

T.C.

YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Klinik Embriyoloji Programı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**IVF UYGULAMALARINDA HORMONAL PARAMETRELERİN OOSİT VE
EMBRİYO GELİŞİMİ ÜZERİNDE ETKİLERİ**

CUMHUR KIRAL

DANIŞMAN

PROF. DR. TÜLAY İREZ

İSTANBUL-2015

T.C.

YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı Klinik Embriyoloji Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi 28/12/2015

Prof.Dr. Tülay İrez

Yeni Yüzyıl Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Jüri Başkanı

Prof.Dr. Sezai Şahmay

İstanbul Üniversitesi

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Prof.Dr. İmer Okar

Yeni Yüzyıl Üniversitesi

Eczacılık Fakültesi

BEYAN

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

CUMHUR KIRAL

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin boyunca ve tezimin hazırlanması sırasında gösterdiği yardımlarından ötürü tez hocam Prof. Dr. Tülay İREZ'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

1. KISALTMALAR.....	1
2. TABLOLAR DİZİNİ.....	3
3. RESİMLER DİZİNİ.....	5
4. ÖZET.....	6
5. İNGİLİZCE ÖZET.....	8
6. GİRİŞ.....	9
7. GENEL BİLGİLER.....	11
8. MATERYAL VE METOD	32
9. BULGULAR.....	35
10. TARTIŞMA.....	40
11. SONUÇ.....	43
12.KAYNAKLAR.....	44

1. KISALTMALAR

AMH	:Anti-Müllerian Hormon
AFS	:Antral Folikül Sayısı
β -hCG	: β human Chorionic Gonadotropin (β insan Koryonik Gonodotropini)
DES	:Diethylstilbestrol
ELISA	:Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Enzim Bağlı İmmün Analiz)
E2	:Östradiol
FS	:Folikül Sayısı
FSH	:Folikül Stimüle edici Hormon
GIFT	:Gamet İntrafallopian Transfer
GnRH	:Gonadotropin Releasing Hormone (Gonadotropin Salgılatıcı Hormon)
GV	:Germinal Vezikül
HCG	: Human Chorionic Gonadotropin (İnsan Koryonik Gonadotropini)
ICSI	:İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu
IU	:International Units (Uluslararası Ünite)
IUI	:İntrauterin İnseminasyon
IVF	:İn Vitro Fertilizasyon
KOH	:Kontrollü Overyan Hiperstimülasyon
LH	:Lüteinize edici Hormon
MI	:Metafaz I
MII	:Metafaz II
OSCC	:Oosit-Kümüls-Korona Kompleks

OHSS	:Overyan Hiperstimülasyon Sendromu
PCOS	:Polikistik Over Sendromu
Pg	:pikogram
PN2	:2 pronükleuslu fertilize oosit
POST	:Peritoneal Oosit ve Sperm Transferi
PZD	:Parsiyel Zona Diseksiyonu
RR	:Relatif Risk
SPSS	:Statistical Package for the Social Sciences (Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi)
SUZI	:Subzonal İnseminasyon
TET	:Tubal Embriyo Transferi
TGF- β	:Transformig Growth Factor β (Transforme edici Büyüme Faktörü β)
USG	:Ultrasonografi
VKİ	:Vücut Kitle İndeksi
YÜT	:Yardımla Üreme Teknikleri
ZIFT	:Zigot İntrafallopiyan Transfer

2. TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Kadına ait infertilite nedenleri.....	13
Tablo 2. Erkeğe ait infertilite nedenleri.....	14
Tablo 3. Over rezervininin değerlendirilmesinde kullanılan testler.....	16
Tablo 4. Tedaviye yanıt açısından ultrasonografik over sınıflaması.....	18
Tablo 5. Oosit matürasyonun çevre hücrelerle birlikte değerlendirilmesi.....	25
Tablo 6. Oosit morfolojisinin 1.polar cisimciğe göre sınıflandırılması.....	25
Tablo 7. İç hücre kitlesi ve trofoektoderme göre blastokist skorlaması.....	29
Tablo 8. Blastokistlerin genişleme durumuna göre skorlama.....	29
Tablo 9. Embriyo değerlendirme planı.....	30
Tablo 10. Hastaların demografik ve hormonal özellikleri.....	35
Tablo 11. Transfer edilen embriyo grade ile muayene parametrelerinin karşılaştırılması.....	35
Tablo 12. Transfer edilen embriyonun grade ile hormonal parametrelerin karşılaştırılması....	36
Tablo 13. AMH düzeyi ile total oosit sayısı, total MII oosit, PN2 zigot ve transfer günü total embriyo sayısı arasındaki korelasyon katsayıları (r) ve önemlilik düzeyleri (p)	36
Tablo 14. Adetin 3. günü FSH düzeyi ile total oosit sayısı, total M2 oosit, PN2 zigot ve transfer günü total embriyo sayısı arasındaki korelasyon katsayıları (r) ve önemlilik düzeyleri (p).....	36
Tablo 15. HCG günü E2 düzeyi ile total oosit sayısı, total M2 oosit, PN2 zigot ve transfer günü total embriyo sayısı arasındaki korelasyon katsayıları (r) ve önemlilik düzeyleri (p).....	37
Tablo 16. Gebe olan ve olmayan grupların muayene parametrelerinin karşılaştırılması.....	37
Tablo 17. Gebe olan ve olmayan grupların hormonal parametrelerinin karşılaştırılması.....	38
Tablo 18. Gebe olan ve olmayan grupların tedavi protokollerinin karşılaştırılması.....	38
Tablo 19. Gebe olan ve olmayan grupların tedavisinde kullanılan ilaçların karşılaştırılması..	38

Tablo 20. Gebe olan ve olmayan grupların kullanılan ilaç dozu ve süresi açısından karşılaştırılması.....39

Tablo 21. Rekombinant ve üriner gonadotropin kullanan gruplarında elde edilen oosit ve embriyo sayı ve kalitesinin karşılaştırılması.....39

3. RESİMLER DİZİNİ

- Resim 1. A. Sıkı paketlenmiş kümülüs hücreli, yoğun korona hücreli GV; B. Yaygınlaşmış kümülüs hücreleri, ışınal yerleşimli korona hücreli MII.....22
- Resim 2. A. Mayoz başlamamış ve tipik nükleer yapıya sahip GV; B. Metafaz I'de duraksayan MI oosit; C. Metafaz II'ye girmiş MII oosit.....22
- Resim 3. A. Oval, intakt görünümlü normal polar cisimcik; B. Anormal büyüklükte polar cisimcik; C. Çok sayıda polar cisimcikler.....23
- Resim 4. A. Koyu ve granüllü sitoplazmalı oosit; B. Kümelenmiş, çok sayıda vaküol içeren sitoplazma.....23
- Resim 5. A. Koyu ve kalın zona pelusidalı anormal oosit; B. Perivitellin alanda granülasyonlar; C. Anormal geniş perivitellin aralık.....24
- Resim 6. A. Normal 2 pronükleus görüntülü fertilize oosit; B. Ayrışmış pronükleuslar; C. Farklı büyüklükte pronükleuslar; D. Çoklu pronükleuslu anormal fertilize oosit.....24
- Resim 7. A. Normal yerleşmiş ve normal sayıda nükleolus görünümü; B. Pronükleuslar arasında eşit dağılmamış nükleoluslar; C. Normal dağılım göstermemiş nükleoluslar; D. İğne ucu gibi küçük anormal nükleoluslar.....27
- Resim 8. Sitoplazmasında halo bulunan iyi kalite oosit.....27
- Resim 9. A. 8 blastomerli, blastomerlerin sitoplazmik şekil ve büyüklüğü eşit, zona pelusidası normal, %5'den az fragmantasyonlu iyi kalitede embriyo; B. 6-8 hücreli, yaygın vakuol içeren, blastomerin sitoplazmik şekil ve büyüklüğü eşit olmayan kötü kaliteli embriyo.....30
- Resim 10. A. Sıkı paketlenmiş, çok sayıda hücreli iç hücre kitleli, çok hücreden oluşan sıkı yapışık trofoektoderimli, blastosölü embriyo hacminin yarısından azını dolduran iyi kalite embriyo; B. İç hücre kitlesi sıkı paketlenmemiş, trofoektodermi gevşek bağlanmış, az sayıda hücre içeren kötü kaliteli embriyo.....31

4. ÖZET

Amaç: Bu çalışmada amacımız IVF uygulamalarında hormonal parametrelerin oosit ve embriyo gelişimi üzerinde etkilerinin olup olmadığını değerlendirmektir.

Materyal Metod: Ocak 2011-Kasım 2014 tarihleri arasında İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinin Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezinde IVF/ICSI yapılan 715 hasta çalışmamıza dahil edildi. Çalışmamız retrospektif şekilde yürütüldü. Hastaların dosyalarından AMH (Anti-Müllerian Hormon), FSH, HCG enjeksiyon günü E2 (Östradiol) değerleri ve AFS (Antral Follikül Sayısı) tarandı.

Embriyo kalitesi değerlendirilirken aşağıdaki skorlama sistemi kullanıldı. Blastomerleri eşit büyüklükte, fragmentasyon oranı %20'den az olan ve blastomerlerde multinükleasyon olmayan embriyolar grade 1, blastomerleri eşit büyüklükte, fragmentasyon oranı %20'den fazla olan embriyolar grade 2, blastomerleri eşit büyüklükte olmayan, fragmentasyon oranı %50'den fazla olan embriyolar grade 3, blastomer büyüklüğü, sayısı ve fragmentasyon oranı ayırtedilemeyen embriyolar grade 4 embriyo olarak seçildi. Transferden 12 gün sonra β -hCG bakıldı, pozitif ise 2 gün sonra katlanarak artışı olduğunda hastanın gebe olduğu kabul edildi. Çalışmada bağımsız gruplar için t-testi, Ki-kare testi, Pearson ve Spearman korelasyon analizleri yapıldı. İstatistiksel analizler SPSS for Windows 15 yazılımı kullanılarak yapıldı.

Bulgular: Siklusun 3.günü sayılan AFS ile embryo gradeleri arasında anlamlı farklı bulundu ($p=0,006$). Grade 1 embriyo grubunun AMH düzeyleri Grade 2 grubundan anlamlı yüksek bulundu ($p=0,05$). AMH ve HCG günü ölçülen E2 toplam elde edilen oosit, toplam MII oosit, iki pronükleuslu zigot ve toplam embriyo sayıları ile doğru korele (sırası ile $r=0,39$ ve $r=0,541$), siklusun 3.günü ölçülen FSH ters korele ($r=-0,294$) olduğu saptandı. Hastalar gebelik oluşan ($n=137$) ve gebelik oluşmayan ($n=599$) olarak iki gruba ayrıldı. Gebe olan grupta AFS ve HCG günü FS gebe olmayana göre anlamlı yüksekti (sırası ile $p=0,001$ ve $p=0,001$). Gebelik oluşan grupta AMH düzeyi oluşmayana göre yüksek saptandı ($p=0,01$). Siklusun 3.günü ölçülen FSH düzeyi gebelik oluşmayanda yüksekti ($p=0,49$). Kullanılan gonadotropin çeşidinin üriner veya rekombinant olması gebelik açısından önemli olmadığı görüldü. Tedavi dozu da iki grup arasında farklı değildi. Gonadotropin uygulanma süresi gebelik elde edilen grupta daha uzun idi ($p=0,003$).

Sonuç: Bu bulgular ışığında, IVF hastalarında tedavi öncesi ölçülen AMH, FSH, AFS tedavi ile elde edilecek oosit sayı ve kalitesi, embriyo kalitesi ve gebelik oranlarını öngörmek açısından önemli parametreler olduğu söylenebilir.

Anahtar kelimeler: IVF, AMH, oosit kalitesi, embriyo kalitesi

5. SUMMARY

Objective: In this study our aim is to determine the relation between hormon levels and quality of oocytes and embryos in IVF patients.

Material and Method: 715 patients were included in the study who received IVF/ICSI treatment between January 2011- November 2014 in I.U Cerrahpaşa Medical Faculty. Our study was conducted as a retrospective study. From patients files AMH (Anti-Mullerian Hormone), FSH, hCG injection day E2 (estradiol) levels and AFC (antral follicle count) were screened. Embryo quality was assessed using the following scoring system. Embryos with equal size, fragmentation rate of less than 20% and non multinucleation blastomeres were elected as grade 1; equal sized , fragmentation rate of more than 20% blastomeres was elected as grade 2; different sized , fragmentation rate greater than 50% was elected as grade 3. 12 days after the transfer β -hCG levels was measured and with doubling time 2 days patient considered pregnant. For statistical analysis independent groups t-test, Chi-square test, Pearson and Spearman correlation analysis were used.

Findings: We found statistical significant relation between AFC and embryo grade ($p=0,006$). AMH levels of grade 1 embryo group were significant higher than grade 2 embryo group ($p=0,05$). There were positive correlation between AMH, hCG injection day E2 levels and total obtained oocytes, total MII oocytes, total two pronucleus zygots and total embryos ($r = 0.39$ and $r = 0.541$ respectively), negative correlation between FSH and total obtained oocytes, total MII oocytes, total two pronucleus zygotes and total embryos ($r=-0,294$). Patient were divided into two groups; pregnant ($n=137$) and non pregnant ($n=599$). In pregnant group AFC and hCG injection FC were significant higher ($p=0,001$ and $p=0,001$ respectively). In pregnant group AMH levels were higher ($p=0,01$). FSH levels were higher in non pregnant group ($p=0,49$). We found no difference between Urinary or recombinant gonadotropin used groups. Treatment dosage was not different in pregnant and non pregnant group. Gonadotropin implementation period was longer in the group obtained gestation ($p = 0,003$).

Conclusion: According to these findings pre-treatment measurment of AMH, FSH, AFC could be important parameters to predict total obtained oocytes, total MII oocytes, total two pronucleus zygotes and total embryos in IVF patients.

Keywords: IVF, AMH, oocyte quality, embryo quality

6.GİRİŞ

Korunmadan ve uygun cinsel ilişkiye rağmen 1 yıl içerisinde gebelik oluşmayan çiftlere infertilite tanısı konur. İnfertilite toplumda sık karşılaşılan sorunlardandır. Toplumda tespit edilen infertilite oranı %15'dir (1).

1978'de in vitro fertilizasyon (IVF) ile elde edilen ilk canlı doğumun ardından yardımla üreme teknikleri pratikte yaygın kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde infertilite tedavisi için bu teknikler giderek geliştirilmiştir. Bunlardan en yaygın olarak kullanılan Yardımla Üreme Teknikleri klasik IVF ve ICSI'dir.

Yardımla üreme tekniklerindeki nihai amaç kadın sağlığına risk oluşturmadan sağlıklı gebelik elde edilmesidir. Bu nedenle tedavi sırasında hormonal belirteçler kullanarak ilaç dozunun doğru ayarlanması, overyan hiperstimülasyon sendromları gibi hayatı tehdit edebilecek komplikasyonlardan kaçınılması, fertilize olmuş oositin doğru değerlendirilmesi ve elde edilen embriyolardan en iyi kaliteli olanın transfer edilmesi önemlidir. Pratikte hormonal belirteçlerden Anti-Müllerian Hormon (AMH) ve Follikül Stimüle edici Hormon (FSH) yaygın kullanılmaktadır.

Hipofizden salgılanan ve overlerde folikül gelişimini uyararak FSH serum düzeyi, overin hipofize verdiği yanıt azaldıkça yükselecektir. Siklusun 3. günü ölçülen FSH düzeyi 10 IU/l'den yüksek olan hastalarda overin kontrollü overyan hiperstimulasyona (KOH) verdiği yanıtın zayıf olduğu bilinmektedir.

Anti-Müllerian hormon transforming growth factor β (TGF- β) ailesinin üyesidir. Overlerde çapı 6mm'e kadar olan primer, preantral ve antral foliküllerin granuloza hücrelerinde sentezlenir ve salgılanır (2). AMH azlığında veya yokluğunda folikül havuzunda folikül seçilme hızı artar ve folikül havuzu hızla tükenir. Buna ilave olarak AMH kötü yanıtlı hastalarda, OHSS öngörüsünde ve gonadotropin doz ayarlanmasında kullanılabileceği gösterilmiştir (3).

Laboratuvar ortamında 3-5 gün izlenen embriyolarda normal gelişen ve iyi kaliteli embriyo ile anormal gelişen kötü kaliteli embriyoları belirlemek ve en iyi kaliteli embriyoları seçmek şarttır. Bu nedenle toplanan oositleri ve gelişimin her aşamasında embriyoları değerlendirmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir.

Oosit seçilmesindeki amaç metafaz 2'de (MII) duraksamış oositlerle, metafaz 1'de duraksayan MI oositleri, metafaz başlamamış germinal vezikülleri (GV) ayırt etmektir. Değerlendirmede yaygınlaşmış kümülüs hücreleri, ışınal yerleşimli korona hücreli, oval ve intakt görünümlü normal polar cisimcikli, granülsüz ve vakuol içermeyen sitoplazmalı,

şeffaf ve normal kalınlıkta zona pellusidalı, granülasyonsuz ve normal genişlikteki perivitellin aralığı bulunan oositler kaliteli oosit kabul edildi (4).

Embriyo seçiminde kriterler embriyonun tek hücre, 2 hücre, 4 hücre, 8 hücre ve blastokist aşamalarında olmasına göre değişir. Tek hücre aşamasında pronükleusları yaklaşık aynı büyüklükte, fertilize oosit içerisinde merkezi konumda veya 2.polar cisimciği içeren hemisferde yerleşmiş, pronükleus başına 3-7 nükleolüs içeren, pronükleuslar içerisinde eşit sayı ve büyüklüğe sahip, pronükleus birleşiminde sıralanmış nükleolüsleri olan fertilize oositler iyi kaliteli olarak değerlendirilir (5). Embriyo değerlendirilirken blastomer sayısını 2'nin katları şeklinde artması normal embriyo gelişimini gösterir.

Blastokist değerlendirmesinde blastosöl kavitesi tam gelişmiş, iç hücre kitlesi hücreleri çok sayıda ve sıkıca paketlenmiş, trofoektoderm hücreleri çok sayıda birbirine yapışık olan embriyolar iyi kaliteli embriyo olarak kabul edilir (6).

Bu bilgilerden yola çıkarak retrospektif olarak yürütülen çalışmamızda amaç kadın hormonal parametreleri ve muayene bulgularının infertilite tedavisi sonrası elde edilen oosit kalitesi, embriyo kalitesi ve gebelik üzerinde etkilerini değerlendirmek, aralarında korelasyon olup olmadığına bakmaktır.

7. GENEL BİLGİLER

1.1.İnfertilite

1.1.1.Giriş

Korunmadan ve uygun cinsel ilişkiye rağmen 1 yıl içerisinde gebelik oluşmayan çiftlere infertilite tanısı konur. Bu kriterlere göre tespit edilen toplumda infertilite oranı %15'dir (1). Normal bir çiftin bir menstrüel siklusta gebe kalma ihtimali (fekundabilite) %25'tir. Bu oran 3 ay için %57, 6 ay için %72, bir yıl için %85'e çıkmaktadır (7).

Toplumda evlenme yaşının daha ileri yaşlara ertelenmesi, obezitenin yaygınlaşması, çevresel ve sosyoekonomik faktörler fertilité oranlarının düşmesine neden olmuştur. Daha önce hiç gebelik oluşmamışsa primer infertilite, en az bir gebelik oluşmuşsa sekonder infertilite olarak adlandırılır.

İnfertilite olgularının yaklaşık %40-50'sinde kadın, %30-40'ında erkek, %10-15'inde açıklanamayan infertiliteden söz edilir. Kadın faktörü tek başına incelendiğinde % 40 ovulatuvar disfonksiyon, % 40 tubal ve pelvik patolojiler, % 15 nedeni açıklanamayan infertilite olduğu görülür (8).

İnfertilite tedavisi günümüzde gelişmiş olmasına rağmen, tedavi başarısı klinik gebelik olarak %25-30 civarındadır (9). Doğal olarak bu durum tedavide varmak istenen noktadan çok uzaktır. İnfertilite tedavisinde normal fizyolojik dozların çok üzerinde gonadotropin kullanımı, serum östrojen seviyesinin çok yüksek olması, elde edilen oosit ve oluşan embriyo kalitesini bozabilir ve endişe yaratıcı bir durumdur (10).

1.1.2.İnfertil çiftin değerlendirilmesi

Genel yaklaşım 1 yıl korunmasız ilişkiye rağmen gebe kalamayan çiftlerin araştırılmasına başlanmasıdır. Kadın yaşının 35 yaşın üzeri olması, geçirilmiş pelvik cerrahi, bilinen endometriozis ve pelvik inflamatuvar hastalık öyküsü olan durumlar 1 yıl beklenmeye bilindir (11).

Kadının yaşını infertilite açısından anamnezde sorgulamak çok önemlidir. İlerleyen yaşla beraber over rezervi, overlerin tedaviye yanıtı ve tedavi başarısı etkilenmektedir. 20-29 yaşlardaki kadında infertilite oranı % 10'un altındayken, bu oran 40-45 yaşlarında % 95'e varmaktadır. Erkek için yaşla ilişkili bu şekilde bağlantının olmadığı gösterilmiştir (12).

İnfertilite süresi ve infertilitenin primer veya sekonder olması anamnezde sorgulanır. Daha önce term gebelik veya düşük öyküsü kadın genital organları hakkında bilgi verecektir. Buna ilave olarak gebelik veya düşük sırasında yaşanan komplikasyonlar infertilite nedeni olabilirler.

Adet düzeni, kadının mevcut hormonal durumu, over rezervi ve endometrium hakkında fikir verir. Düzensiz adet görme, hirsutizm, akne, temporal alopesi, akantozis nigrikans, vazomotor şikayetlerin olması sorgulanır.

Kadın ve erkeğin sigara içiciliği fertilitayı olumsuz etkileyebilir ve anamnezde sorgulanır (13).

Hastaların boy ve kilosu ölçülür. Obezite ve özellikle polikistik over sendromlu hastalarda folikülogenezis ve folikül matürasyonunda sorunlar olmakta ve bunun sonucu hastaların yaklaşık yarısında anovulasyona bağlı infertilite problemleri oluşmaktadır (14).

Jinekolojik muayenede vajinal akıntı, servikal hassasiyet olup olmadığına bakılır. Bimanüel muayenede uterus kıvamı, boyutu, fikse olup olmadığı, Douglas boşluğunda obliterasyon, nodularite bakılır, adneksler yer kaplayan kitle açısından değerlendirilir.

Transvajinal ultrason muayenesinde endometriyumun siklusla uyumu, endometriyumda polip varlığı, myom olup olmadığı, myometriyum ekojenitesi, hidrosalpenks varlığı, over morfolojisi, pozisyonu, hacmi ve overde yer kaplayan kist-kitle varlığı değerlendirilir. Antral folikül sayısı sayılır ve kaydedilir.

1.1.3.İnfertilite nedenleri

Sağlıklı oosit ve sağlıklı spermatozoanın kadın reproduktif traktında karşılaşması ve fertilizasyon sonrası oluşan embriyonun endometriyuma implantasyonu ile gebelik meydana gelir. Bu aşamalarda bozukluklar infertilite olarak klinikte karşımıza çıkar. Kliniğe başvuran çiftlerde infertilite etyolojisinin araştırılması ve doğru tanı konulması hayati önem taşır. Tanı konulmadan tedaviye başlanması tedavi başarısını ve komplikasyon oranlarında artışa neden olabilir. Kadına ait infertilite nedenleri Tablo 1’de özetlenmiştir.

Tablo 1. Kadına ait infertilite nedenleri

<ol style="list-style-type: none">1. Santral nedenler<ul style="list-style-type: none">• Hiperprolaktinemi• Hipotalamik yetmezlik• Pitüiter yetmezlik2. Metabolik hastalıklar<ul style="list-style-type: none">• Konjenital adrenal hiperplazi• Tiroid hastalıkları• Cushing hastalığı• Obezite3. Overle ilgili problemler<ul style="list-style-type: none">• Polikistik over sendromu• Prematür overyan yetmezlik• Gonadal disgenezi (Turner sendromu vs.)• Over tümörü (Endometrioma, over kanseri vs.)4. Pelvik faktörler<ul style="list-style-type: none">• Geçirilmiş pelvik cerrahi• Endometriosis• Pelvik inflamatuvar hastalık• Uterin adhezyonlar5. Yapısal anomaliler<ul style="list-style-type: none">• Müllerian anomaliler (Müllerian agenezi, uterin septum vs.)• Myoma uteri• Endometrial polip• Dietilstilbestrol (DES) maruziyeti6. Servikal faktörler<ul style="list-style-type: none">• Servikal stenoz• Geçirilmiş cerrahiye bağlı sekeller
--

İnfertilite etyolojisi araştırılırken kadına bağlı faktörler dışlandıktan sonra erkeğe bağlı faktörler araştırılır. Kadına yönelik invazif tanısal testlere geçmeden önce erkek

araştırmasının tamamlanması gereklidir. Erkeğe ait infertilite nedenleri Tablo 2’de özetlenmiştir.

Tablo 2. Erkeğe ait infertilite nedenleri

<ol style="list-style-type: none">1. Sperm üretimi ile ilgili nedenler<ul style="list-style-type: none">• Genetik nedenler (Klinefelter sendromu, Y kromozomu delesyonları vs.)• Anatomik nedenler (Kriptoorşidizm, varikosel vs.)• Enfeksiyon (Kabakulak vs.)• Toksik etkenler (Radyasyon, ısı, alkol, ilaç kullanımı vs.)• Hipotalamik nedenler (Kallmann sendromu, izole GnRH yetmezliği vs.)• Pitüiter nedenler (Hipogonadotropik hipogonadizm, pitüiter tümör vs.)• Testiküler nedenler (Testis tümörü vs.)2. Sperm fonksiyon bozuklukları<ul style="list-style-type: none">• İmmotil silia sendromu• Antisperm antikorların mevcudiyeti• Varikosel• Akrozom reaksiyonunun olmaması• Zona pellucida’ya yapışma problemleri3. Duktal sistemde anomaliler<ul style="list-style-type: none">• Obstüktif nedenler• Konjenital anomaliler• Geçirilmiş cerrahiye bağlı sekeller4. Seksüel disfonksiyonlar<ul style="list-style-type: none">• Eretil disfonksiyon• Ejekülasyon bozuklukları
--

1.2. Over rezervinin değerlendirilmesi

Overlerin fizyolojik görevi oosit üretmek (folikülogenez) ve steroid üretmektir (steroidogenez). Bu iki fizyolojik görev puberteden itibaren bir birine bağlantılı şekilde her siklusta yürütülmektedir. Overde folikül büyümesi, olgunlaşması, ovülasyon ve korpus luteum oluşumuna paralel steroidogenez de gerçekleşmektedir.

İntrauterin hayatta, gebeliğin 16-20. gebelik haftalarında yaklaşık 7 milyon oosit bulunmaktadır. Doğumda bu sayı 1 milyona, pubertede ise yaklaşık 400 bine düşer. Bunu nedeni daha intrauterin hayatta başlayan apoptozistir. Reprodüktif çağda bir kadında yaklaşık 500 oosit ovule olur, geri kalanlar ise atreziye uğrar. Bu atrezi süreci 35 yaşında kadar sabit hızla olurken, sonrasında daha hızlı gerçekleşir (15). Bu nedenle over rezervi 35 yaşından sonra hızla düşmektedir.

Over rezervi, overlerdeki primordial folikül sayısı ve oosit kalitesi ile belirlenen üreme potansiyelini tanımlar. Kadını yaşı, obezite varlığı, sigara içiciliği, over cerrahileri, kemoterapi ve radyoterapi over rezervini etkileyen önemli faktörlerdir. 35 yaş üzeri kadınlarda oosit sayı ve kalitesinde giderek azalma olduğu bilinmektedir. Bu hastalardan elde edilen oositlerde tipik olarak genişlemiş perivitellin aralık, perivitellin debri ve ince zona pellucida izlenir (16). Over rezervini değerlendirmek için kullanılan testler Tablo 3'de özetlenmiştir.

1.2.1. Bazal FSH düzeyi

Hipofizden salgılanan ve overlerde folikül gelişimini uyaran FSH serum düzeyi, overin hipofize verdiği yanıt azaladıkça yükselecektir. Bir süre sonra FSH uyarısı yeterli olmayacak ve overlerde folikül gelişimi azalacaktır. Bu dönem öncesinde folikül gelişim bozukluğuna bağlı menstrüel düzensizlik gözlenecektir. FSH'nın erken foliküler fazdaki düzeyleri ile overin FSH'ya yanıtı arasında kuvvetli korelasyon bulunmaktadır. Bazal FSH düzeyleri yüksek olan kadınlarda gebelik oranlarının düşük olduğu gösterilmiştir (17). FSH düzeyi yüksek olan olgularda morfolojik ve genetik açıdan over kalitesi olumsuz etkilenmektedir. Erken foliküler fazda, yani siklusun 3. günü ölçülmelidir. Siklusun 3. günü ölçülen FSH düzeyi 10 IU/l'den yüksek olan hastalarda overin kontrollü overyan hiperstimulasyona (KOH) verdiği yanıtın zayıf olduğu bilinmektedir. Bazal FSH düzeyinin 20 IU/L ve üzeri olan hastaların gebelik şansı çok düşüktür ve bu hastalarda gebelik elde edilse bile düşük ihtimal çok yüksektir (18).

Tablo 3. Over rezervininin değerlendirilmesinde kullanılan testler

<ol style="list-style-type: none">1. Endokrin testler<ul style="list-style-type: none">• Bazal FSH düzeyi• Bazal LH düzeyi• Bazal Östradiol (E2) ve progesteron düzeyleri• Bazal FSH-LH oranı• Bazal İnhibin B düzeyi• AMH2. Dinamik endokrin testler<ul style="list-style-type: none">• Klomifen sitrat challenge testi• GnRH agonist stimülasyon testi• Eksojen FSH overyan rezerv testi3. Ultrasonografik testler<ul style="list-style-type: none">• Over volümü ölçümü• Antral folikül sayısı• Over stromasında renkli Doppler ultrasonografiyle kan akımı bakılması4. İnvazif testler<ul style="list-style-type: none">• Laparoskopik over biyopsisi

Bazal FSH düzeyinin sikluslar arası değişim gösterdiği, ama bu değişimin klinik olarak anlamlı olmadığı bilinmektedir. Bazı hastalarda FSH düzeyinin normal olmasına karşın overin KOH'a yanıtı kötü olmaktadır. Bunun nedeni over rezervinin azalmış olmasına rağmen FSH düzeylerinin henüz değişmemiş olmasındadır. Bu hastalarda FSH dışında diğer testler kullanılmalıdır.

1.2.2. Bazal Östradiol (E2) düzeyi

Siklusun 3. günü serum E2 düzeyinin yüksek olması over rezervinin düşük olması ile ilişkilidir. Bazal E2 düzeyi bazal FSH düzeyi ile kıyaslandığında tedaviye yanıtı göstermede daha zayıf belirleyicidir. Hastalarda E2 düzeyini FSH düzeyi ile birlikte değerlendirmek mantıklıdır. Bazal E2 düzeyi negatif geri bildirim yoluyla hipofizden FSH'ın daha az salınmasına ve düşük bazal FSH düzeylerine neden olacaktır. Önceki siklustan kalan over kisti E2 düzeyinin yüksek ölçülmesine neden olabilir (19). Bazal E2 düzeyi dışında, HCG

(human chorionic gonadotropin) günü E2 düzeyleri kötü yanıtı (poor responder) hastalarda ve OHSS (Overyan Hiperstimülasyon Sendromu) tanısında yol gösterici olabilir. HCG günü E2 düzeyinin 800 pg/dl altında olması kötü yanıtı hasta olarak değerlendirilir (20). HCG günü E2 düzeyinin 4000 pg/dl ve üzerinde olması OHSS açısından risk oluşturur (21).

1.2.3. Anti-Müllerian Hormon (AMH)

Anti-Müllerian hormon transformig growth factor β (TGF- β) ailesinin üyesidir. Glikoprotein yapısındadır. Fetal testis Sertoli hücrelerinden salgılanan AMH'nın Müller kanalının gelişimini engellediği bilinmektedir. AMH böylece fetusun dişi yönde gelişimini durdurmaktadır (22).

Overlerde çapı 6mm'e kadar olan primer, preantral ve antral foliküllerin granüloza hücrelerinde sentezlenir ve salgılanır. Folikül büyüdükçe salgılanması azalır ve 8 mm'den büyük foliküllerde salgılanması çok azdır. AMH salgılanması FSH'dan bağımsızdır. AMH'nın foliküler gelişimi durdurucu etkisi vardır. Bir yandan primordial folliküllerde adaylığı önlerken diğer yandan foliküllerin FSH'ya duyarlılığını azaltır (2,23). AMH azlığında veya yokluğunda folikül havuzunda folikül seçilme hızı artar ve folikül havuzu hızla tükenir. Serum AMH düzeylerinin siklus süresince göreceli sabit kalması AMH'yı diğer hormonlardan ayıran başlıca özelliğidir. Over rezervini değerlendirmede AMH güçlü belirteçtir. Buna ilave olarak AMH kötü yanıtı hastalarda, OHSS öngörüsünde ve gonadotropin doz ayarlanmasında kullanılabileceği gösterilmiştir (3). Ailevi erken menopoz öyküsü olan, over cerrahisi geçirmiş hastalarda, endometriozis olgularında tedavi öncesi önemli belirteçtir.

1.2.4. Ultrasonografi ile over rezervinin değerlendirilmesi

Over rezervinin belirlenmesinde hormonal değerlendirme indirekt bir bilgi sağlamaktadır. FSH, E2 ve İnhibin B gibi parametreler ile overin indüksiyona verdiği yanıt arasında bir paralellik bulunmakla birlikte, bu ilişki her zaman net olarak gösterilmeyebilir. Özellikle FSH ve İnhibin B değerleri over rezervi tamamen tükendiğinde kliniğe yansımaktadır.

Overin indüksiyona verdiği yanıtla ultrasonografideki görünümü arasında ilişki olduğu bilinmektedir. Bunun için birçok parametre incelenirse de, over hacmi ve antral folikül sayısı üzerinde durulmuştur. Over hacmi ve antral folikül sayısı arttıkça over rezervi de doğrusal

olarak artmaktadır. Over hacmi ve antral folikül sayısı yaşla birlikte azalmakta, endokrin durumlara göre değişkenlik göstermektedir (24).

Antral folikül sayısı sikulusun 3. günü transvajinal USG ile değerlendirilir. Çoğu araştırmalarda çapı 2-5 mm olan foliküller sayılırken, bazılarında 10 mm altında olan foliküller antral folikül olarak kabul edilir (25). AFS sonucu overler tedaviye yanıt açıdan gruplara ayrılır, bu gruplar Tablo 4. de özetlenmiştir

Tablo 4. Tedaviye yanıt açısından ultrasonografik over sınıflaması

Grade 1:	AFS 4 veya altında; kötü yanıt (poor responder)
Grade 2:	AFS 4-6 arası; tedaviye yetersiz yanıt
Grade 3:	AFS 7-10 arasında; tedaviye iyi yanıt
Grade 4:	AFS 10 ve üzeri; foliküler atrezi veya OHSS riski yüksek

1.3. İnfertilite tedavisi

1.3.1. Kullanılan ilaçlar ve tedavi protokolleri

Konrollü overyan hiperstimülasyonda (KOH) amaç multifoliküler gelişim sağlamaktır. Bu nedenle yüksek dozlarda gonadotropin kullanımı gerekmektedir. FSH, LH ve HCG insan gonadotropinleridir. Gonadotropinler alfa ve beta subüniteleri içeren kompleks heterodimerik glikoproteinlerdir. Gonadotropinlerin alfa subünitesi aynı, beta subüniteleri farklıdır. Biyolojik aktiviteyi beta subünite belirler. KOH'da üriner, pürifiye üriner ve rekombinant olmak üzere 3 çeşit gonadotropin kullanılmaktadır.

Üriner gonadotropinler idrardan elde edilir. Başlıca dezavantajı idrar proteinlerine bağlı alerjik reaksiyonlar ve batch-to-batch tutarsızlıktır. Rekombinant gonadotropinlere üstünlükleri ise maliyet etkin olmalarıdır. Literatürde çoğu araştırmada üriner gonadotropinlerle elde edilen gebelik oranlarının rekombinant gonadotropinlerle elde edilenlerden farklı olmadıklarını göstermiştir (26,27). Rekombinant gonadotropinler insan FSH geninin çin hamsteri overine transferiyle rekombinant teknolojilerle elde edilmektedir. Üriner gonadotropinlere en büyük avantajı yüksek spesifik etkiye sahip olmaları ve doz ayarlarının daha kolay olmasıdır (28).

KOH'da multifoliküler gelişim olduğundan prematür LH piki beklenen bir durumdur. Prematür LH pikini önlemek için tedaviye GnRH agonistleri ve antagonistleri eklenmektedir. GnRH agonistleri ve antagonistlerinin eklenmesi ile çeşitli tedavi protokolleri belirlenmiştir. Hastanın mevcut hormonal durumu, over rezervi, PCOS'u varlığı dikkate alınarak GnRH analog uzun, GnRH analog kısa ve GnRH antagonsit protokolleri kullanılmaktadır (29).

GnRH analog uzun protokol en fazla kullanılan KOH protokolüdür. Bu protokolde GnRH agonisti bir önceki siklusun 21.gününde başlanılır. Midlüteal dönemde tedaviye başlamadaki amaç agonistlerin flare-up etkileri endojen gonadotropin seviyeleri düşük olduğundan en az olmasıdır. Menstrüasyonla beraber tedavi dozu azaltılarak gonadotropinler tedaviye eklenir. Ultrasonografi ve serum E2 değerleri ile monitorize edilen hastada 18 mm'den büyük folikül saptandığında oosit matürasyonu amacıyla HCG uygulanır. HCG enjeksiyonundan yaklaşık 36 saat sonra oosit toplama işlemi planlanır.

GnRH analog kısa protokolde GnRH agonisti siklusun 3.günü başlanılır. Bu protokolde GnRH agonisti başlama günü dışında takip uzun protokolle aynıdır.

GnRH antagonistleri flare-up etkisi oluşturmada inhibe edici etki gösterirler. Etkileri GnRH agonistlerine nazaran çabuk başlar. GnRH antagonist protokolünde tek bir folikül 14 mm'ye ulaştığında GnRH antagonist başlanır. Tedavinin diğer aşamaları agonist protokollerindeki gibidir.

1.3.2 Yardımla Üreme Teknikleri (YÜT)

Yardımla üreme teknikleri intrauterin inseminasyon (IUI), klasik in vitro fertilizasyon (IVF), intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI), gamet intrafallopiyan transfer (GIFT), zigot intrafallopiyan transfer (ZIFT), parsiyel zona diseksiyonu (PZD), subzonal inseminasyon (SUZI), tubal embriyo transferi (TET), peritoneal oosit ve sperm transferi (POST) içerir. Günümüzde en yaygın olarak kullanılan Yardımla Üreme Teknikleri klasik IVF ve ICSI'dir.

Klasik IVF oosit-kümüls-korona kompleksi (OCCC) ile sperm hücrelerinin oosit başına yaklaşık 100 bin spermatozoa olacak şekilde in vitro ortamda karşılaştırılmasıdır. İlave müdahale olmadan fertilizasyonun 16-18 saat sonra gerçekleşmesi beklenilir. Ciddi erkek infertilitesi durumlarında klasik IVF ile fertilizasyon uygun yaklaşım değildir. Bu nedenle erkek infertilitesi olgularında mikromanipülasyon yöntemleri geliştirilmiştir. Örneğin, parsiyel zona diseksiyonunda (PZD) zona pelusida da açıklık oluşturularak spermatozoa girişi kolaylaştırılır. Subzonal inseminasyonda (SUZI) ise spermatozoa direkt perivitellin aralığa enjekte edilmektedir. Pratikte en fazla kullanılan mikromanipülasyon yöntemi intrasitoplazmik sperm enjeksiyonudur (ICSI).

ICSI bir adet spermatozoanın oosit içine enjekte edilmesidir. ICSI işlemi inverted mikroskoba monte edilmiş manipülatör ile yapılmaktadır. Spermatozoa mikroenjeksiyon pipeti içine alınarak oosit sitoplazmasının ekvatoryal bölgesine bırakılması esasına dayanır. Böylece spermatozoa zona pelusida ve oolemma engelini aşmak zorunda kalmaz. ICSI ciddi erkek infertilitesi olan olguların tedavisi için geliştirilmiş bir yöntemdir. ICSI sonrası fertilizasyon başarısızlık oranlarının %3 gibi düşük olması ICSI endikasyonunu genişletmiştir (30). Günümüzde elde edilen oosit sayısının az olduğu olgularda erkek faktörüne bakılmaksızın ICSI uygulanmaktadır. ICSI yapılmadan önce kümülüs-korona kompleksinin temizlenmesi gerekir. Bu durum oosit matürite ve morfolojisinin ayrıntılı değerlendirme olanağı sağlar.

1.4. Oosit ve embriyo değerlendirilmesi

1.4.1. Fertilize olmamış oositin değerlendirilmesi

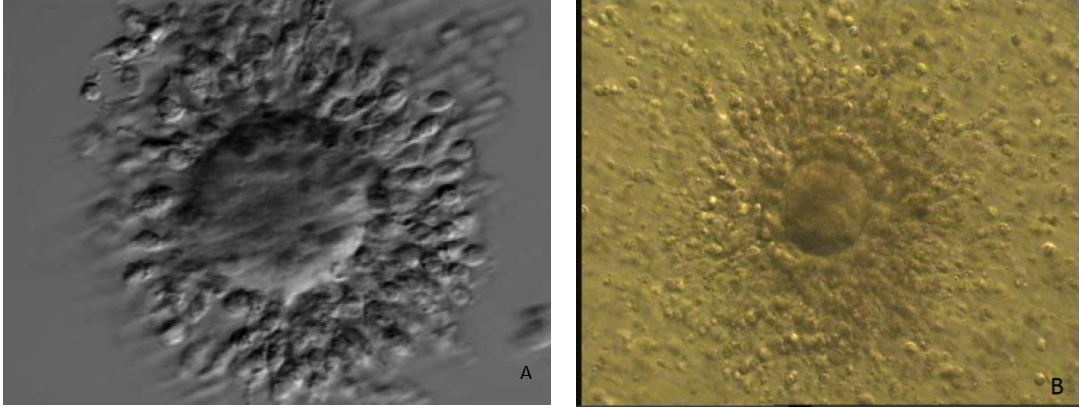
Oosit değerlendirilmesi oosit toplanması sırasında oosit-kümüls-korona kompleksi (OCCC) aspirattan ayırt edildiği zaman yapılmalıdır. Pratikte bu oosit toplama ve anestezi süresini uzattığından oositler işlem sonrası değerlendirilir. Oosit ve onu çevreleyen yapılar Hoffman modülasyon kontrast mikroskopunda 100-200 büyütmede incelenir. Burada amaç oositin mayotik evresi değil, oosit-kümüls-korona kompleksinin matürasyonunu değerlendirmektir. Kümüls-korona kompleksinin matürasyonu ile oositin mayotik matürasyonu arasında ilişki gösterilmiştir. Yaygınlaşmış kümülüs hücreleri, ışınsal yerleşimli korona hücreleri oositin metafaz II'ye geçtiğini gösterir. Kümüls hücrelerinin sıkı paketlenmesi, korona hücrelerinin yoğun olması mayotik immatüriteye işarettir (31).

Klasik IVF'de oositlerin morfolojik özellikleri, çevrelerindeki kümülüs-korona hücrelerinden dolayı görülmez. Oositlerin matürasyonunu ve dolayısıyla inseminasyon zamanlaması kümülüs-korona kompleksindeki hücrelerin miktar, dağılım ve düzenlerine göre değerlendirilir. Bazı çalışmalarda kümülüs-korona kompleksinin durumu ile oosit matürasyonu arasında ilişki olduğu gösterilse de, bazı çalışmalar yüksek oranda asenkronizasyon saptamıştır (32). Kümüls-korona kompleksinin blastokist gelişimi, fertilizasyon ve gebelik oranları ile korele olduğunu gösteren çalışmalar vardır (31). Son yıllarda oosit matürasyonu ooplazma, kümülüs, korona ve granüloza hücreleriyle birlikte değerlendirilmek için sınıflama sistemi hazırlanmıştır. Oosit matürasyonunun çevre hücreler ile değerlendirilmesini gösteren sınıflama Tablo 5'de özetlenmiştir.

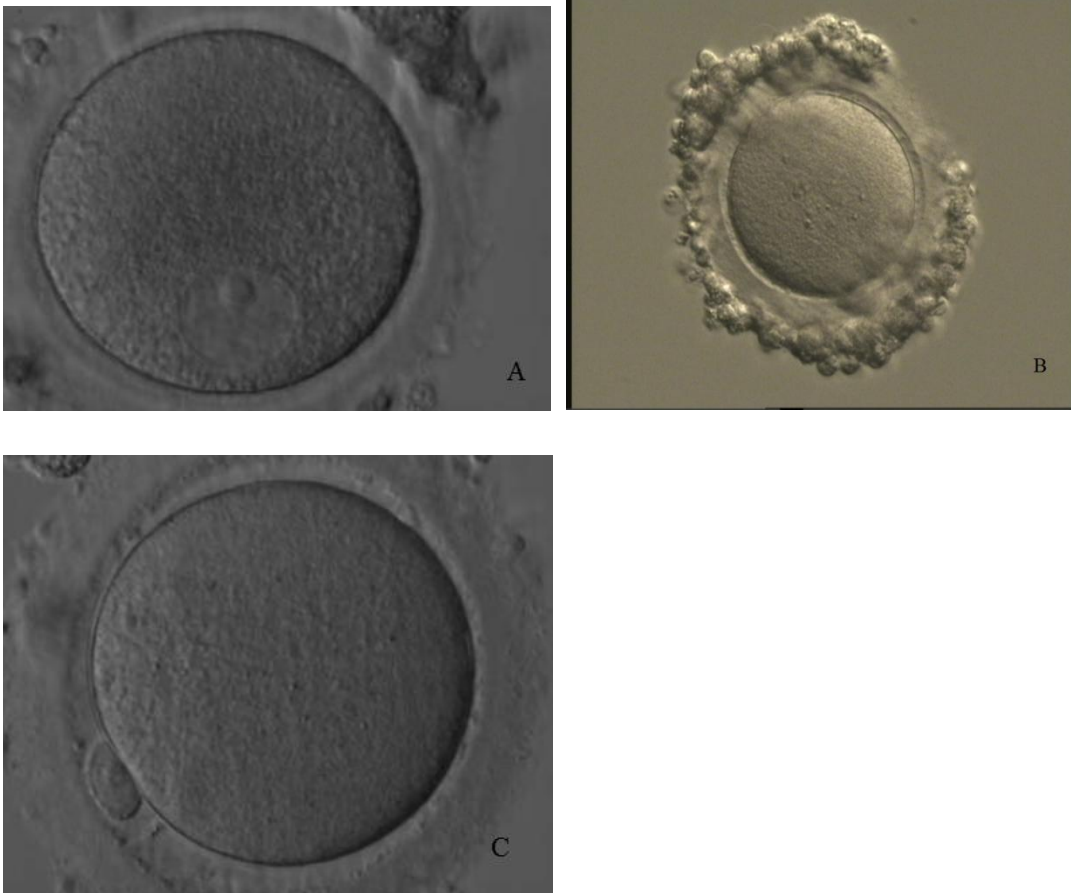
OCCC'nin değerlendirilmesi sadece oosit matürasyonu hakkında bilgi vermekte, morfolojik yapıları hakkında yeterince bilgi sağlamamaktadır. IVF'den farklı olarak ICSI'de oosit çevresindeki hücreler mekanik ve kimyasal yöntemlerle uzaklaştırıldığından oosit yapısal özellikleri ayrıntılı olarak değerlendirilebilmektedir. Oosit morfolojisinin 1.polar cisimciğe göre sınıflandırılması Tablo 6'da özetlenmiştir.

1.polar cisimciğin morfolojisinin oosit kalitesi ve dolayısıyla embriyo kalitesi ile ilgi olduğunu gösteren yayınlar vardır (33). 2. mayoz bölünmenin metafazında duraksamış oositte bir polar cisimcik bulunur. ICSI yapılırken 1.polar cisimcik kolaylıkla değerlendirilebilir. Polar cisimciğin oluşumu mayoz ve hücre siklusuna bağlı olduğundan anormal polar cisimcik moleküler ve hücresel seviyede bozukluğu gösterebilir.

Resim 1. A. Sıkı paketlenmiş kümülüs hücreli, yoğun korona hücreli GV; B. Yaygınlaşmış kümülüs hücreleri, ışınal yerleşimli korona hücreli MII

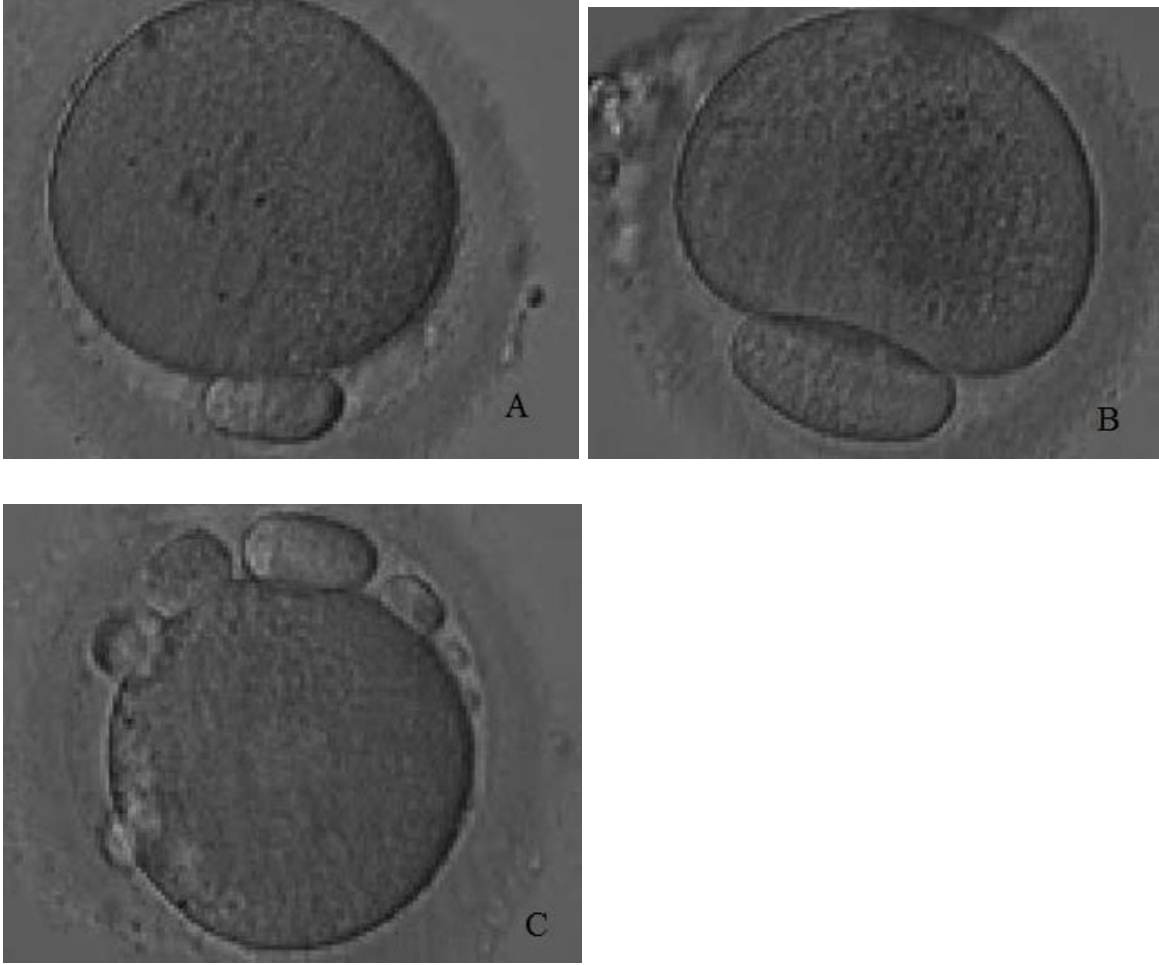


Resim 2. A. Mayoz başlamamış ve tipik nükleer yapıya sahip GV; B. Metafaz I'de duraksayan MI oosit; C. Metafaz II'ye girmiş MII oosit

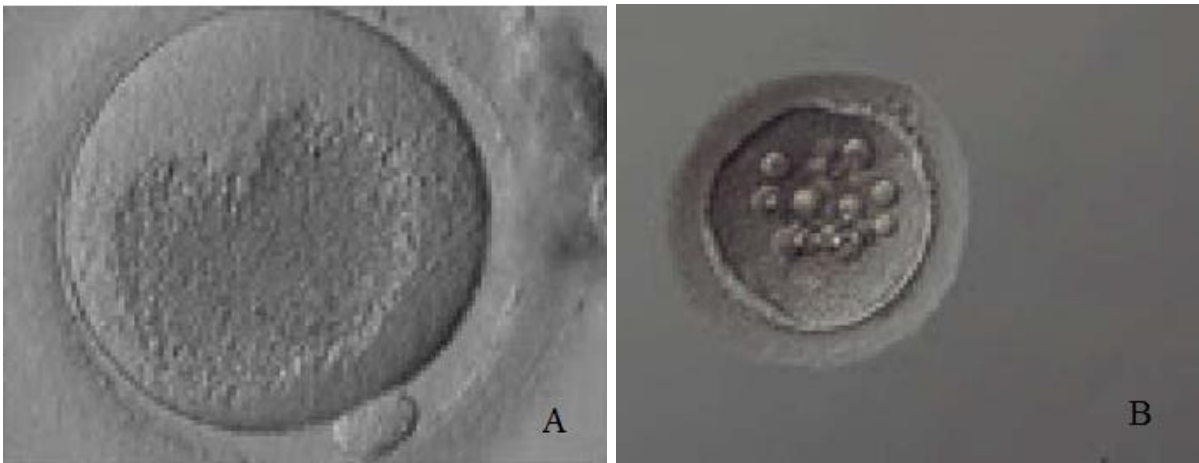


Polar cisimciğin fragmantasyonsuz, yüzeyinin düzgün, yuvarlak olması fertilizasyon oranını, embriyo grade'ini ve implantasyon oranlarını artırdığı gösterilmiştir (33).

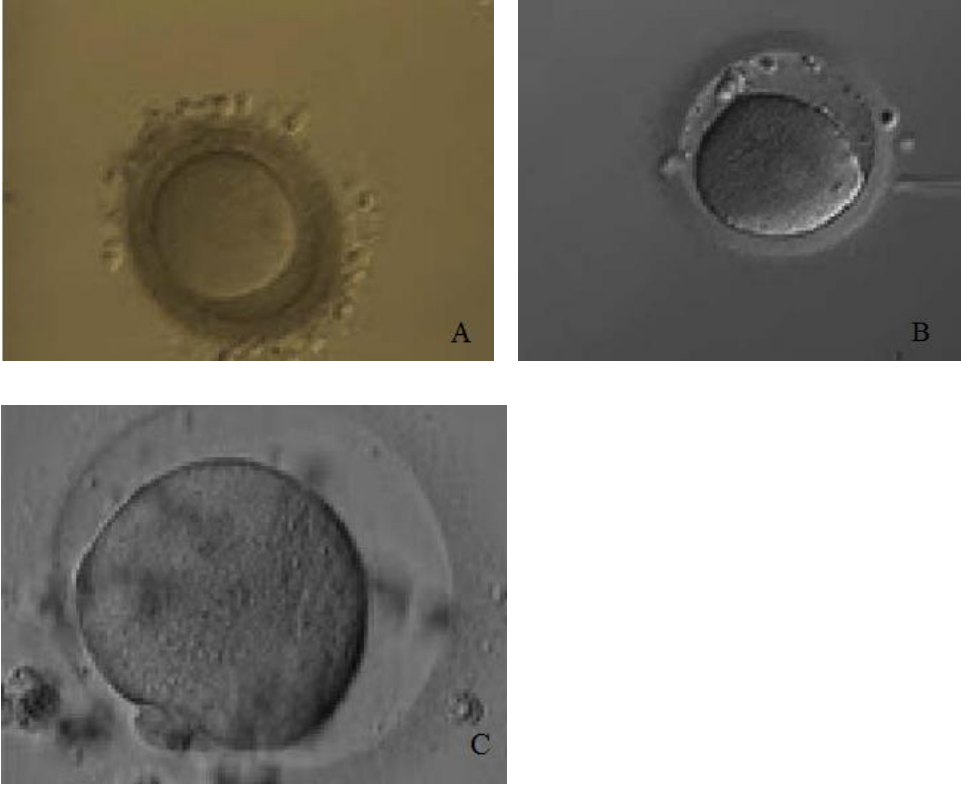
Resim 3. A. Oval, intakt görünümlü normal polar cisimcik; B. Anormal büyüklükte polar cisimcik; C. Çok sayıda polar cisimcikler



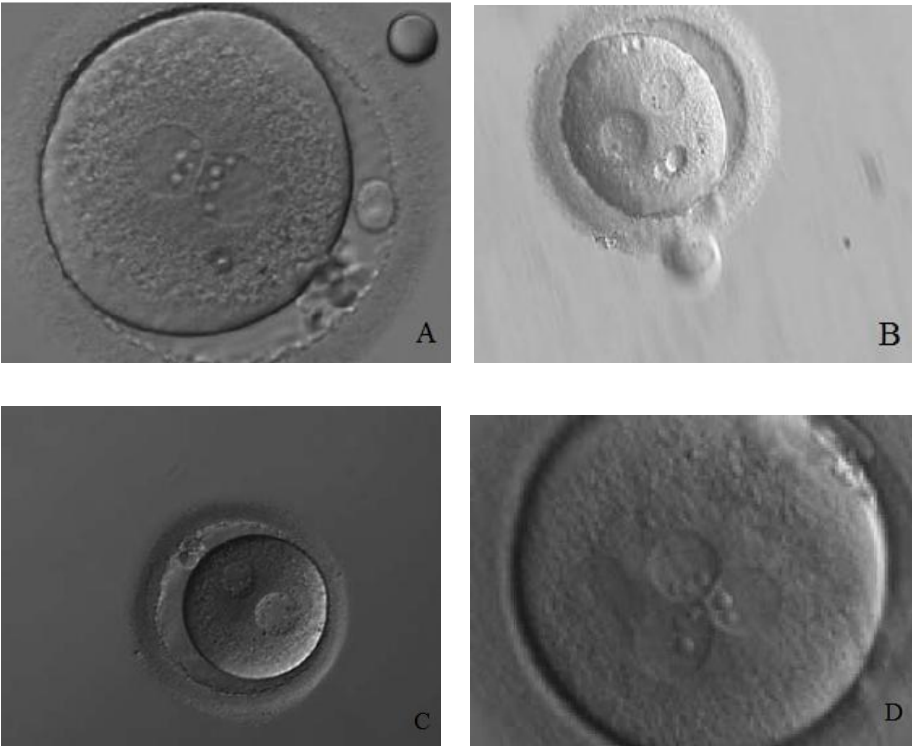
Resim 4. A. Koyu ve granüllü sitoplazmalı oosit; B. Kümelenmiş, çok sayıda vakuöl içeren sitoplazma



Resim 5. A. Koyu ve kalın zona pelusidalı anormal oosit; B. Perivitellin alanda granülasyonlar; C. Anormal geniş perivitellin aralık



Resim 6. A. Normal 2 pronükleus görüntülü fertilize oosit; B. Ayrışmış pronükleuslar; C. Farklı büyüklükte pronükleuslar; D. Çoklu pronükleuslu anormal fertilize oosit



Tablo 5. Oosit matürasyonun çevre hücrelerle birlikte değerlendirilmesi

<p>Grade 1 (matür): Yaygın kümülüs hücreleri, ışınsal biçimde yerleşmiş korona radiata, belirgin zona pelusida, şeffaf sitoplazma, yaygın granüloza hücreleri</p> <p>Grade 2: Geniş kümülüs hücreleri, hafifçe kompakt korona radiata ve geniş granüloza hücreleri</p> <p>Grade 3 (immatür): Koyu ve kompakt kümülüs hücreleri, sıkıca bir araya gelmiş korona hücreleri, ooplazmada germinal vezikül ve ooplazma kompakt, dağılmamış granüloza hücreleri</p> <p>Grade 4 (postmatür) : Kümeler oluşturan kümülüs hücreleri, kümeleşmiş ışınsal dağılımlı korona hücreleri, irregüler zona pelusida, koyu ve granüler sitoplazma, küçük alana yayılmış granüloza hücreleri</p> <p>Grade 5 (atretik) : Çok az kümülüs hücreleri, irregüler dağılmış korona radiata hücreleri, belirgin zona pelusida, koyu ooplazma, küçük gruplar halinde granüloza hücreleri</p>

Tablo 6. Oosit morfolojisinin 1.polar cisimciğe göre sınıflandırılması

<p>Grade 1: 1.polar cisimcik yuvarlak veya oval, intaktır</p> <p>Grade 2: 1.polar cisimcik yuvarlak veya oval, yüzeyi düzensizdir</p> <p>Grade 3: 1.polar cisimcik ikiden fazla fragman içerir</p> <p>Grade 4: 1.polar cisimcik ikiye bölünmüştür</p> <p>Grade 5: Geniş perivitellin aralıkta büyük bir adet 1.polar cisimcik vardır</p>

Oositlerin matürasyon ve morfolojik değerlendirilmeleri Nomarski optikleri eklenmiş inverted mikroskopta 200 büyütmede yapılır. Genelde sadece metafaz II'ye (MII) ulaşan oositler işleme dahil edilir. Matür oositlerde germinal vezikül (profaz I) kaybolmuştur, birinci

polar cisimcik perivitellin aralıktadır. Genelde elde edilen oositlerin yaklaşık %10-20'si mayoz bölünmeyi tamamlamamıştır. İmmatür oositler mayoz başlamamış ve tipik nükleer yapıya sahip germinal veziküller (GV) ve mayoz başlamasına rağmen metafaz I'de (MI) duraksayanlardır. MI oositlerde germinal vezikül kaybolmuş, fakat 1.polar cisimcik atılmamıştır.

Oositin mayotik evrenmesi IVF/ICSI zamanlaması açısından oldukça önemlidir. MII oositlere 2-4 saat sonra IVF/ICSI yapılmalıdır. GV ve MI oositlerin pratikte işlem için uygun olmadığı kabul edilir. GV ve özellikle MI oositler 1.polar cisimcik atılana kadar inkübe edilebilirler. Bazı çalışmalarda MI oositlerin toplandıktan sonraki 20 saat içinde çoğunu mayozu tamamladığını göstermektedir. MI oositlerden elde edilen embriyo kalitesinin normalden çok farklı olmadığı, fakat gebelik açısından uygun olmadığı bilinir (34). Literatürde nadiren inkübasyona bırakılan ve matüritesini tamamlayan GV oositlerden işlem sonrası gebelik olduğunu bildiren çalışmalar vardır (35).

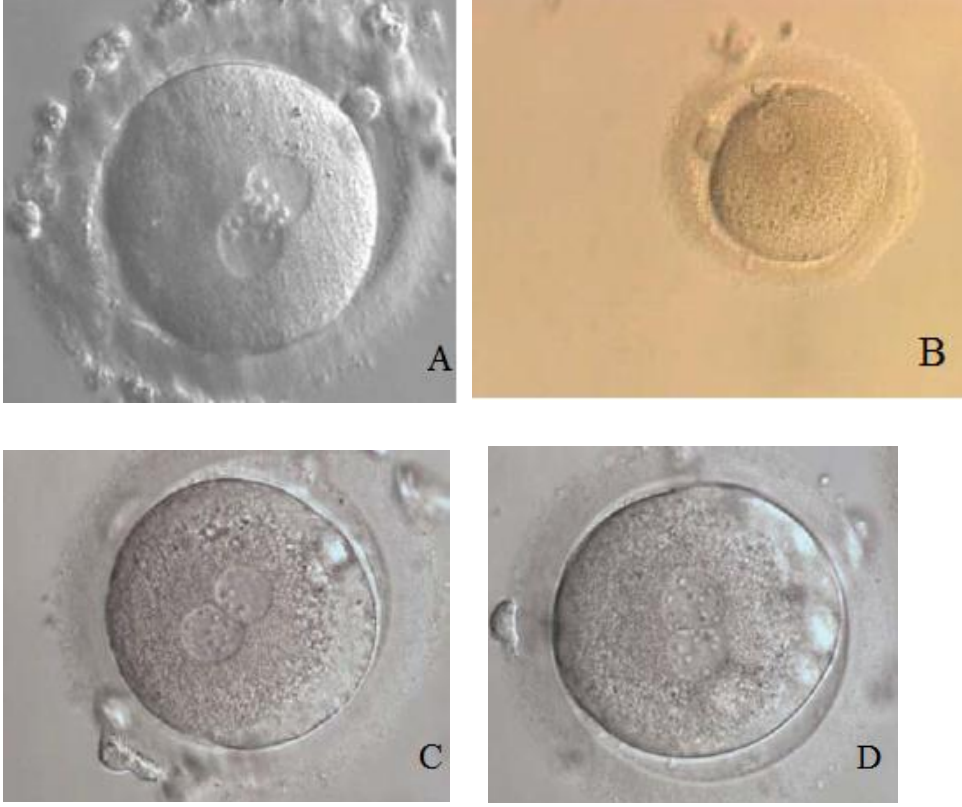
Koyu zona pelusida, geniş perivitellin aralık, perivitellin alandaki granülasyon ekstrasellüler anomali olarak kabul edilir. Literatürde ekstrasellüler anomalilerin fertilizasyon ve embriyo gelişimi üzerinde olumsuz etkisinin olduğunu gösteren çalışmaların yanı sıra, etkisinin olmadığı gösteren yayınlar da vardır (4,36). Bu anomaliler genelde overyan stimülasyon için yüksek dozda gonadotropin kullanıldığında karşımıza çıkar. Ekstrasellüler anomali gösteren oositlerde ICSI sonrası dejenrasyon oranının arttığı bilinmektedir.

İntrasellüler anomaliler merkezi koyu ve granüllü sitoplazma, refraktil cisimcikler, ayrı ayrı veya kümeleşmiş vaküollerdir. Oositlerde sitoplazma anomalilerinin tek tek bulunması değil, bir arada bulunması embriyo, gebelik ve implantasyon oranlarını düşürür. Oosit kalitesi ve gelişim kapasitesi hakkında bilgi verici bir başka parametre sitoplazma viskozitesidir. Viskozitesi artmış sitoplazmalı oositlerde gebelik ve implantasyon oranı düşüktür (37,38).

1.4.2. Fertilize oositin değerlendirilmesi

Fertilize oosit fertilizasyondan 16-18 saat sonra pronükleus ve nükleolüs incelenmesi ile değerlendirilir. Pronükleus fertilizasyonun ilk belirtisidir. Her iki pronükleusun aynı zamanda oluşması ve bir arada bulunması gerekir. Anormal fertilizasyon iki pronükleus ve iki polar cisimciğinin oluşumu dışındaki tüm fertilizasyon tiplerini kapsar. Bazen tek pronükleus

Resim 7. A. Normal yerleşmiş ve normal sayıda nükleolus görünümü; B. Pronükleuslar arasında eşit dağılmamış nükleoluslar; C. Normal dağılım göstermemiş nükleoluslar; D. İğne ucu gibi küçük anormal nükleoluslar



Resim 8. Sitoplazmasında halo bulunan iyi kalite oosit



gözlenen oositler ileriki saatlerde çift pronükleus görülebilir. Buna geç fertilizasyon denir, bu zigotların implantasyon potansiyelleri çok düşüktür.

Fertilizasyon sonrasında pronükleusların bir araya gelmesindeki yetersizlik mikrotübül yapısındaki anomalilerle ilişkili olabilir ve bu oositlerden nadiren kaliteli embriyo gelişir. Pronükleuslar yaklaşık aynı büyüklükte olmalıdır. Farklı büyüklükte pronükleus içeren oositlerde büyük oranda kromozomal bozukluklar izlenmiştir (39). Pronükleusun oosit içerisinde yerleşimi değerlendirmede dikkate alınmalıdır. Pronükleus fertilize oosit içerisinde merkezi konumda veya 2.polar cisimciği içeren hemisferde olmalıdır (40). Özetle bir araya gelmemiş, 2.polar cisimciği içeren hemisferde bulunmayan, birbirinden farklı büyüklüğe olan, parçalanmış, çok küçük pronükleuslar içeren fertilize oositler transfer edilmemelidir.

Nükleolüsler kontrast optikleri olan inverted mikroskopla yüksek büyütmede incelenir. Değerlendirmede nükleolüslerin büyüklüğüne, sayısına ve dağılımına bakılır. Bir pronükleusta 3-7 nükleolüs olması beklenir. Çok küçük nükleolüs içeren oositlerden kaliteli embriyo elde edilme oranının düşük olduğu gösterilmiştir. Nükleolüslerin sayı olarak dağılımı pronükleuslar arasında eşit değilse, oositin gelişme ihtimali düşüktür. Pronükleus birleşiminde sıralanmış, nükleolüslerin polarize dağılımı istenen bir görüntüdür. Bu embriyonun metabolik durumu ve yeni genom oluşturabilme yeteneği ile alakalıdır (41). Özetle, pronükleus başına 3-7 nükleolüs içeren, pronükleuslar içerisinde eşit sayı ve büyüklüğe sahip, pronükleus birleşiminde sıralanmış nükleolüsler içeren fertilize oositler kaliteli kabul edilir.

Fertilize oositin değerlendirilmesinde sitoplazmanın incelenmesi de önemlidir. Oosit etrafında halo bulunması iyi oosit kalitesi ile ilişkilidir. Sitoplazmada mitokondri metabolik aktivitenin en yüksek olduğu pronükleus etrafında toplanmalıdır. Mitokondrinin pronükleus etrafına doğru hareketinin olmadığı durumlarda oositte metabolik bozukluk olduğu düşünülür (42,43).

1.4.3. Transfer edilecek embriyonun değerlendirilmesi

Embriyoların derecelendirilmesinde blastomer sayısı, bölünme hızı, blastomerlerin sitoplazmik şekil ve büyüklüğü, fragmentasyon varlığı ve dağılımı dikkate alınır. Bazı araştırmalarda bu kriterlere perivitellin aralık ve zona pellusidanın özellikleri de eklenir.

Grade I embriyolar 2.günde 4, 3.günde 8 blastomerli olup, blastomerler eşit büyüklükte, yuvarlak ve şeffaf sitoplazma içerir, fragmentasyon içermezler. Grade II embriyolarda blastomer sayısı bir miktar farklı olabilir, fragmentasyon oranı ise %10'dan azdır. Grade III embriyolarda blastomer farklılıkları artmıştır ve fragmentasyon %20'nin üzerindedir. Grade IV embriyolarda blastomer sayı, şekil ve büyüklükleri birbirinden farklı,

fragmantasyon oranı %50'den fazla ve blastomer sitoplazmaları koyu, heterojen görünümde (44).

Embriyo değerlendirilirken blastomer sayısının 2'nin katları şeklinde artması normal embriyo gelişimini gösterir. Tek sayıda blastomer içeren ve blastomerlerden biri diğerlerinden büyük olan embriyolarda, blastomerin henüz bölünmediği veya mitotik aktivitesinin yetersiz olduğu düşünülür. Asenkronize embriyo olarak tanımlanan, tek sayıda blastomer içeren embriyoların gelecekte duraksayabileceği dikkate alınarak transfer edilmelidir (6). Gardner tarafından hazırlanan blastokist skorlaması blastokistlerin genişleme durumuna, iç hücre kitlesi ile trofoektoderm hücrelerinin bütünlüğüne dayanır. Kompakt iç hücre kitlesi, yapışık hücrelerden oluşmuş trofoektoderm epitel, genişlemiş blastosöl iyi embriyo kalitesi ile ilişkilidir (45). Gardner tarafından önerilen blastokist skorlaması Tablo 7 ve 8'de özetlenmiştir.

Tablo 7. İç hücre kitlesi ve trofoektoderme göre blastokist skorlaması

	İç hücre kitlesi skoru	Trofoektoderm skoru
A	Sıkı paketlemiş, çok sayıda hücre	Çok hücreden oluşan sıkı yapışık epitel
B	Gevşek gruplar halinde birkaç hücre	Birkaç hücreden oluşan gevşek epitel
C	Çok az sayıda hücre	Çok az sayıda büyük hücreler

Tablo 8. Blastokistlerin genişleme durumuna göre skorlama

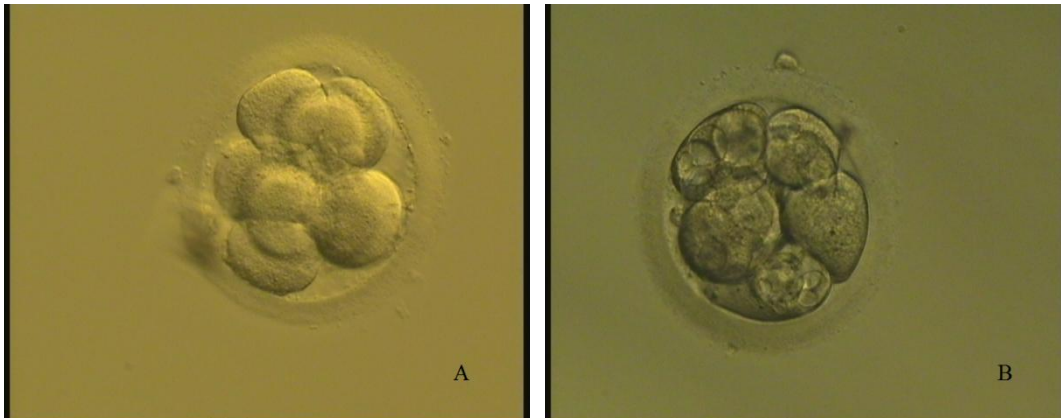
1	Erken blastokist: blastosöl embriyo hacminin yarısından azını doldurmakta
2	Blastokist: blastosöl embriyo hacminin yarısını doldurmakta
3	Tam blastokist: blastosöl embriyo hacminin tamamını doldurmakta
4	Genişlemiş blastokist: volümü erken embriyodan daha büyük, incelmış zona

Ayrıca blastokist değerlendirilirken morfolojik özelliklerin yanı sıra, blastokistin bu duruma dönüşme süresi kritik faktördür. Ey iyi blastokistler 5.güne kadar gelişmiş olanlardır. Embriyo transferi genellikle fertilizasyonun 2. ve 3. günlerinde yapılır. Embriyo kültürlerinde kullanılan medyumların gelişimi ile transfer 5. ve 6.günlerde de gerçekleştirilebilir. Literatürde transfer günlerini karşılaştıran birçok çalışma mevcuttur ve çoğu merkezde blastokist transferi tercih edilmektedir (46). İnseminasyondan itibaren embriyo değerlendirme planı Tablo 9'da özetlemiştir.

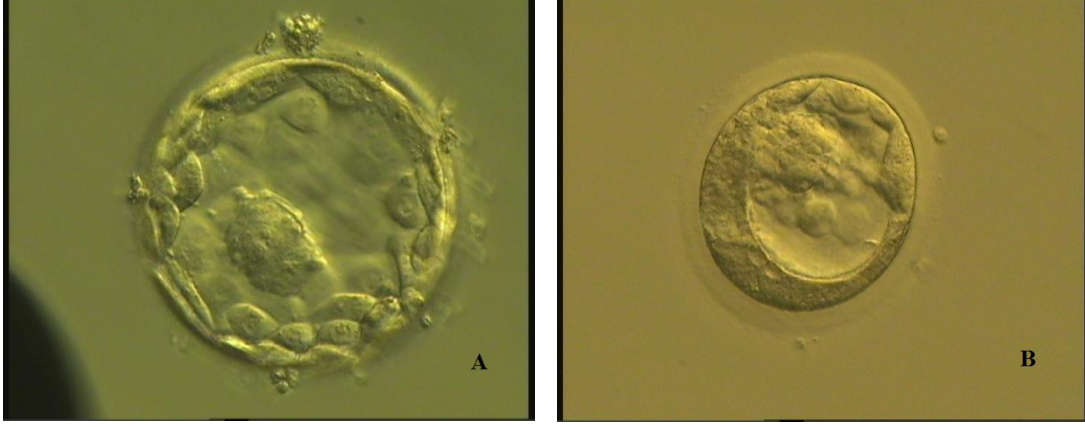
Tablo 9. Embriyo değerlendirme planı

➤ İnseminasyon sonrası 18-19.saat
Pronüeuslar arası simetri
Pronükleuslarda eşit sayıda nükleolus
Polar cisimciklerin konumu
➤ İnseminasyon sonrası 25-26.saat
2 hücreli evreye geçmiş embriyo
Nükleer membran yıkımı gerçekleşmiş
➤ İnseminasyon sonrası 42-44.saat
Blastomer sayısı 4 veya daha fazla
%20'den az fragmantasyon
Multinükleuslu blastomerin olmaması
➤ İnseminasyon sonrası 66-68.saat
Blastomer sayısı 8 veya daha fazla
%20'den az fragmantasyon
Multinükleuslu blastomerin olmaması
➤ İnseminasyon sonrası 106-108.saat
Blastosöl kavitesi tam gelişmiş
İç hücre kitlesi hücreleri çok sayıda ve sıkıca paketlenmiş
Trofoektoderm hücreleri çok sayıda birbirine yapışık

Resim 9. A. 8 blastomerli, blastomerlerin sitoplazmik şekil ve büyüklüğü eşit, zona pelusidası normal, %5'den az fragmantasyonlu iyi kalitede embriyo; B. 6-8 hücreli, yaygın vakuol içeren, blastomerin sitoplazmik şekil ve büyüklüğü eşit olmayan kötü kaliteli embriyo



Resim 10. A. Sıkı paketlemiş, çok sayıda hücreli iç hücre kitleli, çok hücreden oluşan sıkı yapışık trofoektoderimli, blastosölü embriyo hacminin yarısından azını dolduran iyi kalite embriyo; B. İç hücre kitlesi sıkı paketlenmemiş, trofoektodermi gevşek bağlanmış, az sayıda hücre içeren kötü kaliteli embriyo



(Not: Tezde kullanılan resimler M. Cristina Magli, Gayle M. Jones Atlas of Human Embryology 2012 baskısında ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tüp Bebek Laboratuvar kayıtlarından alınmıştır)

8. MATERYAL METOD

Ocak 2011-Kasım 2014 tarihleri arasında İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinin Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezinde IVF/ICSI yapılan 715 hasta çalışmamıza dahil edildi. Çalışmamız retrospektif şekilde yürütüldü. Hasta dosyalarından kadın yaşı, erkek yaşı, infertilite süresi, infertilite şekli, vücut kütlesi ve boyu ile ilgili bilgiler tarandı. Hastaların mevcut sistemik ve endokrin hastalıklarının olmaması, bilateral over varlığı, Müllerian anomali olmaması ve dondurulmuş spermatozoa, oosit ve embriyo kullanılmış olmaması çalışmaya alınma kriterlerindendi. Hastaların herhangi ek ilaç kullanmamaları da çalışmaya alınma kriterlerindendi. Tüm hastaların dosyalarında bilgilendirilmiş onam formu mevcuttu. Hastaların boy ve kilo ölçümleri kullanılarak Vücut Kütle İndeksi(VKİ) [Vücut ağırlığı (kg) / boy (m²)] formülü ile hesaplandı.

Hastaların dosyalarından AMH (Anti-Müllerian Hormon), FSH, HCG enjeksiyon günü E2 (Östradiol) değerleri ve AFS (Antral Follikül Sayısı) tarandı. AMH ve FSH ölçümü için alınan venöz kan örneklerinin menstrüel sikluslarının 3. günü ön koldan sabah saat 08.00 ile 09.00 arasında, 12 saatlik açlığı takiben alınmış olmasına dikkat edildi. Ultrasonografik antral follikül sayımı mensturasyonun 3. gününde yapıldı. Hastalar litotomi pozisyonunda transvajinal olarak AFS sayılarak kaydedildi.

Serum FSH ve E2 düzeyleri elektrokemilüminesans yöntemi ile ölçüldü (ELECYS 2010 HITACHI, Roche Diagnostic, Almanya). AMH değerleri ELISA kiti ile ölçüldü (AMH Gen II ELISA, Beckman Coulter, Webster, ABD).

Hastalar uygun değerlendirme sonucunda 3 ayrı tedavi protokolüne (GnRH agonist uzun, GnRH agonist kısa ve GnRH antagonist) başlandı. Tedavide üriner gonadotropin (Menogon, Ferring) veya rekombinant gonadotropin (Gonal-F,Merck-Serono veya Puregon, Shering-Plough) kullanıldı. Tedavide kullanılan toplam gonadotropin dozu dosyadan hesaplanarak kaydedildi.

GnRH agonist uzun protokolünde hastalara önceki siklusun 21. gününde subkütan 1 mg/gün dozunda Leuprolide asetat (Lucrin, Abbott) başlandı. Siklusun 3. gününde ise muayene edilen hastanın tedavisine üriner veya rekombinant gonadotropin tedavisi eklendi ve Leuprolide asetat dozu 0,5 mg/ml yapılarak HCG gününe dek tedaviye devam edildi. Önde giden folikül 18 mm'den büyük olduğunda oosit toplama işlemi planlandı. Oosit toplamadan

36 saat önce olmak üzere subkütan veya intramüsküler HCG (Pregnyl veya Ovitrelle) yapıldı.

GnRH agonist kısa protokolünde uzun protokolden farklı olarak siklusun 1. gününde subkütan 1 mg/gün dozunda Leuprolide başlandı ve uzun protokoldeki gibi devam edildi.

GnRH antagonsit protokolünde siklusun 3. Günü gonadotropin tedavisine başlanan hastalarda önde giden folikül 14 mm'ye ulaştığında GnRH antagonisti cetrorelix veya ganirelix (Cetrotide, Serono veya Orgalutran, Merck Sharp) subkütan 0,25 mg/gün başlanılır. HCG uygulanacak güne kadar GnRH antagonisti tedavisine devam edilir.

HCG enjeksiyonundan 36 saat sonra oosit aspirasyonu gerçekleştirildi. Litotomi pozisyonunda transvajinal ultrason eşliğinde 17 gauge iğne ile uygun vakum basıncında (150-200 mmHg) aspirasyon yapıldı. Elde edilen aspirasyon sıvısı, yıkama mediumu olarak G-Mops (Vitrolife) ile petri kabında stereo mikroskop altına incelenerek oositler arandı. Oositler yaklaşık 1 saat 37°C, %5 CO₂ içeren ve %90 nem ortamı sağlayan inkübatörde (Heraeus BB240, Almanya) bekletildi.

Oosit toplama işleminden sonra oositleri değerlendirmek ve mikroenjeksiyon işlemi sırasında uygun pozisyonda tutulabilmek için hyalüronidaz enzimi (Hyase 10X, Vitrolife) kullanıldı. Hyase-10X'e önceden ısıtılan 900 µl G-Mops eklendi. Oositler hyalüronidaz enzimi içinde en fazla 30 saniye pipete alınıp verilerek etrafındaki kümülüs hücrelerinin bir kısmı temizlendi. İşlem sonrası oositlerin olgun olup olmadıkları inverted mikroskopta 40 büyütmede incelendi. Polar cisimciği olan ve ooplazması düzgün olan oositler MII oosit olarak değerlendirildi. Polar cisimciği olmayan ve ooplazması düzgün olan MI olan oositler 4-8 saat gözlem sonrası polar cisimciği atıkları durumda işleme dahil edildiler.

IVF/ICSI'den 16-20 saat sonra inverted mikroskopta pronukleus sayısı, pozisyonu ve boyutu, polar cisimcik sayısına bakıldı. Oositlerin sitoplazmasında 2 pronukleus ve 2 polar cisimcik görülmesi fertilizasyon bulgusu olarak değerlendirildi.

Embriyo kalitesi değerlendirilirken aşağıdaki skora sistemi kullanıldı. Blastomerleri eşit büyüklükte, fragmentasyon oranı %20'den az olan ve blastomerlerde multinükleasyon olmayan embriyolar grade 1, blastomerleri eşit büyüklükte, fragmentasyon oranı %20'den fazla olan embriyolar grade 2, blastomerleri eşit büyüklükte olmayan, fragmentasyon oranı %50'den fazla olan embriyolar grade 3, blastomer büyüklüğü, sayısı ve fragmentasyon oranı ayırt edilemeyen embriyolar grade 4 embriyo olarak seçildi.

Hastanın yaşı, daha önceki deneme sayısı, embriyoların kalitesi dikkate alınarak en iyi embriyo veya embriyolar fertilizasyonun 3-5 günlerinde transfer edildi. Transfer işlemi 1 gün önce hazırlanan albumin ilaveli G2 transfer mediumunda (Vitrolife) Set TDT (Prodimed) kateter kullanılarak tek seferde yapıldı.

Transferden 12 gün sonra β -hCG bakıldı, pozitif ise 2 gün sonra katlanarak artışı olduğunda hastanın gebe olduğu kabul edildi.

İstatistiksel analizler SPSS for Windows 20 yazılımı kullanılarak yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel ve analitik yöntemlerle Kolmogorov-Smirnov testi ve Shapiro Wilk testi kullanılarak incelendi. Tanımlayıcı analiz normal dağılan değişkenler için ortalama ve standart sapmalar kullanılarak verildi. Çalışmada bağımsız gruplar için t-testi, Ki-kare testi, Pearson ve Spearman korelasyon analizleri yapıldı. P değerinin 0,05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı olarak tespit edildi.

9.BULGULAR

Çalışmamıza dahil edilen 715 hastanın demografik ve hormonal özellikleri Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. Hastaların demografik ve hormonal özellikleri

Kadın yaşı	33,2±5,19
Erkek yaşı	36,2±5,9
İnfertilite süresi	6,6±4,3
VKİ	26,2±9,46
AMH	3,6±4,46
FSH	6,91±3,5
HCG günü E2	1781±1206
AFS	9,53±5,18

Transfer edilen embriyolar kalitesine göre derecelendirilerek demografik ve muayene parametreleri ile karşılaştırıldı. Bağımsız gruplar için t-testi kullanıldı. Elde edilen bulgular Tablo 11'de gösterilmiştir.

Tablo 11. Transfer edilen embriyo grade ile muayene parametrelerinin karşılaştırılması

	Grade 1	Grade 2	Grade 3	p
Kadın yaşı	33,03±4,9	34,01±4,71	33,46±5,93	0,125
Erkek yaşı	36,07±5,6	37,21±5,87	36,45±6,43	0,148
VKİ	25,98±4,52	27,12±18,19	24,98±4,54	0,351
AFS	10,43±5,39	9,11±5,12	8,44±4,35	0,006*
HCG günü FS	12,16±6,67	11,36±6,82	10,06±6,48	0,059
İnfertilite süre	6,89±4,1	7,11±4,62	5,95±3,75	0,174

Siklusun 3.günü sayılan AFS embriyo gradeleri arasında anlamlı farklı bulundu (p=0,006). Diğer parametreler istatistiksel açıdan anlamlı değildi.

Hormonal parametreler ile transfer edilen embriyo gradeleri karşılaştırıldı. Elde edilen bulgular Tablo 12'de gösterilmiştir.

Tablo 12. Transfer edilen embriyonun grade ile hormonal parametrelerin karşılaştırılması

	Grade 1	Grade 2	Grade 3	p
AMH	4,12±4,79	3,82±3,88	2,97±4,28	0,05*
FSH	6,94±3,27	6,84±3,44	6,71±2,84	0,855
HCG günü E2	1850±1205	1805±1243	1589±1243	0,835

Grade 1 embriyo grubunu AMH düzeyleri Grade 2 grubundan anlamlı yüksek bulundu ($p=0,05$). FSH ve HCG günü bakılan E2 düzeyleri ile embriyo kalitesi açısından anlamlı farklı değildiler.

Pearson korelasyon testi kullanılarak AMH, siklusun 3.günü ölçülen FSH, HCG günü ölçülen E2 ile toplam elde edilen oosit, toplam MII oosit, iki pronükleuslu zigot ve toplam embriyo sayıları arasında korelasyona bakıldı. Tablo 13, 14, 15'te bulgular gösterilmiştir.

Tablo 13. AMH düzeyi ile total oosit sayısı, total MII oosit, PN2 zigot ve transfer günü total embriyo sayısı arasındaki korelasyon katsayıları (r) ve önemlilik düzeyleri (p)

	r	p
Total oosit	0,39	0,001*
MII oosit	0,358	0,001*
PN2 zigot	0,267	0,001*
Total emriyo	0,288	0,001*

Tablo 14. Adetin 3. günü FSH düzeyi ile total oosit sayısı, total M2 oosit, PN2 zigot ve transfer günü total embriyo sayısı arasındaki korelasyon katsayıları (r) ve önemlilik düzeyleri (p)

	r	p
Total oosit	-0,294	0,001*
MII oosit	-0,223	0,001*
PN2 zigot	-0,263	0,001*
Total emriyo	-0,26	0,001*

Tablo 15. HCG günü E2 düzeyi ile total oosit sayısı, total M2 oosit, PN2 zigot ve transfer günü total embriyo sayısı arasındaki korelasyon katsayıları (r) ve önemlilik düzeyleri (p)

	r	p
Total oosit	0,541	0,001*
M2 oosit	0,381	0,001*
PN2 zigot	0,247	0,001*
Total embriyo	0,35	0,001*

AMH ve HCG günü ölçülen E2 toplam elde edilen oosit, toplam MII oosit, iki pronükleuslu zigot ve toplam embriyo sayıları ile doğru korele, siklusun 3.günü ölçülen FSH ters korele olduğu bulundu. Özellikle AMH ile toplam elde edilen oosit arasında ($r=0,39$) ve HCG günü ölçülen E2 ile toplam elde edilen oosit arasında ($r=0,541$) kuvvetli korelasyon saptandı.

Hastalar gebelik oluşan ($n=137$) ve gebelik oluşmayan ($n=599$) olarak iki gruba ayrıldı. Bu iki grubun muayene parametreleri Tablo 16'da gösterilmektedir.

Tablo 16. Gebe olan ve olmayan grupların muayene parametrelerinin karşılaştırılması

	Gebelik var	Gebelik yok	p
Kadın yaşı	31,76±4,44	33,53±5,18	0,001*
Erkek yaşı	34,82±5,03	36,58±5,92	0,012*
İnfertilite süresi	6,33±3,68	6,64±4,29	0,707
VKİ	26,26±4,76	26,19±10,96	0,956
AFS	11,5±5,84	9,09±4,76	0,001*
HCG günü FS	13,73±7,21	10,93±6,28	0,001*

Gebelik oluşmayan grupta kadın yaşı ve erkek yaşı gebelik oluşana göre anlamlı yüksekti (sırası ile $p=0,001$; $p=0,012$). Gebe olan grupta AFS ve HSG günü FS gebe olmayana göre anlamlı yüksekti (sırası ile $p=0,001$; $p=0,001$).

Gebelik oluşan ve gebelik oluşmayan grupların hormonal parametreleri karşılaştırıldı. Bulgular Tablo 17'de gösterilmiştir.

Tablo 17. Gebe olan ve olmayan grupların hormonal parametrelerinin karşılaştırılması

	Gebelik var	Gebelik yok	p
AMH	4,72±5,63	3,36±3,97	0,01*
FSH	6,51±2,94	6,93±3,31	0,49*
E2	1968±1086	1763±1258	0,189

Gebelik oluşan grupta AMH düzeyi oluşmayana göre yüksek saptandı (p=0,01). Siklusun 3.günü ölçülen FSH düzeyi gebelik oluşmayanda yüksekti (p=0,49). HCG günü ölçülen E2 düzeyi gruplar arasında farklı değildi.

Ki-kare testi kullanılarak gebelik oluşan ve oluşmayan gruplara uygulanan tedavi protokolleri, kullanılan gonadotropin çeşitleri, bağımsız değişkenler t-testi kullanılarak gonadotropin kullanım süresi ve dozu karşılaştırıldı. Bulgular Tablo 18, 19 ve 20'de gösterilmiştir.

Tablo 18. Gebe olan ve olmayan grupların tedavi protokollerinin karşılaştırılması

	Uzun agonist	Kısa agonist	Antagonist
Gebelik var	84 (%54,9)	19(%12,4)	42(%27,5)
Gebelik yok	270(%46,6)	110(%19)	180(%31)

(p=0,109) Not: 10 hastanın sonucu teste dahil edilemedi

İki grup arasında kullanılan tedavi protokolleri açısından fark bulunamadı.

Tablo 19. Gebe olan ve olmayan grupların tedavisinde kullanılan ilaçların karşılaştırılması

	Rekombinant gonadotropin	Üriner gonadotropin
Gebelik var	113(%75,3)	37(%24,7)
Gebelik yok	426(%75,4)	139(%24,6)

(p=0,987)

Kullanılan gonadotropin çeşidinin üriner veya rekombinant olmasının gebelik açısından önemli olmadığı görüldü.

Tablo 20. Gebe olan ve olmayan grupların kullanılan ilaç dozu ve süresi açısından karşılaştırılması

	Gebelik var	Gebelik yok	p
Tedavi dozu	2459±1092	2615±1008	0,099
Tedavi süresi	9,78±1,9	9,25±1,7	0,003*

Tedavi dozu da iki grup arasında farklı değildi. Gonadotropin uygulanma süresi gebelik elde edilen grupta daha uzundu (p=0,003).

Kullanılan gonadotropin çeşidinin HCG günü follikül sayısı, elde edilen toplam oosit, toplam MII oosit, toplam PN2 zigot ve toplam embriyo sayısı ile karşılaştırıldı. Bulgular Tablo 21’de gösterilmiştir.

Tablo 21. Rekombinant ve üriner gonadotropin kullanan gruplarda elde edilen oosit ve embriyo sayı ve kalitesinin karşılaştırılması

	Rekombinant gonadotropin	Üriner gonadotropin	p
HCG günü folikül	11,54±6,72	10,52±6,56	0,77
Toplam oosit	7,41±4,73	6,75±4,81	0,112
Toplam MII oosit	5,5±3,32	5,67±5,37	0,633
Toplam PN2 zigot	4,04±2,71	3,74±2,47	0,207
Toplam embriyo	4,2±2,74	3,74±2,44	0,06

Rekombinant ve üriner gonadotropin kullanan gruplarda oosit ve embriyo sayısı ve kalitesi açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı.

10.TARTIŞMA

Literatürde hormonal parametrelerle IVF hastalarının sonuçlarını karşılaştıran birçok çalışma bulunmaktadır. Bazı çalışmalara göre anlamlı gözükse de, hormonal parametrelerin IVF sonuçlarını öngörmeye kullanışsız olduğunu gösteren çalışmalar da vardır.

Aydın ve ark. 50 IVF hastası ile yaptıkları çalışmada AMH cut off değeri 1,9 ng/dl olduğunda elde edilen toplam oosit, toplam MII oosit, toplam PN2 zigot ve toplam embriyo sayısı açısından anlamlı belirteç olduğunu gösterdiler. Aynı çalışmada siklusun 3.günü ölçülen FSH değerini de yukarıda bakılan parametreler açısından anlamlı buldular (47).

Lehmann ve ark. 637 IVF hastasında yürüttükleri AMH'nın toplam oosit sayısı, toplam embriyo sayısı ve oluşan gebelik açısından anlamlı belirteç olduğunu saptadılar. Çalışmalarında FSH'nın AMH ile korele olduğunu gösterdiler (48).

Lin ve ark. 83 IVF hastası ile yaptıkları çalışmada serum AMH değerinin gebe olan ve olmayan gruplar arasında anlamlı farklı bulmadılar. Aynı çalışmada folikül sıvısı AMH değeri gebelik olan grupta istatistiksel anlamlı yüksek bulundu. FSH, bazal E2 düzeyi, HCG günü ölçülen E2 düzeyi, elde edilen oosit sayısı, MII oosit, kaliteli embriyo sayısı açısından da gebelik olan ve olmayan gruplar arasında fark bulunmadı (49).

Xi ve ark. IVF yapılan 164 PCOS hasta ile yaptıkları çalışmada AMH düzeyleri ile FSH, siklusun 3.günü E2 düzeyi, elde edilen oosit sayısı, elde edilen embriyo sayısı, fertilizasyon oranı, implantasyon oranı ve klinik gebelik oranları ile doğrusal ilişki olduğunu gösterdi (50).

Lamazou ve ark. 342 IVF siklusu değerlendirmelerinde AMH %25 altı , %25-50 arası ve %75 üzeri olmak üzere 3 gruba ayrıldığında siklus iptal oranı, embriyo transfer oranı, klinik gebelik ve implantasyon oranları arasında anlamlı ilişki bulunmadı (51).

Andersen ve ark. 442 IVF hastasında yürüttükleri çalışmada AMH ve siklusun 3.günün FSH düzeyinin elde edilen oosit ve over yanıtı açısından önemli belirteç olduğu sonucuna varıldı (52).

Arabzadeh ve ark. yürüttükleri 26'sı PCOS'lu 68 IVF hastasındaki çalışmada elde edilen oosit, oosit matürasyon oranı, implantasyon oranı, embriyo kalitesi, klinik gebelik açısından değerlendirildi. AMH PCOS'lu olmayan hastalarda yukarıdaki parametreleri öngörmeye önemli belirteç olduğu bulundu (53).

Zhu ve ark. 2978 IVF siklusu ile yaptıkları çalışmada siklusun 3.günü FSH ve HCG günü progesteron düzeyinin öngörme gücü araştırıldı. Siklusun 3.günü FSH ve HCG günü progesteron düzeyinin elde edilen oosit sayısını, MII oosit sayısını, fertilizasyon oranlarını, kaliteli embriyo oranlarını, implantasyon ve gebelik oranlarını öngörmede kullanışlı belirteç olduğunu gösterdi (54).

Ebner ve ark. 141 ICSI olgusunda yaptıkları çalışmada AMH'nın düşük (<1.66 ng/ml) ve yüksek (>4.52 ng/ml) olduğu durumlarda elde edilen oositin (merkezinde koyu granülasyon ve düz endoplazmik retikulumda agregasyon) kötü kaliteli olacağı görüldü. FSH'nın IVF sonuçlarını öngörmede iyi belirteç olmadığı sonucuna varıldı (55).

Li ve ark. 1046 IVF siklusu ile yürüttükleri çalışmada AMH ve AFS uyumlu ve uyumsuz olan olguları ayırdılar. AMH ve AFS uyumlu olgularda bu belirteçlerin elde edilen oosit ve canlı doğum oranı açısından kullanışlı olduğunu saptadılar. AMH ve AFS uyumsuz olan olgularda ise elde edilen oosit ve canlı doğum oranı doğru öngörülemedi (56).

Şahmay ve ark. 40 yaş altı 189 IVF hastasında yürüttükleri çalışmada AMH, siklusun 3.gününün FSH ve E2, AFS ile gebelik oranları arasında anlamlı ilişki bulunmadı (57).

İrez ve ark. 209 IVF hastasında yaptıkları çalışmada hormonal parametreler ile elde edilen oosit, MII oosit oranı, iyi kaliteli embriyo ve gebelik oranları karşılaştırıldı. Hastaların AMH değerleri persantillerine göre 6 gruba ayrıldı ve embriyo kalitesi açısından (merkezi granülasyon, sitoplazmik granülasyon, oosit postmatüritesi, embriyo oranı, erken klivaj oranı ve iyi kaliteli embriyo transfer oranı) 5 grup birbirlerinde istatistiksel anlamlı farklı bulundu. Devam eden gebelik oranı AMH düşük grupta (<%10) en düşük, AMH yüksek grupta (%50-75) en yüksek idi (58).

Bizim çalışmamızda hormonal parametrelerden sadece AMH'nın Grade 1 embriyo olan grupta Grade 2 embriyo olan gruba göre anlamlı yüksek olduğu saptandı (p=0,05). Korelasyon analizi ile AMH ve HCG günü E2 düzeyleri ile elde edilen toplam oosit, toplam MII oosit, toplam PN2 zigot ve toplam embriyo sayısı ile doğru korele olduğu, FSH'nın ise ters korele olduğu görüldü. Bu veriler literatürdeki çalışmalara benzer şekilde özellikle AMH'nın elde edilecek oosit, embriyo kalitesi ve sayısı, klinik gebelik açısından önemli belirteç olduğunu bir daha vurgulamaktadır.

Üriner veya rekombinant gonadotropin kullanımını literatürde uzun süredir tartışma konusudur. Çoğu araştırma sonucu bu iki gonadotropin çeşidinin klinik gebelik, özellikle canlı doğum oranlarını değiştirmedeği yönünde olsa da, üriner gonadotropinlerin üstünlüğünü savunan az sayıda çalışma da bulunmaktadır.

Şahmay ve ark. 579 IVF hastasında yaptıkları çalışmada üriner ve rekombinant gonadotropinleri karşılaştırdılar. Üriner gonadotropin grubunda sayısal olarak gebelik oranlarının yüksek olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı değildi (59).

Zeke ve ark. 487 IVF hastasında yaptıkları çalışmada rekombinant gonadotropin kullanan grubun gebelik oranları üriner gonadotropin kullanan gruba göre anlamlı yüksek (%43'e karşılık %30; $p=0,02$) bulundu (60).

Liu ve ark. 508 IVF hastasında yaptıkları çalışmada hastaları 2 gruba ayırarak üriner ve rekombinant gonadotropinle tedavi ettiler ve elde edilen oosit sayısı, MII oosit oranı, PN2 zigot oranı, grade I embriyo oranı, gebelik oranına baktılar. Üriner gonadotropin kullanılan grupta PN2 zigot oranı (%87'ye karşılık %76; $p<0,001$) ve Grade 1 embriyo oranı (%49'a karşılık %40; $p<0,001$) yüksek bulundu. Gebelik oranları açısından ise 2 grup arasında fark saptanmadı (61).

Coomarasamy ve ark. 7 randomize çalışmayı içine alan meta analizlerinde 2159 IVF hastasında üriner ve rekombinant gonadotropinleri kıyasladılar. Üriner gonadotropin kullanılan hastalarda canlı doğum oranını yüksek (RR=1,18; $p=0,03$) buldular (62).

Baker ve ark. 152 IVF hastasında prospektif, çift kör olarak yürüttükleri çalışmada ortalama elde edilen oosit sayısı, gebelik oranı ve canlı doğum oranı açısından üriner ve rekombinant gonadotropin kullanan gruplar arasında fark saptanmadı (63).

Bizim çalışmamızda üriner ve rekombinant gonadotropin kullanan gruplar arasında gebelik oranları açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ($p=0,987$). HCG günü follikül sayısı ($p=0,77$), toplam elde edilen oosit ($p=0,112$), toplam MII oosit ($p=0,633$), toplam PN2 zigot ($p=0,207$) ve toplam embriyo ($p=0,069$ açısından 2 grup arasında anlamlı fark saptanmadı. Bu verilerin literatürdeki çoğu araştırmayı onaylayıcı nitelikte olduğu görüldü.

11.SONUÇ

1. AFS ile elde edilen embriyo kalitesi açısından istatistiksel anlamlı ilişki saptandı.
2. AMH ile elde edilen embriyo kalitesi açısından istatistiksel anlamlı ilişki saptandı. Sonuçlarımız mevcut hasta popülasyonuna göre bulunmuştur.
3. AMH, HCG günü ölçülen E2 ve FSH ile toplam elde edilen oosit, toplam MII oosit, iki pronükleuslu zigot ve toplam embriyo sayılarının arasında korelasyon olduğu görüldü.
4. AMH gebe olan grupta istatistiksel anlamlı yüksek bulundu.
5. FSH gebe olan grupta istatistiksel anlamlı düşük bulundu.
6. Gonadotropin türü, tedavi protokolü ve kullanılan gonadotropin dozu ile gebelik arasında ilişki bulunmadı.

12.KAYNAKLAR

1. Speroff L, Fritz M (2011) Lippincott Williams. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility, Chapter 27, Female Infertility, 1137
2. Faye S (2014) Anti-Müllerian hormone (AMH) and its significance in women's fertility. MLO Med Lab Obs 46:22-24
3. La Marca A, Sunkara SK (2014) Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice. Hum Reprod Update 20:124-40
4. Tarín JJ, Pellicer A (1992) Oocyte maturation in human in vitro fertilisation programmes. Ann Acad Med Singapore 21:492-7
5. Scott LA, Alvero R, Leondires M, Miller B (2000) The morphology of human pronuclear embryos is positively related to blastocyst development and implantation. Hum Reprod 15:2394-403
6. Gardner DK, Wale PL (2013) Analysis of metabolism to select viable human embryos for transfer. Fertil Steril 99:1062-72
7. Mosher WD, Pratt WF (1991) Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. Fertil Steril 56:192-193
8. London: Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. National Institute for Health and Clinical Excellence: Guidance (2013) Fertility: Assessment and Treatment for People with Fertility Problems.
9. Myers ER, McCrory DC et al. (2008) Effectiveness of assisted reproductive technology (ART). Evid Rep Technol Assess 167:1-195
10. Andersen AN, Devroey P, Arce JC (2006) Clinical outcome following stimulation with highly purified hMG or recombinant FSH in patients undergoing IVF: a randomized assessor-blind controlled trial. Hum Reprod 21:3217-27
11. Jose-Miller AB, Boyden JW, Frey KA (2007) Infertility. *American Family Physician*, 75:849–856
12. Dunson DB, Baird DD, Colombo B (2004) Increased infertility with age in men and women. Obstet Gynecol 103:51-6

13. Bolumar F, Olsen J, Boldsen J (1996) Smoking reduces fecundity: a European multicenter study on infertility and subfecundity. The European Study Group on Infertility and Subfecundity. *Am J Epidemiol* 143:578-87
14. Bützow TL, Lehtovirta M, Sieberg R, Hovatta O, Koistinen R, Seppälä M, Apter D (2000) The decrease in luteinizing hormone secretion in response to weight reduction is inversely related to the severity of insulin resistance in overweight women. *J Clin Endocrinol Metab* 85:3271-5
15. Morita Y, Tilly JL (1999) Oocyte apoptosis: like sand through an hourglass. *Dev Biol* 213:1–17
16. Navot D, Bergh RA et al. (1991) Poor oocyte quality rather than implantation failure as a cause of age-related decline in female fertility. *The Lancet* 337:1375-77
17. Bancsi LF, Broekmans FJM et al. (2002) Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertil Steril* 77:328-336
18. Abdalla H, Thum MY (2003) An elevated basal FSH reflects a quantitative rather than qualitative decline of the ovarian reserve. *Hum Reprod* 19:893-898
19. Hansen LM, Batzer FR, Gutmann JN, et al. (1997) Evaluating ovarian reserve: follicle stimulating hormone and oestradiol variability during cycle days 2-5. *Hum Reprod* 12:486-9
20. Khalaf Y, Taylor A et al. (2000) Low serum E2 concentrations after five days of controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization are associated with poor outcome. *Fertil Steril* 74:63–66
21. Aboulghar M Prediction of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) Estradiol level has an important role in the prediction of OHSS. *Hum Reprod* 18:1140-41
22. Vigier B, Forest M et al. (1989) Anti-Müllerian hormone produces endocrine sex-reversal of fetal ovaries. *Proc Natl Acad Sci* 56:3684-8
23. Visier JA, Themmen A (2005) Anti-Müllerian hormone and folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 234:81-86
24. Jayaprakasan K, Campbell B et al. (2010) A prospective, comparative analysis of anti-Müllerian hormone, inhibin-B, and three-dimensional ultrasound determinants of ovarian reserve in the prediction of poor response to controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril* 93:855-64

25. Deb S, Campbell BK et al. (2010) Quantitative analysis of antral follicle number and size: a comparison of two-dimensional and automated three-dimensional ultrasound techniques. *Ultrasound Obstet Gynecol* 35: 354–360
26. van Wely M, Westergaard LG et al. (2003) Effectiveness of human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle-stimulating hormone for controlled ovarian hyperstimulation in assisted reproductive cycles: a meta-analysis. *Fertil Steril* 80:1086-93
27. The International Recombinant Human Chorionic Gonadotropin Study Group (2001) Induction of ovulation in World Health Organization group II anovulatory women undergoing follicular stimulation with recombinant human follicle-stimulating hormone: a comparison of recombinant human chorionic gonadotropin (rhCG) and urinary hCG. *Fertil Steril* 75:1111-18
28. Out HJ, Driessen S et al. (1998) Recombinant Follicle-Stimulating Hormone (Follitropin Beta, Puregon) Yields Higher Pregnancy Rates in In Vitro Fertilization than Urinary Gonadotropins. *Fertil Steril* 69:40-44
29. Nelson S, Yates R et al. (2008) Anti-Müllerian hormone-based approach to controlled ovarian stimulation for assisted conception. *Hum Reprod* 24:867-75
30. Yanagida K (2004) Complete fertilization failure in ICSI. *Hum Cell* 17:187-88
31. Siu T, Chang T et al. (1999) Prediction of the rates of fertilization, cleavage, and pregnancy success by cumulus-coronal morphology in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril* 72:412-17
32. Rattanachaiyanont M, Leader A et al. (1999) Lack of correlation between oocyte- corona-cumulus complex morphology and nuclear maturity of oocytes collected in stimulated cycles for intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 71:937-40
33. Ebner T, Moser M et al. (1999) Elective transfer of embryos selected on the basis of first polar body morphology is associated with increased rates of implantation and pregnancy. *Fertil Steril* 72:599-603
34. Coetzee K, Windt ML (1996) Fertilization and pregnancy using metaphase I oocytes in an intracytoplasmic sperm injection program. *J Exp Clin Assist Reprod* 13:768-9

35. Nagy ZP, Cecile J, Liu J, Loccufier A, Devroey P, Van Steirteghem A (1996) Pregnancy and birth after intracytoplasmic sperm injection of in vitro matured germinal-vesicle stage oocytes: case report. *Fertil Steril* 65:1047-50
36. Magerkurth K, Töpfer-Petersen E et al. (1998) Scanning electron microscopy analysis of the human zona pellucida: influence of maturity and fertilization on morphology and sperm binding pattern. *Hum Reprod* 65:1047-50
37. Xia P (1997) Intracytoplasmic sperm injection: correlation of oocyte grade based on polar body, perivitelline space and cytoplasmic inclusions with fertilization rate and embryo quality. *Hum Reprod* 12:1750-55
38. Ebner T, Moser M et al. (2003) Developmental competence of oocytes showing increased cytoplasmic viscosity. *Hum Reprod* 18:1294-98
39. Salumets A, Hyden-Granskog C et al. (2001) The predictive value of pronuclear morphology of zygotes in the assessment of human embryo quality. *Hum Reprod* 16:2177-81
40. Stalf T, Herrero J et al. (2002) Influence of Polarization Effects in Ooplasm and Pronuclei on Embryo Quality and Implantation in an IVF Program. *J Assist Reprod Gen* 19:355-62
41. Lan KC, Huang FJ et al. (2003) The predictive value of using a combined Z-score and day 3 embryo morphology score in the assessment of embryo survival on day 5. *Hum Reprod* 18:1299-1306
42. Ebner T, Moser M et al. (2003) Presence, but not type or degree of extension, of a cytoplasmic halo has a significant influence on preimplantation development and implantation behaviour. *Hum Reprod* 18:2406-12
43. Wilding M, Dale B et al. (2001) Mitochondrial aggregation patterns and activity in human oocytes and preimplantation embryos. *Hum Reprod* 16:909-17
44. Bączkowski T, Kurzawa R, Głabowski W (2003) Methods of embryo scoring in in vitro fertilization. *Reprod Bio* 4:5-22
45. Gardner DK, Lane M et al. (2000) Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil Steril* 73:1155-58
46. Barrenetxea G et al. (2005) Blastocyst culture after repeated failure of cleavage-stage embryo transfers: A comparison of day 5 and day 6 transfers. *Fertil Steril* 83:49-53

47. Aydın GA, Yavuz A, Terzi H, Kutlu T (2015) Assessment of the relationship of basal serum anti-mullerian hormone levels with oocyte quality and pregnancy outcomes in patients undergoing ICSI. *Iran J Reprod Med* 13:231-6
48. Lehmann P, Vélez MP, Saumet J, Lapensée L, Jamal W, Bissonnette F, Phillips S, Kadoch IJ (2014) Anti-Müllerian hormone (AMH): a reliable biomarker of oocyte quality in IVF. *J Assist Reprod Genet* 31:493-8
49. Lin WQ, Yao LN, Zhang DX, Zhang W, Yang XJ, Yu R (2013) The predictive value of anti-Mullerian hormone on embryo quality, blastocyst development, and pregnancy rate following in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET). *J Assist Reprod Genet* 30:649-55
50. Xi W, Gong F, Lu G (2012) Correlation of serum Anti-Müllerian hormone concentrations on day 3 of the in vitro fertilization stimulation cycle with assisted reproduction outcome in polycystic ovary syndrome patients. *J Assist Reprod Genet* 29:397-402
51. Lamazou F, Genro V, Fuchs F, Grynberg M, Gallot V, Achour-Frydman N, Fanchin R, Frydman R (2011) Serum AMH level is not a predictive value for IVF in modified natural cycle: analysis of 342 cycles. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 40:205-10
52. Andersen AN, Witjes H, Gordon K, Mannaerts B (2011) Predictive factors of ovarian response and clinical outcome after IVF/ICSI following a rFSH/GnRH antagonist protocol with or without oral contraceptive pre-treatment. *Hum Reprod* 26:3413-2
53. Arabzadeh S, Hossein G, Rashidi BH, Hosseini MA, Zeraati H (2010) Comparing serum basal and follicular fluid levels of anti-Müllerian hormone as a predictor of in vitro fertilization outcomes in patients with and without polycystic ovary syndrome. *Ann Saudi Med* 30:442-7
54. Zhu H, Liu L, Yang L, Xue Y, Tong X, Jiang L, Zhang S (2014) The effect of progesterone level prior to oocyte retrieval on the numbers of oocytes retrieved and embryo quality in IVF treatment cycles: an analysis of 2,978 cycles. *J Assist Reprod Genet* 31:1183-7
55. Ebner T, Sommergruber M, Moser M, Shebl O, Schreier-Lechner E, Tews G (2006) Basal level of anti-Müllerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles. *Hum Reprod* 21:2022-6
56. Li HW, Lee VC, Lau EY, Yeung WS, Ho PC, Ng EH (2014) Ovarian response and cumulative live birth rate of women undergoing in-vitro fertilisation who had discordant anti-Mullerian hormone and antral follicle count measurements: a retrospective study. *PLoS One* 14;9:e108493

57. Sahmay S, Demirayak G, Guralp O, Ocal P, Senturk LM, Oral E, Irez T (2012) Serum anti-müllerian hormone, follicle stimulating hormone and antral follicle count measurement cannot predict pregnancy rates in IVF/ICSI cycles. *J Assist Reprod Genet* 29:589-95
58. Irez T, Ocal P, Guralp O, Cetin M, Aydogan B, Sahmay S (2011) Different serum anti-Müllerian hormone concentrations are associated with oocyte quality, embryo development parameters and IVF-ICSI outcomes. *Arch Gynecol Obstet* 284:1295-301
59. Sahmay S, Usta TA, Zebitay G, Senturk LM, Oral E, Ocal P, Idil M, Irez T (2011) Comparison of follitropin alfa and urinary gonadotropins in IVF cycles. *Minerva Ginecol* 66:341-6
60. Zeke J, Kanyó K, Zeke H, Cseh A, Vásárhelyi B, Szilágyi A, Konc J (2011) Pregnancy rates with recombinant versus urinary human chorionic gonadotropin in in vitro fertilization: an observational study. *ScientificWorldJournal* 11:1781-7
61. Liu X, Hao C, Wang J (2015) Efficacy of Highly Purified Urinary FSH versus Recombinant FSH in Chinese Women over 37 Years Undergoing Assisted Reproductive Techniques. *Int J Fertil Steril* 8:385-92
62. Coomarasamy A, Afnan M, Cheema D, van der Veen F, Bossuyt PM, van Wely M (2008) Urinary hMG versus recombinant FSH for controlled ovarian hyperstimulation following an agonist long down-regulation protocol in IVF or ICSI treatment: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 23:310-5
63. Baker VL, Fujimoto VY, Kettel LM, Adamson GD, Hoehler F, Jones CE, Soules MR (2009) Clinical efficacy of highly purified urinary FSH versus recombinant FSH in volunteers undergoing controlled ovarian stimulation for in vitro fertilization: a randomized, multicenter, investigator-blind trial. *Fertil Steril* 91:1005-11



YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ
ETİK KURUL BAŞKANLIĞI

Tarih; 4.9.2015

Sayın Cumhuriyet Kural ,

İstanbul yeni Yüzyıl Üniversitesi Etik kurulunun 04.09.2015 tarihinde yaptığı toplantı sonucunda " IVF uygulamalarında hormonal parametrelerin retrospektif olarak oosit ve embriyo gelişimi üzerine etkileri. " isimli yüksek lisans tez çalışmanız etik kurulumuzca UYGUN bulunmuştur.


Prof. Dr. Tülay İrez

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Etik Kurul Başkanı


Prof. Dr. Haluk İşeri

Üye


Prof. Dr. Yaşar Hacısalihoğulları

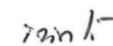
üye


Prof. Dr. Ayşegül Sarıkaya


üye

Prof. Dr. İmer Okar

Üye


Prof. Dr. Nazan Bergişadi

üye


Prof. Dr. Gül Baktır

üye


Prof. Dr. Mine Küçüker

üye



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

AD-SOYAD: Cumhur Kırıl

DOĞUM YERİ: Kahramanmaraş

TEL: 5334507491

E-MAİL: ck_kral@hormail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

LİSANS: Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2001-2005)

YÜKSEK LİSANS: Gazi Üniversitesi Eğitim Bilimleri Fakültesi (2006-2008)

İŞ DENEYİMİ

1. Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü. Bitki biyoteknolojisi (Biyolog) 2006-2008
2. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD ÜYTE merkezi (Biyolog) 2010- Halen çalışmakta

YABANCI DİL

İNGİLİZCE: İyi düzeyde