHSS'nin zamanla dereceli olarak iyileşebileceği unutulmamalıdır. Gebelik oluşmazsa 7 günde, oluşursa 10-20 günde geriler. Hafif ve orta şiddetli OHSS hastalarında düzenli telefon görüşmesi ve muayene, ayrıca hastada dispne, idrar azalması ve/veya alışılmadık durumlarda bildirmesi takip açısından yeterli görülmektedir. Kilo artımı çoksa, batında ağrı fazla ise, hematokrit (Htc) % 50 olmuşsa, oligüri, dispne ve postural hipotansiyon varsa hospitalize edilmelidir. Pelvik ve abdominal muayene, fiziksel aktivite ve cinsel ilişki yasaklanır. Yatak istirahati, günlük kilo takibi, aldığı çıkardığı sıvı takibi önerilir. Hematokrit, BUN, elektrolitler, total protein, albumin/globulin oranı, koagülasyon faktörleri ve üriner sodyum potasyum ölçümleri seri olarak tekrarlanır. EKG hiperkaleminin takibi açısından kullanılabilir. Elektrolit dengesizlikleri için gerekli tedaviler yapılır. Su ve tuz alımının kısıtlanması tartışmalı bir konudur. Htc takibi herhangi bir kanamayı belirlemek açısından anlamlıdır. Ciddi vakalarda overlere dikkat edilerek asit aspirasyonu solunumu rahatlatır. Tekrarlanan aspirasyonlarda kayıp olan plazma proteinlerinin yerine konulmasına dikkat edilmelidir. Bu hastalarda cerrahi girişimden mümkün olduğu kadar kaçınmak gerekir (45).

HAFİF OHSS: Konservatif tedavi ve takip

CİDDİ OHSS:

Monitorizasyon Yöntemleri:

1. Sıkı sıvı takibi
2. Plasma ve idrar osmolaritesi
3. Üre ve elektrolitler
4. Pıhtılaşma parametreleri
5. Karaciğer fonksiyon testleri
6. Gebelik testi
7. Pelvik sonografi
8. İnvaziv hemodinamik monitorizasyon

Medikal Tedavi:

1. Doğru dolaşım ve elektrolit imbalansı
 - (i)Elektrolit imbalansının düzeltilmesi
 - (ii)Plasma genişleticiler
2. Antikoagulanlar: klinik ve laboratuvar tromboembolizmde
3. Prostaglandin sentez inhibitörleri renal perfüzyonu arttırabilir
4. Antihistaminikler: etkili değil
5. Danazol : etkili değil
6. Diüretikler: intra vasküler volümü azaltır
7. Dopamin: oligürik hastalarda kullanılabilir

Cerrahi Tedavi:

Laparoskopi:

1. Tecrübeli cerrah
2. Eğer sadece hemoraji, torsiyon , rüptür, ektopik gebelik varsa
3. Hasta hemodinamik olarak stabilse

Laparotomi:

Geçmeyen iki taraflı ovarian kiste

Asidik Sıvının Aspirasyonu:

1. Abdominal parasentez
2. Transvajinal aspirasyon

Cerrahinin Avantajları:

1. Semptomları düzeltir
2. Renal fonksiyon ve üriner çıkışı düzeltir
3. Hospitalizasyonu kısaltır
4. Venöz dönüşü ve kardiyak output'u düzeltir

2.3.4.1.HASTANEDE KLİNİK BİYOMONİTORİZASYON:

Hastanın genel durumu düzenli izlem gerektirir ve vital bulguları günlük ağırlık ve bel çevresinin ölçümünü gerektirir. Özellikle idrar çıkışının ve sıvı takibinin çok dikkatli yapılması gerekir. Biyokimyasal monitorizasyon böbrek (BFT) ve karaciğer fonksiyon testleri (KCFT), koagülasyon profilinden ve tam kan sayımından (CBC) oluşur. Serum ve üriner osmolarite ve üriner elektrolit ölçümü hastalığın şiddeti artarsa gerekli olabilir. Respiratuvar problemler ve/veya BFT'de belirgin bozulma kan gazları ve asit baz dengesinin araştırılmasını gerektirir. Bu ölçümlerin aralığı, hastalığın şiddetine göre değişebilir. USG'de kesin over ölçüleri ve asit olup olmadığı ve plevral veya perikardial effüzyon olup olmadığı değerlendirilir. Ayrıca intra veya ekstrauterin gebelik ve çoklu veya heterotropik gebelik olup olmadığı değerlendirilir. Göğüs X-ray'i ayrıca hidrotoraks varlığı hakkında bilgi verir. β -hCG miktarı mümkün olan en kısa sürede gebeliği gösterir. İnvaziv hemodinamik monitörizasyon; (santral venöz basınç ve pulmoner arter basıncı), volüm genişletici verilmeye başlamanın kesin koşuludur.

2.3.4.2.MEDİKAL TEDAVİ:

Dolaşım ve elektrolitler: Genelde OHSS'li hastalar hipovolemik, hiperkalemik ve azotemiklerdir. OHSS'nin açıklanmasında pek çok faktör öne sürülmüştür. Özellikle intravasküler sıvı kaçağının etiyolojideki yeri önemlidir.

Bu bağlamda VEGF, histamin, serotonin, büyüme faktörleri ve renin-angiotensin sistemi suçlanmıştır.

Tedavinin temel yolu doğru dolaşım volümü ve elektrolit imbalansıdır. Amaç normal İ.V. volümü sağlamak ve yeterli renal fonksiyonu sağlamaktır. Bu olay kolloid plazma genişleticiler ve insan albuminiyle sağlanabilir. Plazma genişleticileri kullanılmasının ekstrasvasküler boşluğa dağılmadan hemen önceki yararlı etkilerinin geçici olduğu ve asit oluşumunu arttırması ihtimali de mevcuttur. Uygun solüsyon ile elektrolit düzensizliği düzeltilebilir (84,85).

Shapiro ve Hanning, Na ve su kısıtlaması önermiştir (84,86). Ancak Thaler hasta ağırlığı bel çevresi veya periferik ödemde bu yöntemle değişiklik olmadığını söylemiştir (85). Dolayısıyla Na ve su kısıtlaması geniş kullanım görmemektedir (52). Antikoagulan tedavisi eğer klinik tromboemboli bulgusu veya laboratuvarında yüksek koagulabilite varsa endikedir (48,87-89). Günümüzde venöz tromboz OHSS'nin en sık ciddi komplikasyonudur. Şiddetli OHSS'lerde profilaktik heparin uzun bir periyot boyunca bütün vakalara verilmesi uygundur. Önceden volüm yüklenmesi olmadan diüretik tedavisinin İ.V. volümü daha da sıkıştırarak hipotansiyon ve sekellerinin ağırlaştırması ihtimali vardır. Diüretikler kan vizkozitesini ve venöz tromboz riskini artırır. Ayrıca pulmoner konjesyon veya ödemin tedavisinde kullanılır.

Dopamin, son zamanlarda ciddi OHSS sonucu oluşan oligürik hastalarda böbrek fonksiyonunu düzeltmek için kullanılmaktadır. Dopamin renal etkilerini, renal kan akımı ve renal filtrasyonu arttırarak gösterir bunu da vasküler böbrekteki dopaminerjik reseptörleri uyarmak yoluyla başarmaktadır. Dopaminle tedavi olan oligürik hastalarda mantığa uygun olan sıvı ve tuzdan kaçınmak ve akut böbrek yetmezliğinden korunmaktır. Buna karşın dopamin tedavisi ciddi ve sıkı gözlemlerle verilmelidir (90).

2.3.4.3.CİDDİ OHSS'DE ASİT SIVISI VE PLEVRAL EFÜZYONUN ASPIRASYONU

ABDOMİNAL PARASENTEZ

Thaler, bir çalışmada parasentez sonrası üriner çıkışın prosedür sonrası kısa sürede arttığını, ağırlığın azaldığını ve bacak ödeminin ve abdominal çevrenin azaldığını göstermiştir (85). Uygulamayı takiben kreatinin klirensinin %50 oranında arttığını göstermişlerdir. Bider, ciddi OHSS'li ve plevral efüzyon veya asiti sonucu dispne ve nefes darlığı olan 12 hastayı abdominal aspirasyon ile tedavi etmiştir (91). Abdominal veya plevral efüzyon drenajı tüm hastalarda semptomları düzeltmiştir. Aspire edilen sıvı miktarı 200 ve 1400 ml arasındaymış. USG eşliğinde ovarian kiste zarar riski minimize edilir. Parasentez solunum sıkıntısında geçici rahatlama sağlar. Bazı hastalar spontan düzelmeye kadar tekrar parasentez ve efüzyon drenajına ihtiyaç duyar. Uzmanlar parasentezde oluşabilecek bazı riskleri söylemiş ve proteinden zengin sıvının çekilebileceğini belirtmiştir (92). Padilla, OHSS'de ciddi asit ve efüzyonun abdominal parasentez ile boşaltılmasının iyi tolere edilip rahatlama sağladığını göstermişlerdir (93). Renal fonksiyonları düzeltmenin daha başka yararları daha ileri çalışmaları gerektirmektedir.

Al-Ramahi, üç vakada peritoneal kateter kullanmış ve parasentezin tekrarlanma ihtiyacını azalttığını belirtmiştir. USG klavuzluğunda kapalı sistem (simp-lack) kilitli Dawson-Müeller kateter yerleştirilmiş ve asit sıvısının sürekli drenajına izin vermiştir. Abdominal rahatsızlıkta önemli azalma ve üriner çıkışta düzelmeye herhangi bir komplikasyon olmadan gerçekleşmiştir. Bu tekniğin tek çekinilebilecek yanı büyük miktarda plazma proteini azalmasıdır (94).

TRANSAJİNAL USG KLAVUZLUĞUNDA ASPIRASYON

Aboulghar, prospektif randomize çalışmalarda ciddi OHSS olan hastalarda USG eşliğinde transvajinal asit sıvısı aspirasyonunun etkilerini araştırmıştır (95). Ortalama hastanede kalış süresi, semptom görülen periyot ve bozulmuş elektrolit dengesi görülme süresinin konservatif tedavi edilen gruba

göre çok daha kısa olduğunu bulmuştur. Aboulghar ve Rizk asit sıvısının hemen aspirasyonunun hastalardaki semptomların hızla kaybolmasına, genel durum iyileşmesi ve üriner çıkışı arttırdığını bulmuşlardır (53). Semptomlarda belirgin düzelme asit sıvısının 900 ml. gibi az bir miktarının drenajı ile ortaya çıkmaktadır. Büyük volümlerde asit sıvısının aspirasyonu ile bile hemodinamik yan etkiler görülmemiştir. Plazma proteinlerinin replasmanı ise asit sıvısındaki proteinlerin yüksekliği nedeniyle şarttır. Özellikle hastaların %30'unda yapılan ikinci aspirasyonda bu gerekli olmuştur. Asit sıvısının birikim hızı oldukça değişken hızlarda iken ortalama olarak rahatsızlığa sebep olabilecek kadar büyük miktar asit sıvısı birikimi 3-5 günde olur. Aboulghar ciddi OHSS'li 3 vakada asit sıvısının transvajinal aspirasyonu ve oto transfüzyonla tedaviye gitmiştir (96). Semptomların belirgin düzelişi ve üriner çıkışın artması ilk düzelen bulgulardır. Ototransfüzyon sırasında ve sonrasında hiç reaksiyon görülmemiştir. Bu prosedür basit, güvenli ve heterojen biyolojik materyal kullanmadan çarpıcı fizyolojik başarı ile sıvı ve proteinlerin yanlış dağılımını düzeltebilen bir yöntemdir. Ancak asitin ototransfüzyonunu bazı araştırmacılar kesinlikle tavsiye etmemekte çünkü dolaşıma sitokinlerin reenjeksiyonuna neden olabilmektedir (48).

Aboulghar, ciddi OHSS tedavisinde I.V. sıvı tedavisinin ve asit sıvısı aspirasyonunun miktarını belirlemiştir. Ciddi OHSS'li 42 kadın, asit sıvısının USG eşliğinde transvajinal aspirasyonu ve intra venöz sıvı infüzyonuyla tedavi edilmiştir. Aynı koşullardaki konservatif olarak tedavi edilmiş 10 kadından karşılaştırma grubu oluşturulmuş. Son temel değerler; hemotokritteki yüzde değişimi, kreatin klirensini ve idrar çıkışının aspirasyondan önceki ve sonraki değerlerini içerir. Hastanede kalış süreleri boyunca iki grup arasında karşılaştırma yapılmış. Hemotokrit değeri %22 düşmüş, kreatinin klirensi %79,3 artmış ve idrar çıkışı %220,7 artmış. Ortalama aspirasyon sıvısı 3900 ml. imiş. Tedavi edilen kadınların ortalama hastanede kalış süreleri 3,8 günmüş. Kontrol grubunda ciddi semptom ve elektrolit imbalansının devam etmesi ortalama 9 gün , ortalama hastanede kalış süresi 11 günmüş. Ciddi OHSS'li hastalarda hassas İ.V. sıvı tedavisi ve asit sıvısının T.V. USG ile aspirasyonu semptomların

geçmesi için güvenli, etkili, komplikasyonu önleyen ve hastanede kalış süresini kısaltan bir yoldur. USG drenaj sırasında over yaralanmasını kolaylıkla önler. Bu prosedürü uygulamak için anesteziye gerek yoktur. Asit sıvısının drenajı daha iyi sağlanır. Çünkü douglas boşluğu en çok geliştiği yerdir (97).

2.3.4.4.CERRAHİ TEDAVİ LAPAROSKOPİ

Hurwitz, OHSS'li hastada oluşmuş over torsiyonunun açılmasının ilk vakasını anlatmıştır. Gebelik terme kadar devam etmiş ve sonuçta normal ikiz doğum olmuştur (98). Mashiach torsiyon gelişmiş hiperstimüle edilmiş 12 gebe kadını anlatmıştır. Erken uyarı ve tedavi yapılan gonadotropin tedavisi sonrası gebe kalan over torsiyonlu hastalar incelenmiştir. Adnexlerde karanlık alanların oluşması, hemoraji ve iskeminin basit torsiyon açmayla kurtulabileceğini belirtmişlerdir (99).

LAPAROTOMİ

Rizk, OHSS'de laparotomiden kaçınmıştır (46). Eğer çok gerekliyse uzman jinekolog ve hemostatik ölçümler altında overler korunabilir. Bider torsiyon, rüptüre ve Ovarian kist içine kanaması yüzünden opere olan ciddi OHSS'li 16 hastanın operasyon prosedürünü anlatmıştır (91). Aboulghar ektopik gebelikle komplike ciddi OHSS'li hastaların cerrahi tedavisini yapmıştır. Ektopik gebeliğin tedavisi bu gibi vakalarda çok zordur çünkü ciddi OHSS gelişen hastalarda internal kanama ortaya çıkmakta ve kaybedilen kan miktarı genel durumu yansıtmak için yeterli değildir. Büyük overlerin varlığı pelvisi doldurmakta ve diğer yapıların USG'de görülmesini zorlaştırmaktadır (100).

III. GEREÇ YÖNTEM

Çalışma Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Araştırma Merkezi'nde Mayıs 2007 tarihinde Birleşik Devletler Ulusal Sağlık Enstitüsü (United States National Institutes of Health) tarafından yayınlanmış ve 1996'da revize edilmiş laboratuvar hayvanları kullanımı ve bakımı rehberine göre gerçekleştirilmiştir (101). Çalışmaya Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu tarafından AKÜHEK-05-07 referans nosu ile araştırma onayı verilmiştir. Hayvanların gereksiz yere acı çekmemesine tüm çalışma boyunca dikkat edilmiştir. Çalışma projesi Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından 07.TIP.07 nolu proje olarak desteklenmiştir.

Deney Dizaynı

Çalışmada 60 adet 15 günlük dişi Wistar ratları alınarak laboratuvarında 7 gün tutulup, 22 günlük ve 20-35 gram arasına ulaşmaya kadar ratlar standart diyetle beslenip, sınırsız su verildi ve 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık programı (saat 07:00-19:00 arası aydınlık) uygulandı. Çalışma 50 adet ratla tamamlanmış olup, çeşitli gruplardan toplam 10 adet ratta anestezi madde yan etkisi, hipovolemik şok gibi nedenlerle exitus gelişmesi nedeniyle çalışma dışı bırakılmıştır. Bu nedenle çalışma her grupta 10 rat olacak şekilde tamamlanabilmiştir.

Grup 1: Kontrol grubu

Grup 2: 10 IU gebe kısrak serum gonadotropini (PMSG) + 10 IU human koryonik gonadotropin (hCG)

Grup 3: 10 IU PMSG + 30 IU hCG

Grup 4: 10 IU PMSG + 30 IU hCG + 600 µg/kg meloksikam (Her PMSG ve hCG'den 2 saat önce)

Grup 5: 10 IU PMSG + 30 IU hCG + 100 µg/kg cabergolin

Deney grubu ratlarda OHSS'nin major belirtilerinin ortaya çıkması için, 22 günlük ratlara 4 gün boyunca PMSG (Folligon®-İntervet) 10 I.U. subkutanöz (s.c.) olarak verildi. 26 günlük olan hayvanlardan grup 2'dekiler (hafif OHSS grubu) 10 I.U. hCG (Chorulon®-İntervet), ciddi OHSS grubundakiler de (Grup 3-4-5) ise 30 I.U. hCG ile ovulasyon indüklendi. Tüm 22 günlük hayvanların çalışmaya başlamadan önceki ağırlıkları ölçülüp kaydedildi. Tedavi grubu ratlardan grup 4'e 600 µg/kg meloksikam (Zeloxim®-Bilim) intramuskuler (I.M.) olarak, her PMSG ve hCG'den 2 saat önce uygulandı. Grup 5'teki ratlara da 100 µg/kg cb2 (Dostinex®-Pharmacia) hCG gününde oral gavaj yoluyla verildi. Hayvanları hipotermiden korumak için işlemler 22-26 derece oda sıcaklığında yapıldı. Sonrasında hayvanlardaki vasküler permeabiliteyi değerlendirmek için hCG uygulamasından 48 saat sonra tüm ratlar tekrar tartılarak 5 mg/kg ketamin intraperitoneal uygulandı. Daha sonra 5 mM Evans Blue (EB) boyası distile suda seyreltilerek sabit miktarda (0.2 ml), ratların uygun boyun diseksiyonu yapıldıktan sonra juguler venden insülin enjektörü yardımıyla intravenöz (I.V.) olarak verildi. Otuz dakika bekleme süresinden sonra peritoneal kavite 5 ml % 0.9 NaCl solusyonu (21 derece) ile doldurularak 30 saniye çalkalanıp doku ve damar hasarı oluşturmadan vasküler katater ile periton yıkama sıvısı dikkatlice geri alındı. Peritoneal sıvı 0.05 ml 0.1 N NaOH içeren tüplere konuldu. Sonrasında hayvanlardan intrakardiyak kan alınarak hayvanlara ötanazi uygulandı. Tüm bu işlem boyunca ratların solunumu ve kalp tepe atımları takip edildi. İşlem sırasında exitus gelişen ratlar çalışma dışında bırakıldı. En son olarak ex hayvanların bilateral overleri çıkarılarak hassas tartıda tartıldı.

Histopatolojik Değerlendirme

Her ratın overleri ayrı ayrı formaldehit içeren kaplara alındı. VEGF ekspresyonunu değerlendirmek için overler immunohistokimyasal boyama yapılarak değerlendirildi. Dokular % 10 tamponlu formalinde tesbit edilip, rutin doku takip işlemlerinden geçirilerek parafin ile bloklandı. Parafinli bloklardan mikrotom ile 2-3µm lik kesitler alınıp deparafinize edildi. Hemotoksilen-Eozin boyası ile boyanarak değerlendirildi. Yine aynı şekilde alınan kesitler avidine-

biotin immun peroksidaz sistemi kullanılarak VEGF (clone VG1, Neomarkers, LabVision coop. CA, USA) mouse monoklonal antikoru ile aşağıdaki şekilde boyandı. Antikor 1/50 oranında dilüe edildi.

- Deparafinize kesitler antijen retrivel aşaması için EDTA buffer içinde mikrodalga maksimum güçte kaynama noktasına getirildikten sonra, minimum güce geçilip 20 dakika kaynatıldı.

- Distile su ve TweenX20 ile yıkandı.

- Hidrojen peroksit ile 10 dakika muamele edildi.

- Tris buffer salin solusyonu ile yıkanarak 'Ultra V blok' da 5 dakika tutuldu.

- Primer antikor ile olan aşamasında +4 santigrat derece 1 gece inkubasyona bırakıldı.

- Tris buffer solusyonu ile yıkandıktan sonra 15 dakika biotinylated goat anti-polyvalent solüsyonu ile muamele edildi.

- Tris buffer solusyonu ile yıkanarak streptavidin-peroksidaz solusyonu ile 15 dakika muamele edildi.

- Renklendirmek amacıyla AEC ile 10 dakika boyandı.

- Distile suda yıkanarak zıt boyama için Mayer's hemotoksilen boyası ile 30 saniye boyandı. Sonrasında montaj yapıldı.

Daha sonrasında hazırlanan preparatlar immunohistokimyasal olarak VEGF ekspresyonu, lokalizasyonu ve over çapları yönünden mikroskopik olarak değerlendirildi.

Biyokimyasal Değerlendirme

Peritoneal sıvı 900 X g' de 12 dakika santrifuj edildikten sonra Evans Blue (EB) konsantrasyonu 600 nm'de Shimadzu UV-1601 UV-Visible spectrophotometer'de değerlendirildi. Vasküler geçirgenlik, ekstravaze olan boya seviyesi her 100 gram vücut ağırlığına EB milimol (mM) olarak standardize edilerek değerlendirildi.

İstatistiksel Değerlendirme

Tüm veriler SPSS 14.0 programı kullanılarak analiz edilmiştir. Değerler ortalama \pm ortalamanın standart hatası olarak gösterilmiştir. Gruplar arası fark

olup olmadığının belirlenmesinde, başlangıç vücut ağırlığı gibi elimizde olmayan sebeplerle homojen olmayan değerler kovaryete olarak dikkate alınmış ve Kovaryans Analizi kullanılmıştır. Farklılığı yaratan grup yada grupların belirlenmesinde ise Duncan Testi kullanılmıştır. p değeri < 0.05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

IV. BULGULAR

Her grupta 10 ratla çalışma tamamlanmıştır. Böylece her gruptan 10 ratın verileri karşılaştırılmış ve sonuçları değerlendirilmiştir.

Tüm grupların genel karakteristikleri Tablo I' de gösterilmiştir. Daha sonra tek tek özellikleri açısından gruplar arasındaki farklılıklar tablolar ve grafiklerle anlatılmıştır.

Tablo I. Çalışma sonucu elde edilen tüm veriler

Özellikler	Grup 1 (n:10)	Grup 2 (n:10)	Grup 3 (n:10)	Grup 4 (n:10)	Grup 5 (n:10)	p
Vücut ağırlığı 1 (Gram)	28.2±0.8 ^b	33.5±2.2 ^c	21.8±3.8 ^a	22.6±1.3 ^a	24.5±2.5 ^{a,b}	<0.001
Vücut ağırlığı 2 (Gram)	47.8±1.7 ^b	54.6±3.4 ^b	36.8±1.7 ^a	39.6±2.5 ^a	39.9±3.6 ^a	<0.001
Over ağırlığı (Miligram)	40.0±0.6 ^a	173.6±18.5 ^b	304.7±20.3 ^c	294.2±17.4 ^c	297.6±35.0 ^c	<0.001
Over çapı (Milimetre)	3.2±0.1 ^a	6.0±0.2 ^b	7.5±0.1 ^c	7.4±0.1 ^c	7.5±0.1 ^c	<0.001
Vasküler geçirgenlik (EB mM/100 gr)	6,0±0.6 ^a	7,2±0.7 ^a	13,8±1.5 ^b	14.7±0.8 ^b	11.9±0.7 ^b	<0.001

Not: Aynı satırda bulunan farklı harfler gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık olduğunu, aynı harfler ise istatistiksel olarak benzer olduğunu göstermektedir.

Değerler ortalama ± standart hata ($\bar{X} \pm SH$) şeklinde verilmiştir.

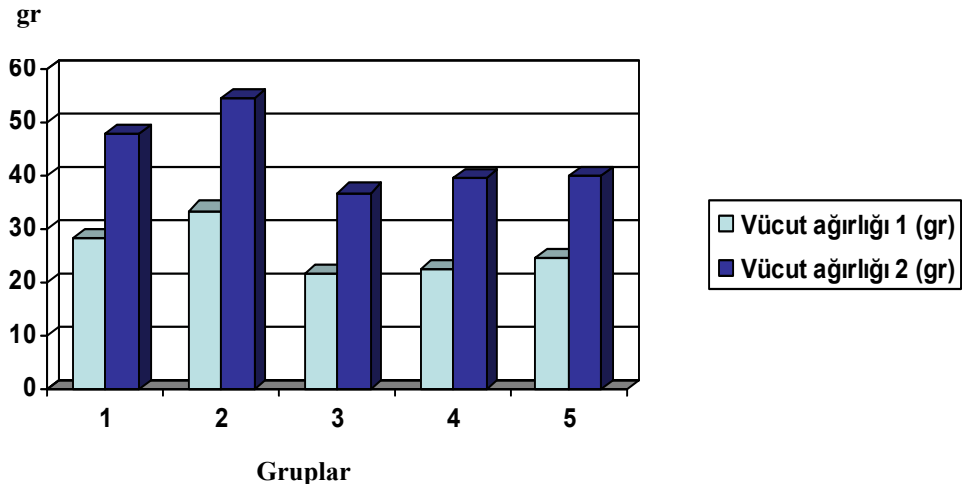
Gruplar vücut ağırlıklarına göre karşılaştırıldığında şiddetli OHSS oluşturulan grup 3 ile şiddetli OHSS'ye tedavi verdiğimiz Grup 4 ve Grup 5 arasında son vücut ağırlıkları bakımından istatistiksel olarak fark olmadığı saptanmıştır. Ancak bu gruplardaki vücut ağırlığı artışının kontrol grubu grup 1 ve hafif OHSS grubu grup 2'den istatistiksel olarak farklı olduğu saptanmıştır. Grup 1 ve grup 2'deki son ağırlıkların fazla olmasının nedeni ise başlangıç ağırlıklarının fazla olmasından ve hayvanın normal gelişiminin devam etmesinden kaynaklandığı tespit edilmiştir. Vücut ilk ve son ağırlıklarındaki değişim ve gruplar arasındaki farklılık Tablo II ve şekil I'de gösterilmiştir.

Tablo II. Ratların tedavi öncesi ve sonrasında vücut ağırlıklarının karşılaştırılması

Özellikler	Grup 1 (n:10)	Grup 2 (n:10)	Grup 3 (n:10)	Grup 4 (n:10)	Grup 5 (n:10)	p
Vücut ağırlığı 1 (Gram)	28.2±0.8 ^b	33.5±2.2 ^c	21.8±3.8 ^a	22.6±1.3 ^a	24.5±2.5 ^{a,b}	<0.001
Vücut ağırlığı 2 (Gram)	47.8±1.7 ^b	54.6±3.4 ^b	36.8±1.7 ^a	39.6±2.5 ^a	39.9±3.6 ^a	<0.001

Not: Aynı satırda bulunan farklı harfler gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık olduğunu, aynı harfler ise istatistiksel olarak benzer olduğunu göstermektedir.

Değerler ortalama ± standart hata ($\bar{X} \pm SH$) şeklinde verilmiştir.



Şekil I. Ratların tedavi öncesi ve sonrasında vücut ağırlıklarının karşılaştırılması

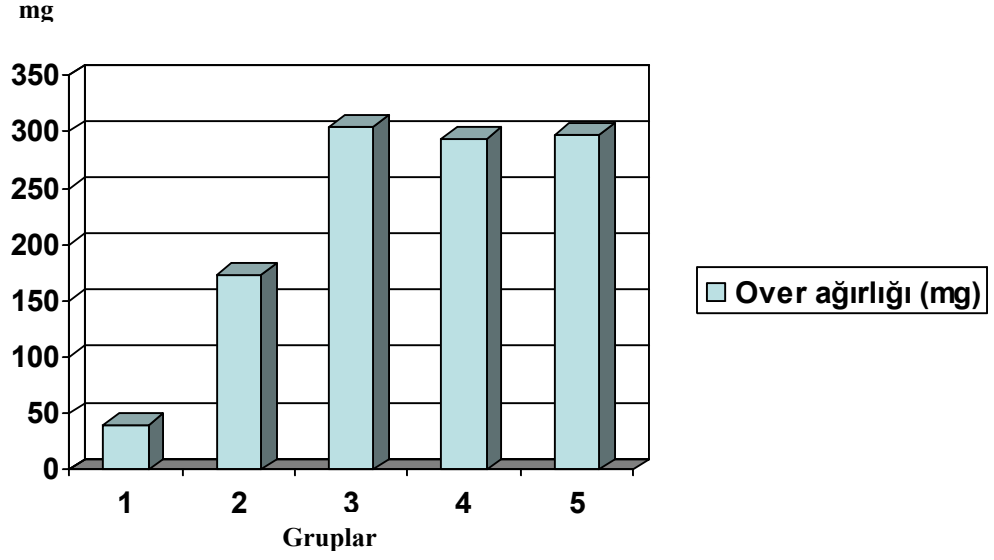
Gruplar over ağırlıkları bakımından karşılaştırıldığında grup 3, grup 4 ve grup 5 arasında istatistiksel bir fark tespit edilememiştir. Buna karşın grup 1 ve grup 2 istatistiksel olarak diğer tüm gruplardan farklı bulunmuştur. Grup 3, 4 ve 5'in over ağırlıklarının grup 1 ve 2'ye göre belirgin olarak arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca kontrol grubuna göre hafif stimülasyon grubunda da over ağırlığının arttığı fakat Grup 3, 4 ve 5'ten az olduğu saptanmıştır (Tablo III, şekil II).

Tablo III. Ratların over ağırlıklarının karşılaştırılması

Özellikler	Grup 1 (n:10)	Grup 2 (n:10)	Grup 3 (n:10)	Grup 4 (n:10)	Grup 5 (n:10)	p
Over ağırlığı (Miligram)	40.0±0.6 ^a	173.6±18.5 ^b	304.7±20.3 ^c	294.2±17.4 ^c	297.6±35.0 ^c	<0.001

Not: Aynı satırda bulunan farklı harfler gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık olduğunu, aynı harfler ise istatistiksel olarak benzer olduğunu göstermektedir.

Değerler ortalama ± standart hata ($\bar{X} \pm SH$) şeklinde verilmiştir.



Şekil II. Ratların over ağırlıklarının karşılaştırılması

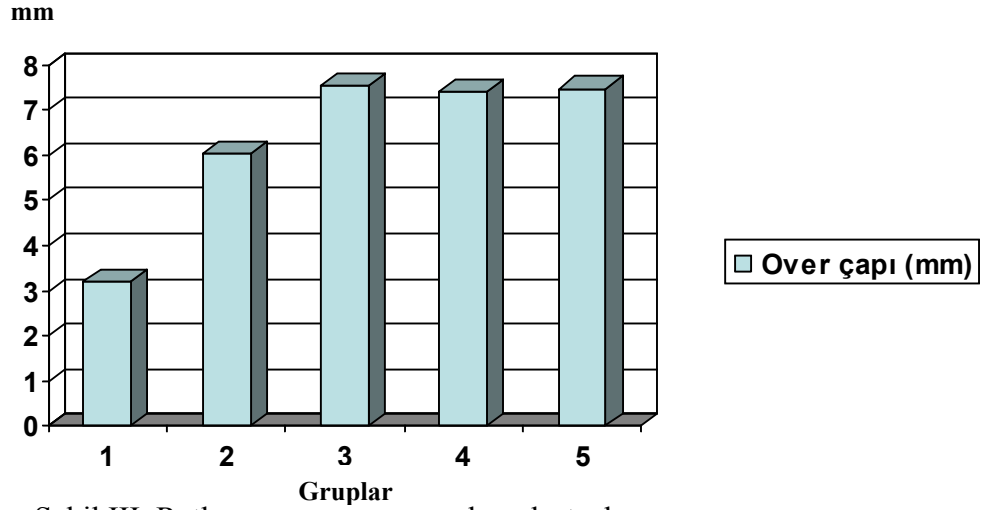
Grupları over çapları yönünden karşılaştırdığımızda grup 3, 4 ve 5'in birbirinden istatistiksel olarak farklı olmadığı ancak grup 1 ve 2'nin diğer tüm gruplardan farklı olduğu tespit edilmiştir. Grup 3, 4 ve 5'in over çapları belirgin artmış olarak saptanmıştır ancak grup 2'deki hayvanların da over çaplarının kontrol grubuna göre artmış olup grup 3, 4 ve 5'ten az olduğu tespit edilmiştir. (Tablo IV, Şekil III).

Tablo IV. Ratların over çaplarının karşılaştırılması

Özellikler	Grup 1 (n:10)	Grup 2 (n:10)	Grup 3 (n:10)	Grup 4 (n:10)	Grup 5 (n:10)	p
Over çapı (Milimetre)	3.2±0.1 ^a	6.0±0.2 ^b	7.5±0.1 ^c	7.4±0.1 ^c	7.5±0.1 ^c	<0.001

Not: Aynı satırda bulunan farklı harfler gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık olduğunu, aynı harfler ise istatistiksel olarak benzer olduğunu göstermektedir.

Değerler ortalama ± standart hata ($\bar{X} \pm SH$) şeklinde verilmiştir.



Şekil III. Ratların over çaplarının karşılaştırılması

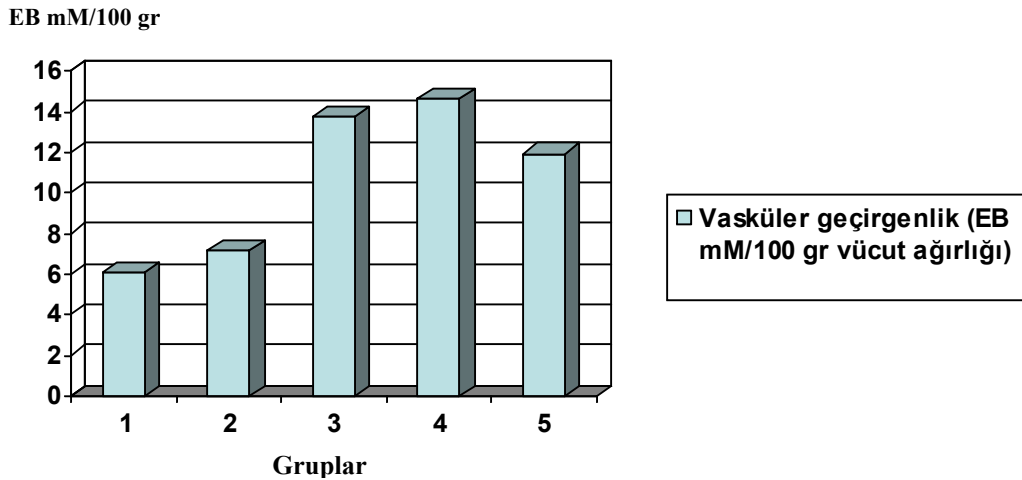
Vasküler geçirgenlik her 100 gram vücut ağırlığına evans blue mM olarak hesaplanmıştır. Vasküler geçirgenlik açısından grupları karşılaştırdığımızda grup 3, grup 4 ve grup 5'in diğer gruplara göre vasküler geçirgenliğinin istatistiksel olarak belirgin arttığı saptanmıştır. Grup 1 ve 2'in vasküler geçirgenliğinin benzer olduğu ancak grup 3, 4 ve 5'e göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Tablo V, şekil IV).

Tablo V. Ratların vasküler geçirgenliğinin karşılaştırılması

Özellikler	Grup 1 (n:10)	Grup 2 (n:10)	Grup 3 (n:10)	Grup 4 (n:10)	Grup 5 (n:10)	p
Vasküler geçirgenlik (EB mM/100 gr)	6,0±0.6 ^a	7,2±0.7 ^a	13,8±1.5 ^b	14,7±0.8 ^b	11,9±0.7 ^b	<0.001

Not: Aynı satırda bulunan farklı harfler gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık olduğunu, aynı harfler ise istatistiksel olarak benzer olduğunu göstermektedir.

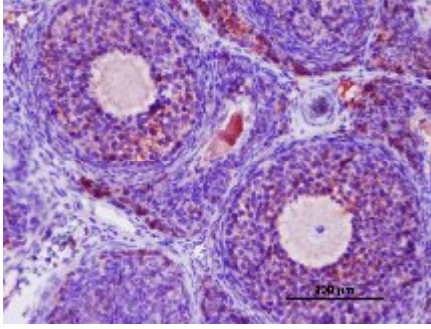
Değerler ortalama ± standart hata ($\bar{X} \pm SH$) şeklinde verilmiştir.



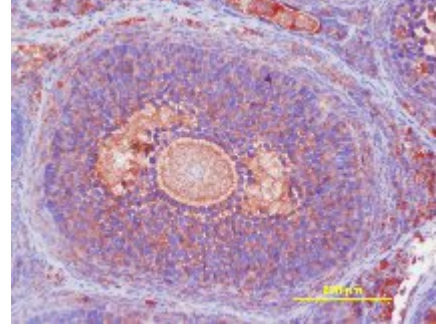
Şekil IV. Ratların vasküler geçirgenliğinin karşılaştırılması

Ratlardan çıkarılan overler patolojik olarak VEGF incelenmesi için immunohistokimyasal olarak boyanmıştır. VEGF boyanması sitoplazmik ve granüler nitelikte saptanmıştır.

Grup1'de oositte boyanma tespit edilmemiştir ancak teka ve granüloza hücrelerinde zayıf boyanma, follikül içi sıvıda boyanma tespit edilmiştir. (Resim 1, 2)

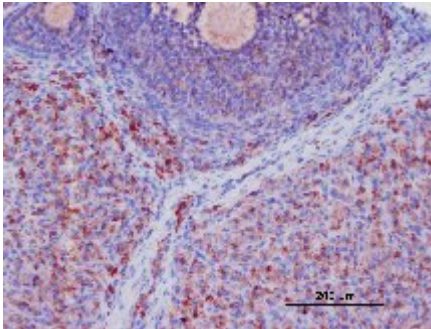


Resim 1

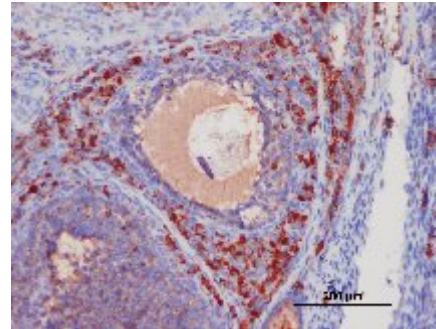


Resim 2

Grup 2'de teka hücrelerinde belirginleşme fazla, boyanma granüler nitelikte ve belirginleşmiştir. Granüloza hücrelerinde boyanmada artış tespit edilmiştir. En yoğun ve granüler boyanma luteinize hücrelerde görülmektedir. Folliküllerin çoğu tamamen luteinize hücreler içermektedir. Bu folliküllerde granüloza-teka ayırımı yapılamamıştır. (Resim 3, 4)

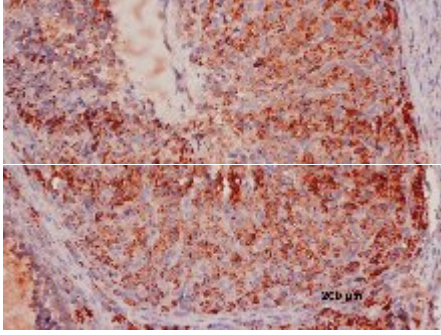


Resim 3

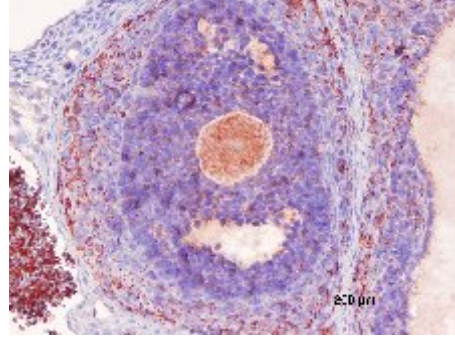


Resim 4

Grup 3'te hemen hemen grup 2 ile aynı özellikler tespit edilmiştir. Fakat teka hücrelerinin çok daha belirgin ve hiperplazik olduğu görülmüştür. Boyanma granüler ve şiddetinde değişiklik saptanmamıştır. (Resim 5, 6)

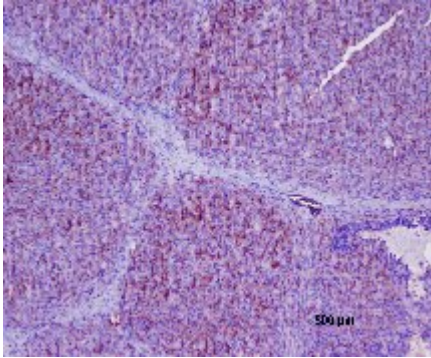


Resim 5

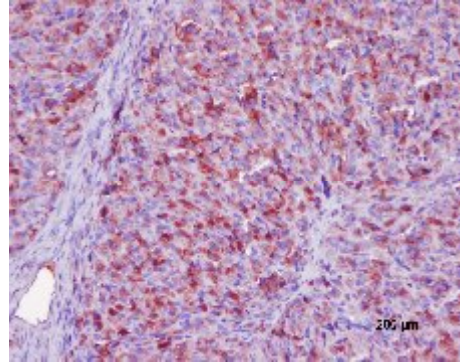


Resim 6

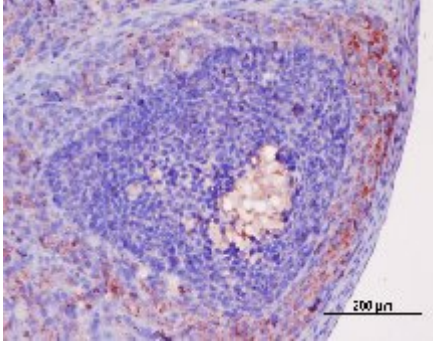
Grup 4'ün boyanma özellikleri açısından grup 3'ten belirgin farklılık göstermediği saptanmıştır. Gelişmekte olan follikülerde teka hücrelerinin boyanma şiddeti değişmezken granüloza hücrelerinin boyanma şiddetinde bir miktar azalma saptanmıştır. (Resim 7, 8, 9, 10)



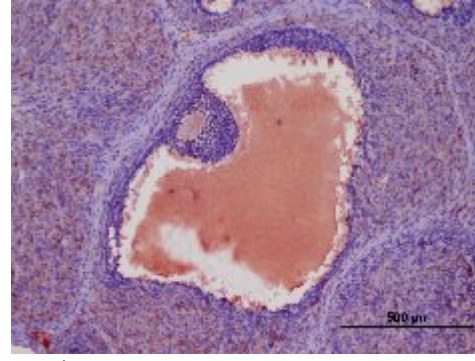
Resim 7



Resim 8

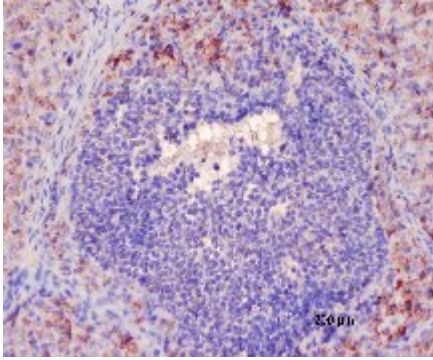


Resim 9

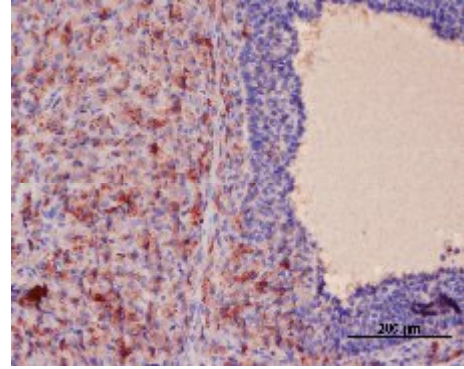


Resim 10

Grup 5'te de gelişmekte olan follikülerde teka hücrelerinin boyanma şiddeti değişmezken granüloza hücrelerinin boyanma şiddetinde bir miktar azalma saptanmıştır. (Resim 11, 12)



Resim 11



Resim 12

V. TARTIŞMA

Çalışmamızda OHSS oluşturulan ratlarda cb2 ve meloksikamın ratların ağırlıkları, over ağırlıkları, over çapları, vasküler geçirgenlikleri ve VEGF ekspresyonu üzerindeki etkilerini araştırdık. Yaptığımız deney sonunda OHSS oluşturulan gruplarda over ağırlıklarının, over çaplarının, vasküler geçirgenliğin ve VEGF ekspresyonunun kontrol grubuna ve hafif OHSS grubuna göre arttığını tespit ettik. Ancak vücut ağırlıklarındaki artışın kontrol grubu ve hafif OHSS grubunda fazla olma sebebi olarak bu iki grubun başlangıç ağırlıklarının fazla olması ve hayvanların normal büyüme sürecinden kaynaklandığını saptadık. OHSS oluşturulan ve tedavi olarak cb2 ve meloksikam verilen hayvanların da over ağırlıklarının, over çaplarının, vasküler geçirgenliğin ve VEGF ekspresyonunun arttığını ve tedavi verilmeyen gruptan farklı olmadığını saptadık.

Öncelikle, VEGF ekspresyonu hCG eklenmesinden önce başlar ve folikülde ovulasyondan önce görülür (102). İkinci olarak, IVF'e giden hastaların hCG ile in-vitro stimüle edilenlerinde ovum toplanması sırasında toplanan granuloza-lutein hücrelerinde VEGF-mRNA ekspresyonu saptanmıştır (103,104). Üçüncü olarak insan granuloza-lutein hücreleri ayrıca VEGF reseptörü de üretir (105).

OHSS gelişiminde VEGF/VEGFR-2 yolunun önemi Gomez ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda SU5416 vererek OHSS gelişimini engelleyerek, VEGFR-2 fosforilasyonunun bloke edildiği gösterilmiştir (3). Fakat SU5416 yan etki profili nedeniyle klinikte kullanılamamıştır (36,37). Ayrıca SU5416'nın ovarian anjiogenezisi direk bloke etmesi ve korpus luteumu etkisiz hale getirmesi fertilitiyi kötü yönde etkiler. Cb2 ve diğer benzer Dp-r2 agonistlerinin vasküler geçirgenliği ve özellikle anjiogenezisi doz bağımlı etkilediği gösterilmiştir. Örneğin yüksek doz verilmesi anjiogenezisi, vasküler geçirgenliği ve prolaktin (PRL) salınımını etkiler (39). Diğer yandan insanlarda

hiperprolaktinemiden korunmak için verilen düşük doz, fizyolojik anjiogenezisi etkilemeden PRL seviyelerini düşürür (40,41). Dp-r2 aktivitesiyle düşen PRL seviyeleri corpus luteumu disfonksiyonel yapar (5).

VEGF sistemindeki gonadotropin kullanımında aşırı üretim OHSS gelişen kadınlardaki aşırı Ovarian cevabı açıklar. Fakat neden bazı kadınlarda OHSS gelişirken bazılarında gelişmez sorusunu yanıtlamaz. VEGF sisteminde VEGF'yi reseptörüne bağlayan α_2 makroglobulin ve doğal antagonist olan çözünebilir VEGFR (sVEGFR)'de vardır. IVF uygulanan kadınların bir kısmına bu antagonistler farklı dozlarda verilmiştir. α_2 makroglobulin ve sVEGFR konsantrasyonu arttıkça VEGF miktarı azalmıştır (102,106,107). Bu antagonistlerin farklı kişilerdeki farklı konsantrasyonları neden bazı kişilerde OHSS oluşurken neden bazı kişilerde oluşmadığını açıklayabilir.

Gomez ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda hafif ve ciddi OHSS grupları oluşturulmuş ve VEGF ekspresyonunun ve VEGFR-2 ekspresyonunun granuloza hücrelerinde arttığını ve bunlara bağlı olarak vasküler geçirgenliğin de arttığını belirtmişlerdir (2). Wang ve arkadaşları da 58'i OHSS'li 43'ü kontrol hastası olan toplam 101 IVF hastasında yaptıkları çalışmada VEGF ekspresyonunu mRNA düzeyinde değerlendirmişler ve OHSS olan hastaların granuloza hücrelerinde VEGF ekspresyonunun arttığını belirtmişlerdir (105). Biz de çalışmamızda hiperstimüle hayvanlardaki VEGF ekspresyonundaki artışı ve bununla ilişkili olarak vasküler geçirgenlikteki artışı gösterdik. Ayrıca Gomez'in yaptığı çalışmada VEGF'ye ek olarak VEGFR-2'de de artış olduğu gösterilmiştir (2). Ancak biz çalışmamızda teknik yetersizlikler nedeniyle reseptör düzeyinde değerlendirme yapamadık.

Vasküler geçirgenlik ve VEGF ekspresyonu, hCG'nin yüksek veya az verilmesiyle belirgin farklılıklar gösterir. Gomez ve arkadaşları aynı doz gonadotropinlerle uyarılmış hayvanlarda hCG'nin farklı dozlarının VEGF ekspresyonunu ve vasküler geçirgenliği farklı etkilediğini belirtmişlerdir (2). Çalışmamızda tüm hayvanlara eşit doz gonadotropin uygulayıp sonrasında

düşük ve yüksek dozda hCG uyguladık. Yüksek doz hCG uyguladığımız hayvanlarda vasküler geçirgenlik ve VEGF'nin ekspresyonundaki artışın daha fazla olduğunu daha önceki çalışmalarla benzer olarak tespit ettik. Çalışmamızda ciddi OHSS gruplarında kontrol grubu ve hafif stimülasyon grubuna göre VEGF ekspresyonu ve vasküler geçirgenlikte belirgin artış saptadık.

VEGF'nin granuloza-luteal hücrelerde üretilmesinden dolayı immunohistokimyasal boyamada granuloza-lutein hücrelerinde pozitif sinyal izledik (103,104,108-110). Hafif stimülasyon ve OHSS grupları arasında VEGF'nin ovarian lokalizasyonu arasında fark bulamadık. Fakat hafif stimülasyon grupları ile ağır OHSS oluşturduğumuz grup 3, 4 ve 5 arasında boyanma yönünden ciddi farklılıklar saptadık. Ciddi OHSS grubunda VEGF ekspresyonu belirgin olarak artmıştı. Gomez ve Simon'un yaptığı çalışmada da OHSS oluşturdukları hayvanların özellikle granuloza hücrelerinde VEGF'yi immunoreaktif izlemişler ancak kontrol grubunda ise VEGF'nin teka ve stromal hücrelerde immunoreaktif olduğunu belirtmişlerdir (2).

Gomez ve Gonzalez-Izquierdo'nun yaptığı çalışmada moleküler seviyede cb2'nin nasıl vasküler geçirgenlikteki artışı inhibe ettiği araştırılmış ve Dp-r2 agonistlerinin VEGFR-2 aktivasyonunu etkilediği saptanmıştır. Cb2 ile tedavi edilen hayvanlarda VEGFR-2 fosforilasyon seviyelerinin kontrol grubuna göre % 42 daha düşük olduğu saptanmıştır (5). Bir grup yazar da yüksek doz Dp-r2 agonistlerinin endotelial hücre membranındaki VEGFR-2 yoğunluğunu azalttığını bunun da VEGF açısından reseptörü ulaşılmaz hale getirerek vasküler geçirgenliği ayrıca da anjiogenezisi azalttığını belirtmişlerdir (39). Ancak çalışmamızda daha önce yapılmış olan çalışmadan farklı olarak düşük doz cb2 verdiğimiz grupta immunohistokimyasal boyamada tedavi edilmeyen gruba göre VEGF ekspresyonunda belirgin bir azalma saptamadık. Her iki grubun boyanma seviyeleri birbirine benzerlik gösteriyordu. Ancak önceki çalışmada tedavi verilen gruptaki VEGF ekspresyonu mRNA düzeyinde değerlendirilmiştir, biz çalışmamızda teknik yetersizlik nedeniyle VEGF

ekspresyonunu sadece immunohistokimyasal olarak değerlendirdiğimiz için elimizdeki veriler kesin matematiksel değerler değildir. Ayrıca Gomez ve arkadaşları yaptıkları çalışmada cb2 tedavisi verilen grupta vasküler geçirgenlikte de azalma olduğunu belirtilmiştir (5). Çalışmamızda cb2 tedavisi verilen OHSS grubu ile tedavi verilmeyen OHSS grubu arasında evans blue ile değerlendirdiğimiz vasküler geçirgenlik yönünden de anlamlı fark saptanmamıştır. Ayrıca cb2 ile tedavi edilen grubun tedavi verilmeyen gruptan over ağırlıkları, over çapları ve vücut ağırlığında değişim yönünden de farklılık saptanmamıştır.

Ayrıca cb2 OHSS'den korunmak için insanlar üzerinde de test edilmiştir. Cb2 etkilerini OHSS gelişme riski yüksek olan yumurta donör hastalarında (>25 preovulatuvar folikül, estradiol >3000 pg/ml) PRL sekresyonunu kullanılan doz güvenli şekilde bloke etmiştir. İnsanlarda kullanılan doz (5-10 µg/kg/gün) ratlarda kullanılan 5-10 kez düşük (50 µg/kg/gün) doz olup ovarian fonksiyonları etkilemeden PRL sekresyonunu azaltmıştır (111). İnsanlarda profilaktik cb2 verilmesinin asit, hemotokritte artış ve oligüri gibi OHSS semptomlarının ortaya çıkışından korunduğu belirtilmiştir (112).

Quintana ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada OHSS geliştirilen hayvanlara meloksikam tedavisi verildiğinde OHSS'de görülen ovarian ağırlık artışının ve VEGF ekspresyon artışının daha az olduğunu belirtmişlerdir. Ancak OHSS oluşturulup meloksikam tedavisi verilen ratlarda serum E2 seviyelerinin kontrol grubuna göre yaklaşık 10 kat yüksek olduğunu meloksikamın E2 seviyeleri üzerinde etkili olmadığını belirtmişlerdir (6). Çalışmamızda meloksikamla tedavi ettiğimiz grubu tedavi edilmeyen grupla karşılaştırdığımızda VEGF ekspresyonu ve vasküler geçirgenlik yönünden fark saptamadık. Meloksikamla tedavi edilen grubun tedavi verilmeyen gruptan over ağırlıkları, over çapları ve vücut ağırlığında değişim yönünden de farklılık saptanmamıştır.

Liu ve arkadaşlarının prostat kanseri ile ilgili yaptığı çalışmada hipoksinin, hipoksi-inducible-factor-1-alpha (HIF-1-alpha)'yı stimüle ettiği gösterilmiştir. HIF-1-alpha VEGF'nin transkripsiyonel aktivatörüdür. Prostaglandin E2 (PGE2) HIF-1-alpha seviyelerini belirgin olarak arttırır. COX-2 inhibitörlerinin de prostaglandin inhibitörü olduğu için HIF-1-alpha seviyelerini hem normoksik hem de hipoksik durumlarda düşürerek VEGF seviyelerini düşürdüğü belirtilmiştir (44). Ancak çalışmamızda meloksikamla tedavi verilen ciddi OHSS grubunda VEGF ekspresyonunda tedavi verilmeyen gruba göre farklılık saptanmamış ve kontrol ve hafif stimülasyon gruplarına göre belirgin artış saptanmıştır.

Bata ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada meloksikamla tedavi edilen hastalar plasebo ile karşılaştırıldığında folikül rüptüründe 5 gün gecikme olduğu, maksimum folikül ölçüsünde %55,7 artış olduğu ve plazma progesteron seviyelerinde %33,5 düşüş olduğu saptanmıştır (78). Bundan başka Athanasiou indomethazin ile ovulasyonu 2 ila 12 gün arasında geciktirdiğini belirtmiştir (113). Çalışmamızda mikroskobik inceleme sırasında birçok rüptüre olmamış folikül izlenmiş ancak çalışmanın amacı dışında olduğu için değerlendirilmemiştir. Bu geciktirmelerin ovum üzerindeki etkileri net olarak bilinmemektedir. Çünkü matür ve fertilite kapasitesi olan ovumun üreme sistemindeki yaklaşık viabl süresi 24 saattir (114). Daha önceki tavşan çalışmalarında da meloksikamın luteolitik ve anti fertilite etkileri gösterilmiştir. Ancak NSAID kullanan kişilerde medikasyondan bir siklus sonra normal ovulasyon olduğu gösterilmiştir (115-117).

Daha önceden yapılmış OHSS'yi engellemede ilaç etkinliklerini karşılaştıran çalışma yoktur. Bu açıdan çalışma bir ilktir. Daha önce yapılan hayvan ve insan deneylerinde OHSS'ye neden olan VEGF ekspresyonunda ve vasküler permeabilitedeki artış biyokimyasal ve histopatolojik olarak gösterilmiştir. Biz de çalışmamızda OHSS'de ortaya çıkan VEGF ekspresyonu ve vasküler permeabilitedeki artışı gösterdik. Ancak diğer çalışmalardakinin aksine cabergolin ve meloksikam ile tedavi edilen OHSS gruplarında tedavi

verilmeyen gruptan VEGF ekspresyonu, vasküler geçirgenlik, over ağırlıkları ve over çapları yönünden fark gösteremedik. Sonuçta bu iki ilacın OHSS'yi önleme yönünden birbirinden farklı olmadığını ve etkili olmadığını saptadık.

Biz çalışmamızda VEGF ekspresyonunu immunohistokimyasal olarak kantitatif yönden net matematiksel sonuçlarla değerlendiremedik. Sonuçlar daha çok gözleme dayalı veriler şeklindeydi. Daha sonraki çalışmalarda VEGF ekspresyonunun değerlendirilmesi için moleküler düzeyde daha net sonuçlar alınması yönünden mRNA düzeyinde yapılmasının elde edilen sonuçları daha kesin yapacağı kanısındayız. Bu konuda daha iyi dizayn edilmiş ve VEGF ekspresyonunun kantitatif olarak değerlendirilerek daha net sonuçların elde edildiği çalışmalara ihtiyaç vardır.

VI. SONUÇ

Gruplar vücut ağırlıklarına göre karşılaştırıldığında şiddetli OHSS oluşturulan grup 3 ile şiddetli OHSS'ye tedavi verdiğimiz Grup 4 ve Grup 5 arasında son vücut ağırlıkları bakımından istatistiksel olarak fark olmadığı saptanmıştır. Ancak bu gruptaki vücut ağırlığı artışının kontrol grubu grup 1 ve hafif OHSS grubu grup 2'den istatistiksel olarak farklı olduğu saptanmıştır. Grup 1 ve grup 2'deki son ağırlıkların fazla olmasının nedeni ise başlangıç ağırlıklarının fazla olmasından ve normal büyüme sürecinden kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Gruplar over ağırlıkları bakımından karşılaştırıldığında grup 3, grup 4 ve grup 5 arasında istatistiksel bir fark tespit edilememiştir. Buna karşın grup 1 ve grup 2 istatistiksel olarak diğer tüm gruptan farklı bulunmuştur. Grup 3, 4 ve 5'in over ağırlıklarının grup 1 ve 2'ye göre belirgin olarak arttığı tespit edilmiştir.

Grupları over çapları yönünden karşılaştırdığımızda grup 3, 4 ve 5'in birbirinden istatistiksel olarak farklı olmadığı ancak grup 1 ve 2'nin diğer tüm gruptan farklı olduğu tespit edilmiştir. Grup 3, 4 ve 5'in over çapları belirgin artmış olarak saptanmıştır ancak grup 2'deki hayvanların da over çaplarının kontrol grubuna göre artmış olup grup 3, 4 ve 5'ten az olduğu tespit edilmiştir.

Vasküler geçirgenlik açısından grupları karşılaştırdığımızda grup 3, 4 ve 5'in diğer gruplara göre vasküler geçirgenliğinin istatistiksel olarak belirgin olarak arttığı saptanmıştır. Grup 2'nin vasküler geçirgenlik yönünden diğer gruplara göre daha az geçirgen olduğu ancak grup 1'den fazla olduğu saptanmıştır.

VEGF ekspresyonu yönünden gruplar karşılaştırıldığında immunohistokimyasal boyama ile grup 3, 4 ve 5'te VEGF ekspresyonunun kontrol grubu olan grup 1'e göre belirgin olarak arttığı saptanmıştır. Grup 2'ninde

boyanma özellikleri grup 3, 4 ve 5'e benzer olup, VEGF ekspresyonu artmış olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak gonadotropinlerle ovarian stimülasyon ile VEGF ekspresyonunda, vasküler geçirgenlikte, over ağırlığında ve over çaplarında artış olduğunu gösterdik. Ancak daha önceki çalışmalarda verilmiş olan düşük doz cb2 ve meloksikam tedavilerinin bu parametreleri tedavi etmede veya OHSS gelişmesini engellemede rolü olmadığını saptadık.

VII. ÖZET

Giriş: Ovarian hiperstimulasyon sendromu (OHSS) infertil kadınlarda gonadotropinlerle foliküler gelişimi sağlamak amaçlı ovarian stimülasyon sırasında ortaya çıkan hayatı tehdit eden komplikasyonları olan bir sendromdur. Vasküler geçirgenlikte artışa bağlı asit ve plevral effüzyon ile karakterize kliniği olan bu sendromda birincil şüpheli faktör vasculer endothelial growth factor (VEGF)'dir. OHSS patogenezinde mutlaka başka faktörler de rol oynamaktadır.

Amaç: Cabergolin ve meloksikam adlı iki ilacın VEGF ekspresyonunu azaltma ve OHSS'yi önlemedeki etkinliklerinin karşılaştırılmasıdır.

Gereç Yöntem: OHSS'de deney modeli olarak immatür wistar dişi rat kullandık. Toplam 50 rat çalışmaya alındı ve 5 gruba ayrıldı. 10 tanesi kontrol grubu olarak ayrıldı, 10 tanesinde hafif OHSS ve 30 tanesi de üç eşit gruba bölünerek bunlarda da ciddi OHSS oluşturuldu. Gonadotropinlerle ovarian stimülasyon yapılarak hafif ve ciddi OHSS oluşturulan ratlardan, ciddi OHSS gelişen gruplardan birine tedavi olarak düşük doz 100 µg/kg cabergolin (Cb2), diğerine ise 600 µg/kg meloksikam verildi. Gruplar birbirleriyle vücut ağırlıkları, vasküler geçirgenlik, VEGF ekspresyonu, over ağırlıkları ve over çapları yönünden karşılaştırıldı.

Bulgular: Çalışmamızda kontrol ve hafif OHSS grupları ciddi OHSS gruplarıyla karşılaştırıldığında VEGF ekspresyonunda, vasküler geçirgenlikte, over ağırlıklarında ve over çaplarında belirgin artış olduğu tespit edilmiştir. VEGF ekspresyonundaki artışın hCG doz bağımlı olarak arttığı gösterilmiştir. Fakat uygulanan düşük doz cb2 ve meloksikam tedavilerinin ciddi OHSS'de VEGF ekspresyonunu, vasküler geçirgenliği, over ağırlıklarını ve over çaplarını azaltmada etkili olmadığı gösterilmiştir.

Sonuç: Bu bulgularla OHSS patogenezinde VEGF artışının kritik bir rolü olduğu gösterilmiştir ancak uygulanan tedavilerle VEGF ekspresyonunda azalma olmadığı ve buna bağlı olarak da OHSS kliniğini düzeltmediği gösterilmiştir.

VIII. SUMMARY

Introduction: Ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) is a syndrome which have life threatening complications, emerging during ovarian stimulation to provide follicular maturation with gonadotropins at infertile women. The primary suspicious factor is vascular endothelial growth factor (VEGF) at this syndrome that depending on increased vascular permeability characterized clinic with ascites and pleural effusion. The other factors act also in pathogenesis of OHSS surely.

Aim: A comparison of reduction of VEGF expression and efficiency of OHSS prevention by two drugs named Cabergolin and Meloxicam.

Material and methods: We used immature Wistar female rats as experimental model of OHSS. A total of 50 rats were enrolled in the study and divided into five groups. Ten of them were divided as control group, mild OHSS were constituted in 10 of them and severe OHSS were constituted in remaining 30 of them that dividing into three equal groups. From rats that mild and severe OHSS were constituted by ovarian stimulation with gonadotropins, one of the severe OHSS group was given low dose 100 µg/kg cabergolin (cb2) and the other was given 600 µg/kg meloxicam. Groups were compared with each other in terms of body weights, vascular permeability, VEGF expression, ovarian weights and ovarian diameter.

Findings: In our study, when control and mild OHSS groups were compared to severe OHSS group, manifest rising were determined in VEGF expression, vascular permeability, ovarian weights and ovarian diameters. It was shown that increase in VEGF expression was increased as a hCG dose dependent. But, it was shown that applied low dose cb2 and meloxicam treatments were not effective for reducing VEGF expression, vascular permeability, ovarian weights and ovarian diameters at severe OHSS.

Conclusion: It was shown that VEGF increase have critical role on pathogenesis of OHSS. However, it was shown that applied treatments were not decreased VEGF expression and therefore, were not improved OHSS clinic.

IX. KAYNAKLAR

1. Manau D, Balasch J, Arroyo V, Jimenez W, Fabregues F, Casamitjana R, Creus M, Vanrell JA. Circulatory dysfunction in asymptomatic in vitro fertilization patients. Relationship with hyperestrogenemia and activity of endogenous vasodilators. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:1489-1493
2. Gomez R, Simon C, Remohi J, Pellicer A. Administration of Moderate and High Doses of Gonadotropins to Female Rats Increases Ovarian Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and VEGF Receptor-2 Expression that Is Associated to Vascular Hyperpermeability. *Biology Reproduction* 2003; 68:2164-2171
3. Gomez R, Simon C, Remohi J, Pellicer A. Vascular endothelial growth factor receptor-2 activation induces vascular permeability in hyperstimulated rats, and this effect is prevented by receptor blockade. *Endocrinology* 2002; 143:4339-48.
4. Amarin ZO. Bilateral partial oophorectomy in the management of severe ovarian hyperstimulation syndrome. An aggressive, but perhaps life-saving procedure. *Human Reprod* 2003; 18:659-664
5. Gomez R, Gonzalez-Izquierdo M, Zimmermann RC, Novella-Maestre E, Alonso-Muriel I, Sanchez-Criado J, Remohi J, Simon C, Pellicer A. Low-dose dopamine agonist administration blocks vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated vascular hyperpermeability without altering VEGF receptor 2-dependent luteal angiogenesis in a rat ovarian hyperstimulation model. *Endocrinology*. 2006; 147:5400-5411.
6. Quintana R, Kopcow L, Marconi G, Young E, Yovanovich C, Paz DA. Inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) by meloxicam decreases the incidence of ovarian hyperstimulation syndrome in a rat model. *Fertil Steril*. 2007 Dec 29
7. Barbieri RL. Female infertility. In Strauss FJ, Barbieri RL (eds), *Reproductive endocrinology*. Pennsylvania: Elsevier Inc., 5th ed, 2004:633-668.

8. Tuarnaye H. Gamete source and manipulation. In Vayana E, Rowe PS, Griffin PD (eds), Current practices and controversies in assisted reproduction: report of a WHO meeting. Geneva: WHO, 2002:83-101.
9. Garcia-Velasco JA, Isaza V, Vdal C. Human ovarian steroid secretion in vivo: effects of GnRH agonist versus antagonist (cetorelix). Human Reprod 2001; 16:2533-2539.
10. Forti G, Krausz C. Evaluation and treatment of the infertile couple. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1998; 83: 4177-4188.
11. Shapiro DB. An overview of GnRH antagonists in infertility treatments. Introduction. Fertil Steril 2003; 80 Suppl 1:1-7.
12. Olivennes F, Cunha-Filho JS, Fanchin R. The use of GnRH antagonists in ovarian hyperstimulation. Human Reprod Update 2002; 8:279-290.
13. Hugues JN. Ovarian stimulation for assisted reproductive technologies. In Vayana E, Rowe PS, Griffin PD (eds), Current practices and controversies in assisted reproduction: report of a WHO meeting. Geneva: WHO; 2002:102-125.
14. Hillier SG. The Parkes's Lecture Controlled Ovarian Stimulation in Women. J Reprod Fertil 2000; 120: 201-210.
15. Hugues JN, Durnerin IC. Revisiting gonadotrophin-releasing hormone agonist protocols and management of poor ovarian responses to gonadotrophins. Human Reprod Update 1998; 4: 83-101.
16. Fitzgerald PA. Hypothalamic and pituitary hormones. In Katzung BG (ed), Basic and clinical pharmacology. California: Mcgraw-Hill, 8th ed, 2001:625-643.
17. Reissmann T, Schally AV, Bouchard P. The LHRH antagonist Cetorelix: a review. Human Reprod Update 2000; 6:322-331.
18. Teresa Wiesak Shore Institute for Reproductive Medicine, Brick, NS, USA. Role of LH in controlled ovarian stimulation. Reprod Biol 2002; 2:215-227.
19. Olivennes F, Belcisch-Allart J, Emperaire JC. Prospective, randomised, controlled study of in-vitro fertilization-embryo transfer with a single dose of a luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) antagonist (Cetorelix) or a depot formula of an LH-RH agonist (Triptorelin). Fertil Steril 2000; 73:314-320.

20. Schats R, Sutter PD, Bassil S. Ovarian stimulation during assisted reproduction treatment: a comparison of recombinant and highly purified urinary human FSH. *Human Reprod* 2000; 15: 1691-1697.
21. Frydman R, Howles CM, Truans F. A double-blind, randomised study to compare recombinant human follicle stimulating hormone (FSH, Gonal-F) with highly purified urinary FSH (Metrodin HP) in women undergoing assisted reproductive techniques including intracytoplasmic sperm injection. *Human Reprod* 2000; 15: 520-525.
22. Fedorcsak P, Dale PO, Storeng R. The impact of obesity and insulin resistance on the outcome of IVF or ICSI in women with polycystic ovarian syndrome. *Human Reprod* 2001; 16: 1086-1091.
23. Loh S, Wang JX, Mathews CD. The influence of body mass index, basal FSH and age on the response to gonadotrophin stimulation in non-polycystic ovarian syndrome patients. *Human Reprod* 2002; 17: 1207-1211.
24. Lashen H, Ledger W, Bernal AL. Extremes of body mass do not adversely affect the outcome of superovulation and in-vitro fertilization. *Human Reprod* 1999; 14:712-715.
25. Zenzes MT. Smoking and reproduction: gene damage to human gametes and embryos. *Human Reprod Update* 2000; 6: 122-131.
26. Burgues S; Spanish Collaborative Group on Female Hypogonadotrophic Hypogonadism. The effectiveness and safety of recombinant human LH to support follicular development induced by recombinant human FSH in WHO group I unovulation: evidence from a multicentre study in Spain. *Human Reprod* 2001; 16:2525-2532.
27. The European Recombinant Human Chorionic Gonadotrophin Study Group. Induction of final follicular maturation and early luteinization in women undergoing ovulation induction for assisted reproduction treatment-recombinant HCG versus urinary HCG. *Human Reprod* 2000;15: 1446-1451.
28. Driscoll GL, Tyler JPP; Hangan JT, et al. A prospective, randomised, controlled, doubleblind, double-dumming comparison of recombinant and urinary HCG for inducing oocyte maturation and follicular luteinization in ovarian stimulation. *Human Reprod* 2000; 15: 1305-1310.

29. Ron-El R, Lazrel A, Schachter M. Induction of ovulation after GnRH antagonists. *Human Reprod Update* 2000; 6:318-321.
30. Hskowitz-Eldor J, Kol S, Mannaerts B. Use of a single bolus of GNRH agonist triptorelin to trigger ovulation after GNRH antagonist ganirelix treatment in women undergoing ovarian stimulation for assisted reproduction, with special reference to the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: preliminary report. *Human Reprod* 2000; 15: 1965-1968.
31. Weinstein D, Shenker JG. Ovarian hyperstimulation syndrome. A current survey. *Fertil Steril* 1987;30:225-26858
32. Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* 1983; 219:983-985
33. McClure N, Healy DL, Rogers PA, Sullivan J, Beaton L, Haning RV Jr, Connolly DT, Robertson DM. Vascular endothelial growth factor as capillary permeability agent in ovarian hyperstimulation syndrome. *Lancet* 1994; 344:235-236
34. Yamamoto S, Konishi I, Tsuruta Y, Nanbu K, Mandai M, Kuroda H, Matsushita K, Hamid AA, Yura Y, Mori T. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) during folliculogenesis and corpus luteum formation in the human ovary. *Gynecol Endocrinol* 1997; 11:371-381
35. Fong TA, Shawver LK, Sun L, Tang C, App H, Powell TJ, Kim YH, Schreck R, Wang X, Risau W, Ullrich A, Hirth KP, McMahon G. SU5416 is a potent and selective inhibitor of the vascular endothelial growth factor receptor (Flk-1/KDR) that inhibits tyrosine kinase catalysis, tumor vascularization, and growth of multiple tumor types. *Cancer Res* 1999; 59:99-106
36. Kuenen BC, Tabernero J, Baselga J, Cavalli F, Pfanner E, Conte PF, Seeber S, Madhusudan S, Deplanque G, Huisman H, Scigalla P, Hoekman K, Harris AL. Efficacy and toxicity of the angiogenesis inhibitor SU5416 as a single agent in patients with advanced renal cell carcinoma, melanoma, and soft tissue sarcoma. *Clin Cancer Res* 2003; 9:1648-1655
37. Glade-Bender J, Kandel JJ, Yamashiro DJ. VEGF blocking therapy in the treatment of cancer. *Expert Opin Biol Ther* 2003; 3:263-276

38. Heryanto B, Lipson KE, Rogers PA. Effect of angiogenesis inhibitors on estrogen-mediated endometrial endothelial cell proliferation in the ovariectomized mouse. *Reproduction* 2003; 125:337-346
39. Basu S, Nagy JA, Pal S, Vasile E, Eckelhoefer IA, Bliss VS, Manseau EJ, Dasgupta PS, Dvorak HF, Mukhopadhyay D. The neurotransmitter dopamine inhibits angiogenesis induced by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor. *Nat Med* 2001; 7:569-574
40. Mornex R, Orgiazzi J, Hugues B, Gagnaire JC, Claustrat B. Normal pregnancies after treatment of hyperprolactinemia with bromocriptine, despite suspected pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1978; 47:290-295
41. Robert E, Musatti L, Piscitelli G, Ferrari CI. Pregnancy outcome after treatment with the ergot derivative, cabergoline. *Reprod Toxicol* 1996;10:333-337
42. Zimmermann RC, Hartman T, Bohlen P, Sauer MV, Kitajewski J. Preovulatory treatment of mice with anti-VEGF receptor 2 antibody inhibits angiogenesis in corpora lutea. *Microvasc Res* 2001; 62:15-25
43. Grosdemouge I, Bachelot A, Lucas A, Baran N, Kelly PA, Binart N. Effects of deletion of the prolactin receptor on ovarian gene expression. *Reprod Biol Endocrinol* 2003;1:12
44. Liu XH, Kirschenbaum A, Lu M, Yao S, Dosoretz A, Holland JF, Levine AC. Prostaglandin E2 Induces Hypoxia-inducible Factor-1 alpha Stabilization and Nuclear Localization in a Human Prostate Cancer Cell Line. *J Biol Chem*. 2002; 277:50081-50086
45. Sushanek E, Simunic V, Juretic D, Grizelj V. Follicular fluid contents of hyaluronic acid, follicle stimulating hormone and steroids relative to the success of in vitro fertilization of human oocytes. *Fertil Steril* 1994; 62:347-52.
46. Rizk B. Ovarian hyperstimulation syndrome. In Srud J, ed. *Progress in Obstetrics and Gynecology*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1993;11:311-349
47. Rizk B. Prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: the Cominandments. Presented at the 1993 European Society of Human Reproduction and Embryology Symposium, Tel Aviv, Israel, 1993:1-2

48. Abdalla HI, Rizk B. Ovarian hyperstimulation syndrome. In Abdalla HI, Rizk B, eds. Assisted Reproductive Technology. Abingdon, Oxford: Health Press, 1999:37-39
49. Haning RV Jr, Austin CW, Carlson IH. Plasma estradiol is superior to ultrasound and urinary estriol glucuronide as a predictor of ovarian hyperstimulation during induction of ovulation with menotropins. *Fertil Steril* 1983; 40:31-36
50. Tal J, Paz B, Samberg I. Ultrasonographic and clinical correlates of menotrophin versus sequential clomiphene citrate: menotrophin therapy for induction of ovulation. *Fertil Steril* 1985; 44:342-349
51. Danninger B, Brunner M, Obruca A. Prediction of ovarian hyperstimulation syndrome of baseline ovarian volume prior to stimulation. *Human Reprod* 1996; 11: 1597-1599
52. Golan A, Ron-El R, Herman A. Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review. *Obstet Gynecol Surv* 1989; 44:430-440
53. Rizk B, Aboulghar M. Modern management of ovarian hyperstimulation syndrome. *Human Reprod* 1991; 6:1082-1087
54. Schenker JG, Weinsrein D. Ovarian hyperstimulation syndrome: a current survey. *Fertil Steril* 1978; 30:255-268
55. Blankstein J, Shalev J, Saadon T. Ovarian hyperstimulation syndrome prediction by number and size of preovulatory ovarian follicles. *Fertil Steril* 1987; 47:597-602
56. Younis JS, Zeevi D, Rabinowirz R. Transient liver function rest of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1988; 50:176-178
57. Rabinovici J, Kushnir O, Shalev J. Rescue of menotropin cycles prone to develop ovarian hyperstimulation. *Br J Obstet Gynaecol* 1987; 94:1098-1102
58. Urman B, Pride SM, Ho Yuen B. Management of overstimulated gonadotrophin cycles with a controlled drift period. *Hum Reprod* 1992; 7:213-217
59. Benadiva CA, Davis O, Kilgman I. Withholding gonadotropin administration is an effective alternative for the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1997; 67:724-727

60. Gonen Y, Balakier H, Powell W. Use of gonadotrophin-releasing hormone agonist to trigger follicular maturation for in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71:918-922
61. Irskovitz, Boldes R, Levron. Induction of preovulatory luteinizing hormone surge and prevention of hyperstimulation syndrome by gonadotrophin-releasing hormone against. *Fertil Steril* 1991; 56:213-220
62. Empeaire C, Ruffie A. Triggering ovulation with endogenous luteinizing hormone may prevent ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1991; 56:506-510
63. Imoedemhe DAG, Chan RCW, Signe AB. A new approach to the management of patients at risk of ovarian hyperstimulation in an in vitro fertilization program. *Human Reprod* 1991; 6:1088-1091
64. Friedman CI, Schmidt GE, Chang FE. Severe ovarian hyperstimulation syndrome following follicular aspiration. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 150:436-437
65. Aboulghar MA, Mansour RT, Serout GI. Follicular aspiration does not protect against the development of ovarian hyperstimulation syndrome. *J Assist Reprod Genet* 1992; 9:238-243
66. Egbase PE, Makhseed M, Al Sharhan M. Timed unilateral ovarian follicular aspiration prior to administration of human chorionic gonadotrophin for the prevention of severe ovarian hyperstimulation syndrome in in-vitro fertilization: a prospective randomized. *Human Reprod* 1997; 12:2603-2606
67. Pritts EA, Atwood AK. Luteal phase support in infertility treatment: a meta-analysis of the randomized trials. *Human Reprod* 2002; 17:2287-2299.
68. Amso NN, Ahuga KK, Morris N. The management of predicted OHSS involving gonadotrophin-releasing analogue with elective cryopreservation of all pre-embryos. *Fertil Steril* 1990; 53:1087-1090
69. Wada I, Matson PL, Trooup SA. Does embryo cryopreservation of all embryos from women at risk of ovarian hyperstimulation syndrome reduce the incidence of the condition. *Br J Obstet Gynaecol* 1993; 10:265-269
70. Queenan JT Jr. Veeck LL, Toner JP. Cryopreservation of all prezygotes in patients at risk of severe hyperstimulation does not eliminate the syndrome, but

chances of pregnancy are excellent with subsequent frozen-thaw transfers. *Human Reprod* 1997; 12:1573-1576

71. Kulikowski M, Wolczynski S, Kuczynski W, Grochowski D, Szamatowicz M. Use of GnRH analog for induction of the ovulatory surge of gonadotropins in patients at risk of the ovarian hyperstimulation syndrome. *Gynecol Endocrinol*. 1995; 9: 97-102.

72. Asch RH, Ivery G, Goldsman M. The use of intravenous albumin in patients at high risk for severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Human Reprod* 1993; 8: 1015-1020

73. Shoham Z, Weissman A, Barash A. Intravenous albumin for the prevention of severe ovarian hyperstimulation syndrome in an in vitro fertilization program: a prospective, randomized, placebo controlled study. *Fertil Steril* 1994; 62: 137-142

74. Mukherjee T, Copperman AB, Sandler B. Severe ovarian hyperstimulation despite prophylactic albumin at the time of oocyte retrieval for in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 1995; 64:641-643

75. Graf MA, Fischer R, Naether OG, Baukloh V, Tafel J, Nuckel M. Reduced incidence of ovarian hyperstimulation syndrome by prophylactic infusion of hydroxyethyl starch solution in an in-vitro fertilization programme. *Human Reprod* 1997; 12:2599-2602.

76. König E, Bussen S, Sunerlin M, Steek T. Prophylactic intravenous hydroxyethyl starch solution prevents moderate-severe ovarian hyperstimulation in in-vitro fertilization patients: a prospective, randomized, double-blind and placebo-controlled study. *Human Reprod* 1998; 13:2421-2424.

77. Gokmen O, Ugur M, Ekin M, Keles G, Turan C, Oral H. Intravenous albumin versus hydroxyethyl starch for the prevention of ovarian hyperstimulation in an in-vitro fertilization programme: a prospective randomized placebo controlled study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001; 96:187-192.

78. Bata MS, Al-Ramahi M, Salhab AS, Gharaibeh MN, Schwartz J. Delay of ovulation by meloxicam in healthy cycling volunteers: A placebo-controlled, double-blind, crossover study. *J Clin Pharmacol* 2006; 46:925-932

79. Rizk B, Smin J. Ovarian hyperstimulation syndrome after superovulation for IVF and related procedures. *Human Reprod* 1992; 7:320-327
80. Aboulghar MA, Mansour RT, Serout GI. Recombinant follicle-stimulating hormone in the treatment of patients with history of severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1996; 66:757-760
81. Egbase P, Al-Awadi S, Al-sharhan M, Grudzinskas G. Unilateral ovarian diathermy prior to successful in vitro fertilization: a strategy to prevent ovarian hyperstimulation syndrome. *J Obstet Gynaecol* 1998; 18:171-173
82. Rimington MR, Walker SM, Shaw RW. The use of laparoscopic ovarian electrocautery in preventing cancellation of in vitro fertilization treatment cycles due to risk of ovarian classification, pathophysiology and management of OHSS hyperstimulation syndrome women with polycystic ovaries. *Human Reprod* 1997; 12:1443-1447
83. Almeida OR Jr, Rizk B. Micro laparoscopic ovarian drilling under local anesthesia. *Middle East Health Soc J* 1998; 3: 189-191
84. Shapiro AG, Thomas T, Epstein M. Management of hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1977; 28:237-239
85. Thaler I, Yoffe N, Kaftory J. Treatment of ovarian hyperstimulation syndrome: the physiologic basis for a modified approach. *Fertil Steril* 1981; 36:110-113
86. Hanning RV, Stawn EY, Nolten WE. Pathophysiology of the ovarian hyperstimulation syndrome. *Obst Gynecol* 1985; 66:220-224
87. Mozes M, Bogowsky H, Anreby E. Thrombo-embolic phenomena after ovarian stimulation with human menopausal gonadotropin. *Lancet* 1965; 2:1213-1215
88. Rizk B, Meagher S, Fisher AM. Ovarian hyperstimulation syndrome and cerebrovascular accidents. *Human Reprod* 1990; 5:697-698
89. Ong ACM, Eisen V, Rennie DP. The pathogenesis of the ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): a possible role of ovarian renin. *Clin Endocrinol* 1991; 34: 43-49
90. Ferrareni AP, Gianaroli L, Diotalievi L. Dopamine treatment for severe hyperstimulation syndrome. *Human Reprod* 1992; 7:180-183

91. Bider D, Menashe Y, Oelsner G. Ovarian hyperstimulation exogenous gonadotrophin administration. *Acta Obstet Gynecol* 1989; 69:511-514
92. Kingsland C, Collins JV, Rizk B. Ovarian hyperstimulation presenting as acute hydrothorax after in vitro fertilization. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161:381-382
93. Padilla SL, Zamaria S, Baramki TA. Abdominal paracentesis for the ovarian hyperstimulation syndrome with severe pulmonary compromise. *Fertil Steril* 1990; 53:365-367.
94. Al-Ramahi M, Leader A, Clarnan P. A novel approach to the treatment of ascites associated with ovarian hyperstimulation syndrome. *Human Reprod* 1997; 12:2614-2616
95. Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI. Ultrasonically guided vaginal aspiration of ascites in the treatment of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1990; 53:933-935
96. Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI. Auto transfusion of the ascitic fluid in the treatment of severe ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS). *Fertil Steril* 1992; 58:1056-1059
97. Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI. Management of severe ovarian hyperstimulation syndrome by ascitic fluid aspiration and intensive intravenous fluid therapy. *Obstet Gynecol* 1993; 81:108-111
98. Hurwitz A, Milwidsky A, Yagel S. Early unwinding of torsion of an ovarian cyst as a result of hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1983; 40:393 t
99. Mashiach S, Bider D, Moran O. Adnexal torsion of hyperstimulated ovaries in pregnancies after gonadotrophin therapy. *Fertil Steril* 1990; 53:76-78
100. Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI. Severe ovarian hyperstimulation syndrome complicated by ectopic pregnancy. *Acta Obst Gynecol Scand* 1992; 70:371-372
101. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National Academy Press Washington, D.C. 1996
102. Kamat BR, Brown LF, Manseau EJ, Senger DR, Dvorak HF. Expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor by human

granulosa and theca/lutein cells. Role in corpus luteum development. *Am J Pathol* 1995; 146:157-165

103. Yan Z, Weich HA, Bernart W, Breckwoldt M, Neulen J. Vascular endothelial growth factor (VEGF) messenger ribonucleic acid (mRNA) expression in luteinized human granulosa cells in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77:1723-1725

104. Neulen J, Yan Z, Raczek S, Weindel K, Keck C, Weich HA, Marme D, Breckwoldt M. Human chorionic gonadotropin-dependent expression of vascular endothelial growth factor/VP factor in human granulosa cells: importance in ovarian hyperstimulation syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:1967-1971

105. Wang TH, Horng SG, Chang CL, Wu HM, Tsai YJ, Wang HS, Soong YK. Human chorionic gonadotropin-induced ovarian hyperstimulation syndrome is associated with up-regulation of vascular endothelial growth factor. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:3300-3308

106. McElhinney B, Ardill J, Caldwell C, Lloyd F, McClure N. Ovarian hyperstimulation syndrome and assisted reproductive technologies: why some and not others? *Human Reprod* 2002; 17:1548-1553

107. Neulen J, Wenzel D, Hornig C, Wunsch E, Weissenborn U, Grunwald K, Buttner R, Weich H. Poor responder-high responder: the importance of soluble vascular endothelial growth factor. *Human Reprod* 2001; 16:621-626

108. Goldsman MP, Pedram A, Dominguez CE, Ciuffardi I, Levin E, Asch RH. Increased capillary permeability induced by human follicular fluid: a hypothesis for an ovarian origin of the hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1995; 63:268-272.

109. Gordon JD, Mesiano S, Zaloudek CJ, Jaffe RB. Vascular endothelial growth factor localization in human ovary and fallopian tubes: possible role in reproductive function and ovarian cyst formation. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996; 81:353-359.

110. Otani N, Minami S, Yamoto M, Shikone T, Otani H, Nishiyama R, Otani T, Nakano R. The vascular endothelial growth factor/fms-like tyrosine kinase system in human ovary during the menstrual cycle and early pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:3845-3851.
111. Vanrell JA, Balasch J. Prolactin in the evaluation of luteal phase in infertility. *Fertil Steril* 1983; 39:30-33
112. Alvarez C, Bosch E, MEB MAB, Fernandez-Sanchez Alvarez M, Munoz EA, Simon C, Pellicer A. The dopamine agonist cabergoline prevents moderate severe early ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) in high-risk ART patients. *Human Reprod* 2006; 21:i96-i98
113. Athanasiou S, Bourne T, Khalid A. Effects of indomethacin on follicular structure, vascularity, and function over the periovulatory period in women. *Fertil Steril* 1996; 65:556-560.
114. Landgren BM, Unen AL, Dicfalusy E. Hormonal profile of the cycle in 68 normal menstruating women. *Acta Endocrinol.* 1980; 94:89-98.
115. Smith G, Roberts R, Hall C, Nuki G. Reversible ovulatory failure associated with the development of luteinized unruptured follicles in women with anti-inflammatory arthritis taking nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Br J Rheumatol* 1996; 35:453-462.
116. Akil M, Amos RS, Stewart P. Infertility may sometimes be associated with NSAID consumption. *Br J Rheumatol* 1996; 35:76-78.
117. Mendonca L, Khamashta M, Nelson-Piercy El, Hunt BJ, Hughes GR. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as a possible cause for reversible infertility. *Rheumatology* 2000; 39:882