

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

İN VİTRO FERTİLİZASYON (IVF) OLGULARINDA SERUM
VE FOLLİKÜLER SIVIDA TOTAL OKSİDAN VE TOTAL
ANTIOKSİDAN SEVİYELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Emel KARAKAŞ ÖZTÜRK

Kadın Hastalıkları ve Doğum
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR
2015

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

İN VİTRO FERTİLİZASYON (IVF) OLGULARINDA SERUM
VE FOLLİKÜLER SIVIDA TOTAL OKSİDAN VE TOTAL
ANTIOKSİDAN SEVİYELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Emel KARAKAŞ ÖZTÜRK

Kadın Hastalıkları ve Doğum
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI
Prof.Dr. Hikmet HASSA

ESKİŞEHİR
2015

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA,

Dr.Emel Karakaş ÖZTÜRK 'e ait 'In Vitro Fertilizasyon (IVF) Olgularında Serum ve Folliküler Sıvıda Total Oksidan ve Total Antioksidan Seviyelerinin Değerlendirilmesi' adlı çalışma jürimiz tarafından Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı Prof.Dr. Hikmet HASSA
Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.

Üye Doç.Dr. Yunus AYDIN
Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.

Üye Yard.Doç.Dr. Beril YÜKSEL
Dumlupınar Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun .../.../... tarih
..... sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr.Enver İHTİYAR
Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren sayın hocalarım Prof. Dr. S. Sinan ÖZALP'e, Prof. Dr. A. Başar TEKİN'e, Prof. Dr. Ö. Tarık YALÇIN'a, Prof. Dr. H. Mete TANIR'a, Doç. Dr. Tufan ÖGE'ye, Doç. Dr. Yunus AYDIN'a, Yard.Doç.Dr.Melih VELİPAŞAOĞLU'na tez çalışmamı titizlikle takip eden ve sabırla çok büyük emek göstereren,yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım sayın Prof. Dr. Hikmet HASSA'ya ve Prof.Dr.Hikmet HASSA Üreme Sağlığı merkezinin tüm çalışanlarına ,kan ve serum örneklerimin çalışılmasında yardımlarını esirgemeyen Kütahya Evliya Çelebi Devlet Hastanesi Biyokimya Anabilimdalı'ndan Uzm.Dr.Özben Özden IŞIKLAR 'a ,tezimin tüm istatistiklerinin hazırlanmasında yardımcı olan Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Doç.Dr. Ertuğrul ÇOLAK'a çok teşekkür ederim.

ÖZET

Karakaş Öztürk, E. İn Vitro Fertilizasyon (IVF) olgularında serum ve folliküler sıvıda total oksidan ve total antioksidan seviyelerinin değerlendirilmesi.ESOGÜ Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2016. İnfertilite teşhisi konmuş hastaların İn Vitro Fertilizasyon (IVF) uygulamalarında serum ve folliküler sıvılarında total oksidan kapasite (TOS) ,total antioksidan kapasite (TAS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) değerlerinin oosit gelişimi,fertilizasyon, embriogenezis ve klinik gebelik üzerine etkilerini değerlendirmeyi amaçladık.Aralık 2014-Haziran 2015 tarihleri arasında kliniğimizde IVF protokolüne alınan 100 hastanın Gün-2, OPU günü, embriyo transferi anında alınan serumlarında ve OPU’da toplanan folliküler sıvılarında total oksidan kapasite (TOS) ,total antioksidan kapasite (TAS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) değerleri çalışıldı.Sonuç olarak ; 100 hastanın sosyodemografik özellikleri,sigara-alkol kullanımı ,medikal hastalık öyküsü ,ilaç kullanım öyküsü,kullanılan IVF protokolleri ile serumdaki ve folliküler sıvıdaki TAS,TOS ve OSI değerleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p<0.05$).Ayrıca serumdaki ve folliküler sıvıdaki TAS,TOS ve OSI değerleri ile elde edilen oosit sayısı,embriyo kalitesi ve klinik gebelik olup olmaması arasında da anlamlı bir fark saptanmadı ($p<0.05$).
Sonuç;Çalışma hipotezimizin daha güçlü sonuçları açısından daha fazla sayıda hasta popülasyonu ile çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler:IVF,Total Oksidan Kapasite,Total Antioksidan Kapasite,Serum

Folliküler sıvı,İnfertilite

ABSTRACT

Karakaş Öztürk, E. Assessment of serum and follicular fluid total oxidant and total antioxidant levels in In Vitro Fertilization (IVF) cases. Dissertation of Medical Specialization in Department of Gynecology and Obstetrics of School of Medicine of ESOGU, Eskişehir, 2016. We aimed to assess the effects of serum and follicular fluid total oxidant (TOS) levels, total antioxidant capacity (TAC), and oxidative stress index (OSI) on oocyte maturation, fertilization, embryogenesis, and clinical pregnancy in In Vitro Fertilization (IVF) applications of the patients diagnosed with infertility. For the 100 patients underwent into IVF protocol in our clinic between December 2014 to June 2015, we performed laboratory work-ups of total oxidant (TOS) levels, total antioxidant capacity (TAC) and oxidative stress index (OSI) levels from serum specimens obtained at day-2, OPU day, and during embryo transfer and from follicular fluid specimen obtained during OPU. In conclusion; no significant difference was detected between serum and follicular fluid TAS, TOS and OSI levels and socio-demographic features, smoking and alcohol consumption, previous medical history, medication history, and used IVF protocols of 100 patients ($p<0,05$). Likewise, no significant difference was detected between serum and follicular fluid TAS, TOS, and OSI levels and acquired oocyte amount, embryo quality, and whether clinical pregnancy achieved ($p<0,05$).
Result ;Our working hypothesis in terms of a greater number of more powerful results are needed to work with the patient population.

Key Words: IVF, Total Oxidant Capacity, Total Antioxidant Capacity, Serum, Follicular Fluid, Infertility

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|---|--------------|
| TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI | iii |
| TEŞEKKÜR | iv |
| ÖZET | v |
| ABSTRACT | vi |
| İÇİNDEKİLER | vii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ | viii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | xiii |
| TABLOLAR DİZİNİ | xiv |
| 1.GİRİŞ | 1 |
| 2.GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. İnfertilite Tanımı | 3 |
| 2.2. İnfertilite Nedenleri | 4 |
| 2.2.1. Kadına Ait Nedenler | 4 |
| 2.2.2. Erkek Faktörü | 13 |
| 2.2.3. Açıklanamayan İnfertilite | 14 |
| 2.3. İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi | 15 |
| 2.3.1. Kadın Hastanın Değerlendirilmesi | 15 |
| 2.3.2. Erkek Hastanın Değerlendirilmesi | 18 |
| 2.4. Yardımla Üreme Teknikleri | 22 |
| 2.5. Yardımla Üreme Teknikleri Başarısını Belirleyen Faktörler | 24 |
| 2.5.1. Over Rezerv Tayini | 25 |
| 2.5.2. Gonadotropinlere Cevap | 25 |
| 2.5.3. GnRHa (Gonadotropin Serbestleştirici Hormon Agonisti)Uyarı Testi | 26 |
| 2.5.4. Bazal FSH seviyesi | 26 |
| 2.5.5. Eksojen FSH Overyan Rezerv Testi | 27 |
| 2.5.6.Klomifen Sitrat Challenge test | 27 |
| 2.5.7. İnhibin B Değerlendirilmesi | 27 |
| 2.5.8.Over Rezervinin Değerlendirilmesinde Ultrasonografi (AFC ve OV) | 27 |
| 2.5.9.Over Biyopsisi | 28 |

| | Sayfa |
|--|--------------|
| 2.5.10.Bazal Estradiol Değerlendirmesi | 28 |
| 2.5.11.Antimüllerian Hormon (AMH) | 28 |
| 2.5.12.GnRHa Stimülasyon Testi | 30 |
| 2.5.13.Oosit Gelişim Potansiyeline Etkili Follikül Sıvısı Belirteçleri | 31 |
| 2.6. Kontrollü Ovaryen Hiperstimülasyon | 31 |
| 2.7. Yardımla Üreme Teknikleri Siklusunda Tedavi Protokolü | 31 |
| 2.8. IVF’de Ultrasonografi | 34 |
| 2.9 Doppler Ultrasonografi | 35 |
| 2.10. İmplantasyon Fizyolojisi | 36 |
| 2.11.Yardımla Üreme Teknikleri Siklusları ve İmplantasyon | 37 |
| 2.12.Oksidatif Stres | 37 |
| 2.13.Antioksidan Savunma Sistemleri | 43 |
| 2.13.1.Enzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri | 43 |
| 2.13.2.Enzimatik Olmayan Antioksidanlar | 43 |
| 2.14.Total Antioksidan Kapasite (TAK) | 46 |
| 2.15.ROS ve Follikülogenez | 47 |
| 2.16.Oksidatif Stresin Kadın İnfertilitesindeki Rolü | 48 |
| 2.16.1.Oksidatif Stres ve PCOS | 50 |
| 2.16.2.Oksidatif Stres ve Açıklanamayan İnfertilite | 50 |
| 2.16.3.Oksidatif Stres ve Endometriozis | 51 |
| 2.16.4.Oksidatif Stres ve Tubal Faktör | 52 |
| 3.GEREÇ VE YÖNTEM | 53 |
| 4.BULGULAR | 59 |
| 5. TARTIŞMA | 81 |
| 6.SONUÇ VE ÖNERİLER | 88 |
| KAYNAKLAR | 92 |

SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|-------------------|---|
| ABD | Amerika Birleşik Devletleri |
| AF | Aktivasyon işlevi |
| AFC | Antral follikül sayısı |
| AFS | Amerikan fertilite komitesi |
| AMH | Antimüllerian hormon |
| Ark. | Arkadaşları |
| ASA | Antisperm antikor |
| ASRM | American Society for Reproductive Medicine |
| Apaf-1 | Apopitotik proteaz aktive edici faktör |
| ATP | Adenozin trifosfat |
| BMI | Beden kitle indeksi |
| CAT | Katalaz |
| CSF | Koloni stimüle edici faktör |
| DES | Dietilstilbestrol |
| EDTA | Etilendiamintetraasetikasit |
| EK | Endometrium kalınlığı |
| ESHRE | European Society of Human Reproduction and Embryology |
| ET | Embriyo transferi |
| dATP | Deoksiadenozintrifosfat |
| FDA | Food and Drug Administration |
| FSH | Follikül stimüle edici hormon |
| GIFT | Gamet intrafallopian transfer |
| GnRH | Gonadotropin serbestleştirici hormon |
| GnRH _a | Gonadotropin serbestleştirici hormon agonisti |
| GPx | Glutasyon peroksidaz |
| hCG | İnsan koryonik gonadotropini |
| hMG | İnsan menopozal gonadotropini |
| HOS | Hipo-ozmotik şişme |
| HSG | Histerosalpingografi |
| LH | Luteinizan hormon |

| | |
|-------|---|
| LIF | Lösemi inhibitör faktör |
| LS | Laparoskopi |
| LT | Laparotomi |
| ICSI | İntrasitoplazmik sperm injeksiyonu |
| Ig | İmmünglobulin |
| IL | İnterlökin |
| IU | İnternational Unit |
| IUI | İntrauterin inseminasyon |
| IVF | İn-vitro fertilizasyon |
| KOH | Kontrollü ovaryen hiperstimülasyon |
| KS | Klomifen sitrat |
| MAR | Mikst aglutinasyon reaksiyonu |
| MESA | Microsurgical epididymal sperm aspiration |
| MIS | Müllerian inhibe edici substans |
| NIH | National İnstitute of Health |
| NO | Nitrik oksit |
| NOA | Non-obstrüktif azoospermi |
| OA | Obstrüktif azoospermi |
| OMI | Oosit maturasyon inhibitörü |
| OI | Ovulasyon indüksiyonu |
| OPU | Oosit pick-up |
| OV | Over volümü |
| P | Progesteron |
| PCR | Polimeraz zincir reaksiyonu |
| PESA | Perkutan epididimal sperm aspirasyonu |
| pFSH | Saf follikül stimüle edici hormon |
| pGnRH | Pulsatil gonadotropin serbestleştirici hormon |
| PID | Pelvik inflamatuvar hastalık |
| PKOS | Polikistik over sendromu |
| PKT | Postkoital test |
| PRL | Prolaktin |
| PZT | Piezoelectric transducer |

| | |
|--------------|---|
| recFSH | Rekombinant follikül stimüle edici hormon |
| r-hCG | Rekombinant insan koryonik gonadotropin |
| r-hLH | Rekombinant insan luteinizan hormon |
| RFLP | Restriction fragment length polymorphism |
| RNA | Ribonükleik asid |
| ROS | Reaktif oksijen türleri |
| SCO | Sertoli Cell Only |
| SNP | Single nucleotide polymorphism |
| SUZI | Sub-zonal sperm Insemination |
| SOD | Süperoksit dismutaz |
| TAK | Total antioksidan kapasite |
| TBE | Tris-Borik asit-EDTA |
| TESA | Testikuler sperm aspirasyonu |
| TESE | Testikuler sperm ekstraksiyonu |
| TGF- β | Transforming growth factor beta |
| TMS | Toptam motil sperm sayısı |
| TNF | Tümör nekroz edici faktör |
| TRUSG | Transrektal ultrasonografi |
| TSH | Tiroid stimüle edici hormon |
| TVUSG | Transvajinal ultrasonografi |
| uFSH | Üriner follikül stimüle edici hormon |
| u-hCG | Üriner insan koryonik gonadotropin |
| USG | Ultrasonografi |
| UV | Ultraviyole |
| WHO | Dünya Sağlık Örgütü |
| VEGF | Vasküler endotelyal büyüme faktörü |
| YÜT | Yardımla üreme teknikleri |
| ZCT | Zamanlanmış cinsel temas |
| ZIFT | Zigot intrafallopian transfer |
| ZIF-1 | Zona binding inhibitory factor-1 |
| XO | Turner sendromu |

| | |
|-------------------|------------------------|
| MDA | Malondialdehit |
| cm ³ | Santimetre küp |
| °C | Santigrad derece |
| dk | Dakika |
| E ₁ | Östron |
| E ₂ | Östradiol |
| E ₃ | Östriol |
| fT3 | Serbest triiyodotronin |
| fT4 | Serbest tiroksin |
| G | Gauge |
| g | Gravite |
| gr | Gram |
| H ₂ O | Su |
| Kb | Kilobayt |
| kDA | Kilodalton |
| MII | Metafaz II |
| m ² | Metrekare |
| mcg | mikrogram |
| mg | Miligram |
| mm | Milimetre |
| ml | Mililitre |
| MgCl ₂ | Magnezyum klorür |
| mm Hg | Milimetre civa |
| mM | Milimol |
| µM | Mikromol |
| µl | Mikrolitre |
| ng/ml | Nanogram/mililitre |
| O ₂ | Oksijen |
| pg/ml | Pikogram / mililitre |

ŞEKİLLER

| | Sayfa |
|--|--------------|
| 2.1. Menstrüel siklustaki hormonal değişiklikler | 5 |
| 2.2. Uterin anomalilerin AFC sınıflandırması | 11 |
| 2.3. Normal HSG görüntüsü | 17 |
| 2.4. AMH'nın folliküller üzerinde düzenleyici rolü | 29 |
| 2.5. Hücre ve dokulara ROS'un etkisi | 39 |
| 2.6. Lipit peroksidasyonun kimyasal yolu | 42 |
| 2.7. Oksidatif stres oluşumu | 46 |
| 2.8. Oksidatif stres oluşumunu tetikleyen faktörler ve kadın infertilitesindeki etkileri | 49 |
| 3.1. Follikül şekillerine göre değişik ölçüm yöntemleri | 55 |
| 3.2. Metafaz II Oosit | 56 |
| 3.3. Germinal vezikül | 56 |
| 4.1. Çalışmaya dahil edilen 100 olgunun infertilite tipi ve sayısı | 60 |
| 4.2. Spermiogram test sonuçları | 61 |
| 4.3. Gün 2 de çalışılan serum örneklerindeki TOS değerinin sensitivite ve spesifite durumu | 75 |
| 4.4. Gün 2 de çalışılan serum örneklerindeki OSI değerinin sensitivite ve spesifite durumu | 78 |

TABLOLAR

| | Sayfa |
|--|--------------|
| 2.1.Anovulatuvar Hastalıkların Sınıflandırılması (WHO Sınıflaması) | 5 |
| 2.2.Semen İncelemesinin Normal Değerleri | 20 |
| 2.3.Dutch Society of Obstetrics and Gynecology: IVF-ICSI endikasyonları | 23 |
| 2.4.ICSI endikasyonları | 24 |
| 2.5.Sık karşılaşılan radikaller,simgeleri ve kimlikleri | 38 |
| 4.1.Çalışmaya katılan hastaların demografik özelliklerine ait farklı parametreler | 58 |
| 4.2.Çalışmaya katılan hastaların sosyodemografik özellikleri | 59 |
| 4.3.Biyokimyasal gebeliklerin karşılaştırılması | 62 |
| 4.4.Klinik gebeliklerin karşılaştırılması | 64 |
| 4.5.Biyokimyasal gebeliklerin infertilite nedenlerine göre değerlendirilmesi | 65 |
| 4.6.Klinik gebeliklerin infertilite nedenlerine göre değerlendirilmesi | 66 |
| 4.7.Biyokimyasal gebeliklerin tanısı konulmuş hastalıkların varlığına göre değerlendirilmesi | 66 |
| 4.8.Klinik gebeliklerin tanısı konulmuş hastalıkların varlığına göre değerlendirilmesi | 67 |
| 4.9.Biyokimyasal gebeliklerin sigara kullanımına göre değerlendirilmesi | 67 |
| 4.10.Klinik gebeliklerin sigara kullanımına göre değerlendirilmesi | 67 |
| 4.11.Biyokimyasal gebeliklerin kullanılan IVF protokollerine göre değerlendirilmesi | 68 |
| 4.12.Klinik gebeliklerin kullanılan IVF protokollerine göre değerlendirilmesi | 68 |
| 4.13.Biyokimyasal gebeliklerin Gün 3'te elde edilen embrio sayısına göre değerlendirilmesi | 69 |
| 4.14.Klinik gebeliklerin Gün 3'te elde edilen embrio sayısına göre değerlendirilmesi | 69 |
| 4.15.Biyokimyasal gebeliklerin transfer edilen grade 1 embrio | 69 |

| | Sayfa |
|--|--------------|
| sayısına göre değerlendirilmesi | |
| 4.16.Klinik gebeliklerin transfer edilen grade 1 embrio sayısına göre değerlendirilmesi | 70 |
| 4.17.Biyokimyasal gebeliklerin transfer edilen grade 2 embrio sayısına göre değerlendirilmesi | 70 |
| 4.18.Klinik gebeliklerin transfer edilen grade 2 embrio sayısına göre değerlendirilmesi | 71 |
| 4.19.Biyokimyasal gebeliklerin transfer edilen embrio sayısına göre değerlendirilmesi | 72 |
| 4.20.Klinik gebeliklerin transfer edilen embrio sayısına göre değerlendirilmesi | 73 |
| 4.21.Biyokimyasal gebeliklerin TAS,TOS,OSI parametrelerine göre değerlendirilmesi | 74 |
| 4.22.Klinik gebeliklerin TAS,TOS,OSI parametrelerine göre değerlendirilmesi. | 75 |
| 4.23.Biyokimyasal gebeliklerin TAS,TOS VE OSI değerinin ROC analizine göre değerlendirilmesi | 77 |
| 4.24.Gün-2 de alınan serumda çalışılan örnekteki TOS değerinin biyokimyasal gebelik için anlamlılık kriteri | 78 |
| 4.25.Gün-2 de alınan serumda çalışılan örnekteki OSI değerinin biyokimyasal gebelik için anlamlılık kriteri | 79 |

1. GİRİŞ

İnfertilite, 1 yıl süre ile herhangi bir korunma yöntemi uygulanmadan ve düzenli cinsel ilişkide bulunulmasına rağmen gebelik olmaması durumudur (1). İnfertilite problemi üreme çağındaki çiftlerin yaklaşık %10-15'ini etkileyen bir problemdir. İnfertilite problemi olmayan bir çiftin her ovulatuvar siklus başına gebe kalabilme şansı %25 civarındadır. Kontrasepsiyon uygulamayan normal çiftlerin %57'si ilk 3 ayda, %72'si 6 ay içinde, %85'i bir yıl içinde gebe kalabilmektedir (2). İnfertil çiftlere sunulan tedavi alternatiflerinin arasında, yüksek başarı oranları ile yardımcı üreme teknikleri (YÜT) önemli bir yer tutmaktadır. Genel olarak, in vitro fertilizasyon (IVF), kadın overlerinden oositlerin toplanması, laboratuvarında in vitro oositlerin fertilizasyonu ve uterusu embriyoların transferi aşamalarını içerir. Bazı IVF işlemleri spermin direkt oositin içine enjekte edilmesi ile gerçekleştirilir (Mikroenjeksiyon). IVF/Mikroenjeksiyon tedavisinde, klinik gebelik başarısı, tanıya bağlı olarak, %30-%40 seviyesinde düşük başarı oranları göstermektedir (3).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda infertilitenin patofizyolojisinde oksidatif stresin önemli faktörlerden biri olabileceği belirtilmektedir (4).Reaktif oksijen türleri (ROS) ve antioksidanların varlığı tubal sıvıda ve açıklanamayan infertilite ve endometriozis tanısı koyulmuş kadınların peritonal sıvılarında gösterilmiştir (5).ROS'un erkek infertilitesindeki etkisi çalışmalarda iyice anlaşılmış olsa da, kadın infertilitesindeki rolü hala belirsizliğini korumaktadır (4). Normal ovaryen sikluslarında çeşitli oksidatif stres markerlerinin düzeylerini belirleyen çalışmalar yapılmıştır (6,7). Birçok çalışmada bu markerlerin serum düzeylerinin foliküler sıvıdan daha düşük olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlara göre foliküler sıvının oositleri oksidatif hasardan korumak amacıyla yüksek konsantrasyonlarda antioksidan sisteme sahip olabileceği ifade edilmiştir (7).Reaktif oksijen türleri embriyonun metabolizmasına ve/veya bulunulan çevre kaynaklı olarak üretilebilmektedir. Oksidatif stres, defektif embriyo gelişimi etiolojisinde yer almaktadır (8,9).Reaktif oksijen türleri (ROS) moleküler oksijenin enzimatik reaksiyonlarla indirgenmesi esnasında, mitokondriyal elektron transport zincirinde ve çeşitli maddelerin otooksidasyonunda aerobik hücreler tarafından oluşturulmaktadır

(10,11).Mitokondri reaktif oksijen türlerinin intraselüler en önemli kaynağı olup, hücre ölümüne neden olan selüler oksidatif strese aracılık edebilmektedir (12). Oksijen serbest radikallerinin protein yapılarına olan hasarı protein karbonilasyonu olarak gösterilmektedir (13).Foliküler sıvıdaki oksidatif stresin, oosit matürasyonu, fertilizasyonu ve gebelik oranlarına etkisi net açıklanamamıştır (14). Total antioksidan kapasite serbest radikallere karşı savunmayı gösteren diğer bir belirteçtir (15).

Çalışmadaki amacımız folliküler sıvıda Total Oksidan Seviyesi(TOS), Total Antioksidan Seviyesi (TAS) ve TOS/TAS oranının IVF sikluslarındaki başarıyı önceden öngörebilen bir belirteç olup olmayacağını değerlendirmek üzere; infertilite teşhisi konmuş, IVF tedavisi uygulanacak olguların biyokimyasal ve klinik gebelik saptananlarda serumlarında ve foliküler sıvılarında TOS, TAS ,TOS/TAS oranı olan Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) ve ölçülen parametreler arasındaki ilişki değerlendirilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnfertilitenin Tanımı

İnfertilite, çiftlerin en az bir yıl süreyle hiçbir kontrasepsiyon yöntemi kullanmaksızın, düzenli cinsel ilişkide bulunmalarına rağmen çocuk sahibi olamaması durumudur. Sağlıklı çiftlerin yaklaşık % 85- 90' nında ilk bir yıl içerisinde gebelik gerçekleşmektedir. Üreme çağındaki çiftlerin % 10-15'i infertildir. Primer infertilite daha önce hiç gebelik oluşmamasını tanımlarken, sekonder infertilite daha önce gebelik oluşması ancak korunmasız ilişkiye rağmen yeni bir gebeliğin olmaması durumudur. Otuzlu yaşların sonundaki kadınlarda infertilite görülme oranı % 25'e ulaşırken, 40 yaşından sonra fertilitede azalma daha hızlı olur (16). İnfertilite tedavisindeki bilimsel ve teknolojik gelişmeler başarı oranlarının giderek artmasını sağlamıştır.

Yardımcı Üreme Teknikleri (YÜT= Assisted Reproductive Technology, ART) insan üreme hücrelerinin (oosit ve sperm) vücut dışında fertilizasyonu ile embriyo elde edilmesini sağlayan yöntemlerin tümünü kapsar. Çiftlerin çocuk sahibi olabileme rüyalarını gerçekleştirmede gelişen bu teknolojiler önemli rol oynamaktadır.

2.2. İnfertilite Nedenleri

İnfertilitenin en sık sebepleri, ovulatuvar bozukluk, tubal ve peritoneal patoloji ve erkek faktörleridir. Uterin patoloji genellikle seyrek görülmektedir ve geri kalanı ise nedeni açıklanamayan infertilitedir. Her birisinin sıklığı yaşla birlikte değişmektedir. Yapılan bir çalışmada genç kadınlarda ovulasyon bozuklukları daha sık bulunurken, tubal ve peritoneal patoloji genç ve yaşlılarda eşit sıklıkta bulunmuştur. Erkek faktörü ve açıklanamayan infertilite yaşlı çiftlerde daha sık saptanmıştır (17,18).

İnfertilite nedenleri:

1. Kadına ait nedenler (%40-45)
 - Ovulatuvar (%30-40)
 - Tubal/Peritoneal Faktör (%20-30)
 - Servikal ve İmmünolojik Faktörler (%1-2)
 - Diğer
2. Erkeğe ait nedenler (%30-40)
3. Açıklanamayan (%10-15)

2.2.1. Kadına Ait Nedenler

Ovulatuvar Bozukluklar

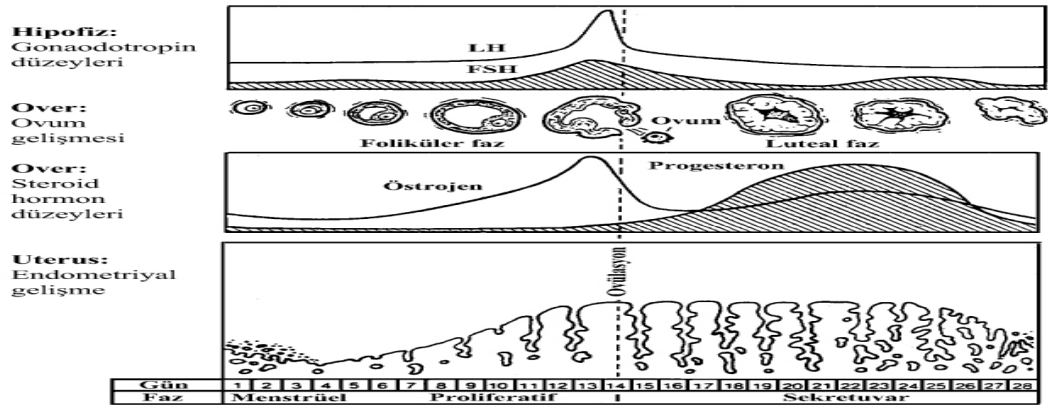
Kadına bağlı infertilitenin % 30-40'ını oluşturur. Anovulasyon, amenore ve adet düzensizlikleriyle kendini gösterir. İnfertil hastalarda ovulasyonun olup olmadığı mutlaka tespit edilmelidir. Ovulasyon, hipotalamus, hipofiz ve over aksının düzenli çalışmasıyla sağlanır. Bu aksın herhangi bir aşamasındaki bozukluk sonucu anovulasyon oluşabilir. Anovulasyon tanısı koyulur ise ayırıcı tanıda hipotalamo-hipofizer bozukluklar, Polikistik Over Sendromu (PKOS), anoreksiya nervosa, prematür over yetmezliği, hipotiroidizm gibi hastalıklar düşünülmelidir. Anovulasyonun tipine göre tedavi protokolleri değişmektedir (18).

Ovulasyonun tespitinde çeşitli yöntemler kullanılabilir:

a) Öykü: 21-35 günde bir düzenli adet görmek ve adet öncesi göğüslerde şişkinlik, hassasiyet, dismenore gibi premenstrüel ve menstrüel semptomların varlığı muhtemel ovulasyonun belirtileridir (16).

b) LH monitörizasyonu: Ovulasyon LH yükselmeye başladıktan 34-36 saat, LH pikinden 10-12 saat sonra gerçekleşir. Bu nedenle LH yükselmesinin tespiti ile ovulasyonun varlığı ortaya konabilir (19).

Menstrüel sıklustaki hormonal değişiklikler şekil 2.1. 'de gösterilmiştir.



Şekil 2. 1. Menstrüel sıklustaki hormonal değişiklikler

Speroff L, Fritz MA, İnfertilite. İç: Erk A, Günalp S, editörler; Klinik Jinekolojik Endokrinoloji Ve İnfertilite. Ankara-İstanbul: Güneş Tıp Kitapevleri; 2007.s.1013-1274.

c) Bazal vücut ısısı ölçümü:Ovulasyondan sonra progesteron hormonu artar. Progesteronun termojenik etkisi sonucu vücut ısısında 0,2-0,3 °C artış izlenir (20).

d) Midluteal serum progesteron ölçümü: Ovulasyon sonrası korpus luteumun oluşmasıyla birlikte luteinize olan granüloza hücrelerinden progesteron salgılanır. Bu nedenle serum progesteron düzeyinin yükselmesi ovulasyonun indirekt bir bulgusudur. Serum progesteronunun 3 ng/ml'nin üstünde olması ovulasyonun göstergesidir. Luteal faz yetmezliği tanısında ise ovulasyondan sonraki 5-9. günler arasında 3 kez progesteron ölçümü yapılır. Üç ölçümün toplamı 30 ng/ml ya da tek ölçümde 10 ng/ml ise luteal faz yetmezliği yoktur (16,20).

e)Endometrial biyopsi: Geç luteal dönemde, genellikle beklenen menstruasyondan 2-3 gün önce alınır. Proliferatif endometriumun tespit edilmesi anovulasyonu gösterir. Siklus gününe göre 2 gün veya daha fazla gecikme luteal faz yetmezliğini düşündürür (20).

f) Ultrasonografik monitörizasyon: Seri ultrasonografik takip ile dominant follikül gelişimi ve ovulasyondan sonra follikülün gerilemesi izlenerek ovulasyon olup olmadığı saptanabilir. Menstruasyonun 3. günü TVUSG ile overler ve overlerde antral foliküller değerlendirilmelidir. Siklusun 5-7. günü seçilen dominant follikül ovulasyona kadar 1-3 mm/gün büyüme gösterir. Ovulasyon genellikle follikül çapı

21-23 mm olduğunda gerçekleşir (1,6).Dünya Sağlık Örgütü (WHO), anovulatuvar olguları endojen östrojen, endojen prolaktin ve endojen gonadotropin düzeylerine göre sınıflandırmaktadır (Tablo 2.1.) (21) .

Tablo 2.1: Anovulatuvar Hastalıkların Sınıflandırılması (WHO Sınıflaması)

| | |
|--|---|
| GRUP I (Hipogonadotropik hipogonadizm) | Hipotalamo-hipofizer disfonksiyon |
| GRUP II (Normogonadotropik hipogonadizm) | Östrojenik ovulatuvar disfonksiyon (PKOS) |
| GRUP III (Hipergonadotropik hipogonadizm) | Over yetmezliği |
| Hiperprolaktinemik Anovulasyon | |

WHO Grup I (Hipogonadotropik Hipogonadizm)

Hipotalamo-hipofizer disfonksiyon söz konusu olduğu için pulsatil GnRH uygulaması veya human menopozal gonadotropinler (HMG) ile ovulasyon sağlanır. Gebelik oranları HMG ile siklus başına % 25 - 30 civarındadır.Kronik düşük doz step-up protokolü uygulanır. Luteal faz desteği yapılır (22). Eksojen GnRH protokolü Hipogonadotropik hipogonadizmli anovulatuvar kadınlarda kullanılır.GnRH sürekli pulsatil tarzda pompa yardımıyla verilir. Fizyolojik dozlarda gonadotropin salgısını uyararak folikül gelişimini sağlar.

WHO Grup II (Normogonadotropik Hipogonadizm)

Polikistik over hastaları bu grubun çoğunluğunu oluşturmaktadır. PKOS olguların çoğunda vücut kitle indeksi artmıştır. Bu artış anovulasyonu beraberinde getirir. Hastalarda irregüler menstruel sikluslar (35-90 gün), disfonksiyonel uterin kanama, menoraji, metroraji, hiperandrojenizm bulguları, hirsutismus ve obezite mevcuttur. Azalmış fertilité, artmış gebelik kayıpları vardır. Ultrasonografik incelemede over korteksi altında periferik dizilimli küçük foliküller (<10 mm) izlenir. FSH/LH oranının tersine döndüğü, adrenal, tiroid, prolaktin hormonlarında yükselme saptanabilir.

Bu olgularda ovulasyon sağlanması için kilo kaybetmeleri, düzenli

egzersiz yapmaları önerilmesi gereken ilk yöntem olmalıdır (23,24). Bu hasta grubunda tedavi protokolleri şöyledir:

WHO Grup III (Hipergonadotropik hipogonadizm)

Endojen gonadotropin düzeyi over rezervi azalmış (primordial folikül sayısı azalmış) olgularda oluşur. Vakit kaybedilmeden yardımla üreme teknolojilerine başvurulması gerekir. Gebelik şansı oldukça düşüktür.

Hiperprolaktinematik Anovulasyon

% 15-20 oranında oligomenoreik kadında hiperprolaktinemi mevcuttur. İnfertiliteye neden olması GnRH salgısında azalmaya yol açarak hipogonadizm oluşturması şeklindedir. Vakaların çoğunda prolaktin salgısının supresyonu ile hipogonadizm tablosu geri döner. % 40-50'sinde neden prolaktinomalardır. % 30'unda neden tespit edilemez. % 3-5'inde primer hipotiroidi mevcuttur. Ayırıcı tanı için serum TSH düzeyi ölçülmelidir. Serum prolaktini üst sınırı 30-40 ng /ml dir. Dopamin agonisti hiperprolaktinemi nedeniyle anovulasyon tedavisinde kullanılır. Bromokriptin ve kabergolin kullanılan dopamin agonistleridir. Prolaktin seviyeleri normale gelince pulsatil GnRH salgısı başlar ve ovulasyon normale döner. Bromokriptin kullanımına 1.25-2.5 mg dozundan başlanır. Doz kademeli artırılır. Tedavi başladıktan kısa süre içinde prolaktin düzeyleri düşer ve sabit kalır. Sikluslar tedavi başladıktan 6-8 hafta içinde % 70-90 normale döner (48).

Polikistik Over Sendromu (PKOS)

Polikistik over sendromu (PKOS) doğurganlık çağındaki kadınlarda en sık görülen endokrin bozukluktur. Kronik anovulatuvar infertilitenin en sık nedeni olan PKOS, multisistemik reproduktif metabolik bir sendrom olarak; Tip 2 diyabet, dislipidemi, kardiyovasküler hastalık ve endometriyal karsinoma gibi uzun dönem sağlık riskleri taşır. Sendromun prevalansı yaklaşık % 4-8 olarak bildirilmektedir (49,50). İlk kez 1935 yılında Stein Leventhal tarafından, yedi hastadan oluşan bir seride polikistik overler ve amenore birlikteliği şeklinde rapor edilmişti (51). Polikistik over sendromunda teşhis, 2003 yılında European Society of Human Reproduction and Embryology ve American Society for Reproductive Medicine'nin polikistik over sendromu konsensus çalıştay grubu tarafından

bildirilen Rotterdam kriterleri ile konulmaktadır. Buna göre teşhis için aşağıdaki üç kriterden en az ikisinin olması gerekmektedir;

*Ultrasonda overlerde polikistik görünüm (12 veya daha fazla periferik yerleşimli 2-8 mm olan folikül ya da artmış over hacmi $>10 \text{ cm}^3$)

*Oligo- veya anovülasyon

*Hiperandrojenizmin klinik veya biyokimyasal bulguları.

PKOS genellikle peripubertal dönemden itibaren başlayan menstruel düzensizlikler (oligo-amenore, disfonksiyonel uterin kanaması), hiperandrojenizm bulguları (hirsutizm, akne, ciltte yağlanma, androjenik alopesi) ve infertilite ile karşımıza çıkar. Bu bulguların tek bir overde olması yeterlidir.

PKOS anovulatuvar infertilitenin en sık görülen nedenidir, fakat anovülasyon mekanizması net olarak bilinmemektedir. Polikistik overlerdeki multipl antral foliküllerin preovulatuvar faz öncesine gelişimi olamamaktadır. FSH'ı arttıran tedavilerle hastaların çoğunda ovulasyon sağlanabilir, fakat normal siklusun erken foliküler fazındakine göre serum FSH seviyesi hafif düşük olmasına rağmen PKOS' daki primer anormallik FSH eksikliği değildir (52).

Anovülasyon nedeniyle infertilite tedavisine başvuran kadınların yaklaşık %80-90'ında PKOS bulunur (53). Normal ağırlıktaki PKOS kadınların %30-40 ve obez kadınların %80'inde görülen hiperinsülinemi anovülasyonla ilişkilidir (54). PKOS kadınların %40'ında artmış LH konsantrasyonu olarak görülen anormal gonadotropin sekresyonu vardır. Anovulatuvar PKOS kadınlarda endojen FSH'da bir fonksiyonel yetmezlik görülmektedir (55), yüksek oranda spontan gebelik kaybına sahip oldukları ile ilgili belirtiler olmakla birlikte bunların mekanizmaları tam açık değildir. PKOS'da tekrarlayan gebelik kaybı prevalansını tayin etmek için ilave çalışmalar gerekmektedir.

Tubo-Peritoneal İnfertilite Nedenleri

Tubal ve peritoneal faktörler kadın infertilitesinin % 20-40'ını oluşturmaktadır. Tubal faktör nedeniyle yapılan IVF uygulamalarında kastedilen tubal obstrüksiyondur. Tubal pasajı değerlendirmede kullanılan en yaygın yöntem hidrosalpingografi (HSG) siklusun 6-10. günleri arasında yapılır. HSG'nin tubal tıkanıklığı saptamada sensitivitesi % 80'lerde iken, spesifitesi % 90'a yakındır (56). HSG'de bilateral tubal patoloji saptanmışsa ileri tetkik gerekmektedir. Tubal

ve peritoneal patolojilerin tanısında altın standart tanısal laparoskopidir. Tubal faktörlerin tedavisi cerrahidir. Yardımcı Üreme Tekniklerindeki başarı oranlarının giderek artmasıyla, tubal faktör infertilitesinde cerrahi yaklaşım endikasyonları giderek azalmaktadır (57,58).

Tubal infertiliteye sebep olabilecek patolojiler; pelvik adezyonlar, pelvik inflamatuvar hastalık, geçirilmiş pelvik operasyonlar, ekstragenital orijinli enfeksiyonlar, genital tüberküloz, endometriozis tubal nedenlerdir (tubal polipler ve hidrosalpenks).

Tubaların sıvı ile dolması anlamına gelen hidrosalpenks varlığında IVF sonuçları daha düşük olmaktadır. Hidrosalpenks özellikle ultrasonografi ile gözlemlendiğinde, IVF başarısını oldukça azaltmaktadır (59,60). Ana mekanizmanın over stimülasyonu sırasında daha da artan hidrosalpenks içi sıvının uterus kavitesine akışı olduğu düşünülmektedir. Bu sıvı endometrial ortamın implantasyon özelliğini azaltmaktadır. Hidrosalpenks olgularında gebelik oranı, implantasyon ve doğum oranları azalırken, gebeliklerin erken gebelik kaybı ile sonlanma olasılığı artmaktadır.

Endometriosis

Endometriozis endometrial dokunun, gland ve stroma olarak, uterus kavitesinin dışında yerleşmesidir. En sık implantasyon yerleri, pelvik organlar ve periton olmakla birlikte, farklı doku ve organlarda da gözlemlenir. Endometriozis lokal ve sistemik inflamasyon ile karakterize, infertilite teşhisi koyulmuş üreme çağındaki kadınların %20-40' ında görülen bir hastalıktır (61).

Endometriozis ve infertilite birlikteliği kanıtlanmış ise de sebep sonuç ilişkisi ve patofizyolojisi belirsizdir. Adezyon varlığında bozulan pelvik anatomi ve tubaovaryen ilişki ile infertiliteyi açıklamak kolay ise de anatominin bozulmadığı olgulardaki infertilitenin oluş mekanizması, ovulasyon defektleri, otoimmünite, peritoneal sıvıdaki artmış sitokinler, lökositler, prostaglandinler, inflamatuvar cevap ile açıklanmaya çalışılmıştır.

Endometriozisli pek çok kadının fertilitesi korunmakta, gebe kalıp doğum yapabilmektedir. Bununla birlikte fertil kadınlarda ayda yaklaşık %20 olan olan doğurganlık oranının endometriozisli olgularda %2-10 (62), donor inseminasyon

sikluslarında minimal endometriozisi olanlarda %36, olmayanlarda %12 olduğu (63), minimal ve hafif endometriozis olgularında doğurganlığın fertil kontrol olgularından farklı olmadığı değişik çalışmalarda gösterilmiştir (64,65). Bilinen geleneksel tedavi yöntemleriyle 35 yaş ve altı erken evre endometriozis olgularında 1 yıl, ileri evre endometriozis veya 35 yaş üstünde ise 6 ay gebelik denemesinden sonra yardımcı üreme yöntemlerinin gündeme gelmesi gerekmektedir.

Endometriozisin yol açtığı inflamasyon, azalttığı over rezervi, oosit kalitesi ve implantasyon üzerine olumsuz etkisi, oosit toplanmasını zorlaştırması gibi nedenlerle IVF başarısını düşürdüğü ileri sürülmüştür (66). Fertilizasyon, gebelik ve implantasyon hızlarını sırayla %81, %56, %86 oranlarında azaldığı (67), siklus iptallerinin % 50 olduğu (68) ancak kümülatif gebelik oranlarının diğer infertilite nedenlerinden farklı olmayarak yüksek olduğu rapor edilmiştir (69).

Servikal Ve İmmünolojik İnfertilite

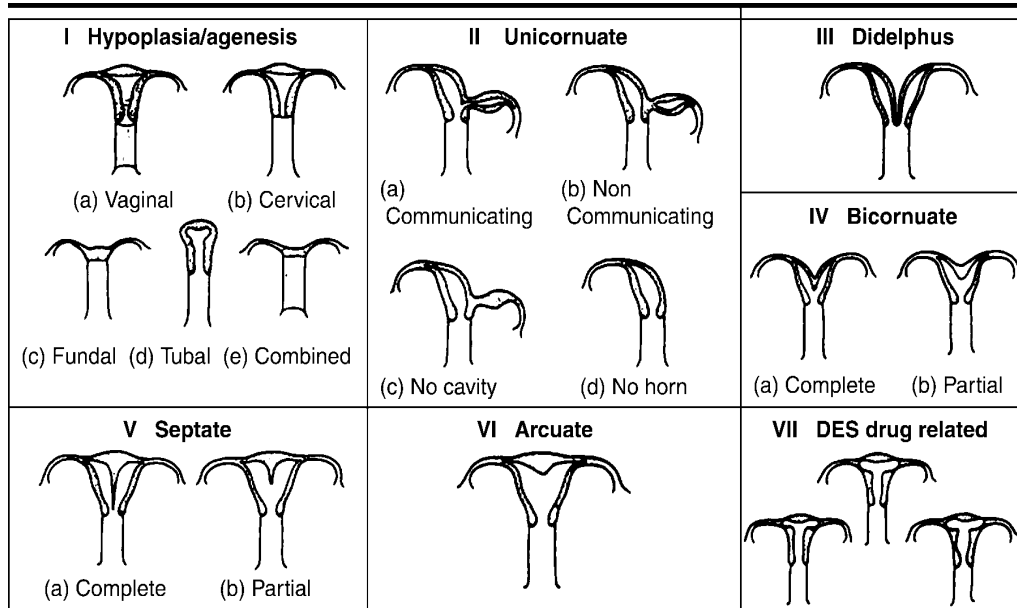
Çiftlerin % 1-2'sinde infertilite nedeni olarak görülür (16,17). Servikal mukusun yapısı sperm geçişini etkiler. Servikal faktörün, infertilite üzerine etkisini değerlendiren klasik yöntem postkoital test (PKT)'dir. Test 3-4 günlük cinsel perhiz sonrası yapılan koitustan sonra, servikal kanaldan alınan, servikal mukus ve spermelerin incelenmesidir. Postkoital ilk 24 saat içinde yeterli bir inceleme yapılabilmekle birlikte, idealinin 4-6 saat olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Normalde 0,1 ml'den fazla miktarda açık renkli, süne derecesi (Spinbarkeit testi) >8cm ve içerisinde lökosit sayısı <5 hpf olmalıdır. Her büyük büyütme alanında en az 2 adet motil sperm içermelidir. Mikroskopta hareketli spermelerin görülmesi testin pozitif olduğunu gösterir. Mikroskopta canlı spermelerin izlenmemesi ise testin negatif olduğunu gösterir. Bu durumda spermelerin ya mukusa penetrasyonu yoktur ya da mukus içinde ölmektedir(70).

İnfertil kadınlarda otoantikör oranı fertil kadınlardan çok daha fazla bulunmuştur (% 15-45'e karşın % 1-4) (71). Antifosfolipid antikörlerin (APA) (özellikle antikardiyolipin antikör ve lupus antikoagulan) varlığı infertilite ve IVF başarısızlıkları arasında ilişki kurulmasına neden olmuştur. IVF için olgu seçiminde öykülerinde tekrarlayan IVF başarısızlıkları bulunan olgularda APA, organ spesifik antitiroid antikör (ATA) ve tiroid antimikrozomal antikör (AMA) kontrollerinin faydası hatırlanmalıdır (72).

Diğer Nedenler

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

Uterin anomaliler AFC'nin 1988 sınıflandırmasına göre şu şekildedir ve şekil 2.2.'de belirtilmiştir (73).



Şekil 2.2. Uterin anomalilerin AFC'nin sınıflandırması

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

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

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

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

Sınıf V Müllerian Anomaliler (Septat Uterus): En sık görülen ve infertiliteye sebep olan konjenital uterin malformasyon uterin septumdur. Bu olgularda gebelik kaybı

oranları oldukça fazladır. Uterin septumu olan ve tekrarlayan spontan abortusu olan kadınlarda cerrahi tedavi yapılmalıdır. Histeroskopik septum insizyonunun spontan abortus oranlarını azalttığı tespit edilmiştir (74).

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

Sınıf VII Müllerian Anomaliler (Diethylstilbestrol (DES) ile ilişkili anomaliler): Klas VII müllerian anomaliler intrauterin DES maruziyetine bağlı oluşan konjenital anomalilerdir. Bunların % 70'inde HSG'de malformasyona rastlanmıştır. En sık T şeklinde uterus görülür (75). DES e maruz kalmış T şeklinde ya da hipoplastik uterusda cerrahi tedavi önerilmez. Bu kadınların IVF tedavi sonuçları genellikle kötüdür. İmplantasyon oranları oldukça düşüktür (76).

Edinsel Nedenler: Uterusun edinsel anomalileri leiomyomlar, endometrial polipler ve intrauterin yapışıklıklardır. Leiomyomların infertilite ile ilişkisi net olarak ortaya koyulamamakla birlikte uterin kontraktiliteye ve komşuluğundaki implantasyon alanında vasküler ve moleküler değişikliğe sebep olarak infertiliteye neden olabileceği düşünülmektedir (77).

Endometrial polip, prevalansı % 3-5 olarak bilinse de infertilitesi olan kadınlarda asemptomatik endometrial polip görülme sıklığının % 10'lara kadar çıkabileceği bildirilmiştir (78). İntrauterin yapışıklıklar (Ashermann Sendromu)'ın en önemli nedeni kavitenin küretajı ve intrauterin enfeksiyonlardır (tüberküloz, schistosomia, mikobakteriler gibi). İntrauterin yapışıklıklar embriyo implantasyonunu engelleyebilirler. Kavitedeki yapışıklığın yaygınlığına bağlı olarak adet düzensizlikleri, amenore ve spontan düşüklere neden olabilir. Tedavide histeroskopik rezeksiyon optimal yaklaşımdır. Cerrahi sonrası sonuçlar yüz güldürücüdür. Hafif ve orta derecede intrauterin adezyonları olan 52 hastada, adezyolizis sonrası % 90 gebelik oranı tespit edilmiş ve bu gebeliklerin % 85'i canlı doğumla sonuçlanmıştır (79,80).

2.2.2. Erkek Faktörü

Bir yıl içerisinde korunma olmaksızın yapılan normal cinsel ilişkiye rağmen gebe kalmayan çiftlerin oranı yaklaşık % 15 kadardır. Erkeğin bu durumdaki oranı

saf olarak yaklaşık % 20 iken, kadın eş ile beraber ve açıklanamayan grup da içine alındığında bu oran % 50'lere varmaktadır (16,20).

Reproduktif yaştaki erkeklerin % 6'sında infertilite problemi ortaya çıkmaktadır. Bu olguların yaklaşık % 90'nında da bozulmuş spermatogenez vardır. Normalde fertil bir erkekte günde 120 milyon adet sperm yapılmaktadır (81).

WHO tarafından 7273 evli infertil çift üzerinde infertilite nedenine göre yapılan bir çalışmada % 41 oranında kadın, % 24 oranında erkek, % 24 kadın ile erkek beraber ve % 11'inde de bir neden gösterilememiştir (82). Buradan da anlaşılacağı gibi evli infertil çiftlerin % 48'inde mutlaka erkek faktörü işin içine girmektedir.

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

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

Testiküler Nedenler: Primer spermatogenezin etkilendiği, bizzat testisin kendisini ilgilendiren patolojilerdir.

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

Tedavi planlanması açısından diğer bir sınıflama şeklinde ise erkek 3 ana gruba ayrılarak incelenmektedir (83).

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

- ii) 5-70 milyon/ml % 18
- b) Astenospermi ve teratospermi % 40
- c) Normospermi % <1

Erkek infertilitesinin klinik geliş şekillerine göre de 5 ana grupta sınıflandırılmaktadır (83).

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

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

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

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

TİP 5- Sperm disfonksiyonu: 3 ana parametre olan sayı, hareket ve morfolojide bir bozukluk yoktur fakat spermiler fertilizasyon olayını gerçekleştirememektedir. Sayılan bütün bu nedenlere yönelik eğer yerine koyulabilecek bir tedavi yöntemi varsa bu uygulanabilir. Fakat nedeni belirlenemeyen ve % 30 yüksek orandaki bir popülasyon için bu güne kadar ampirik tedavi yöntemlerine başvurulmuştur (84).

2.2.3.Açıklanamayan İnfertilite

Açıklanamayan infertilite temel infertilite araştırmaları sonucunda herhangi bir sebep bulunamayan çiftler için kullanılan bir terimdir. İnfertilite polikliniklerine başvuran çiftlerin yaklaşık %30'unda bir neden bulunamaz. Ancak kadının yaşı 35 üzerinde ise açıklanamayan infertilite tanısı daha sıklıkla görülmektedir (56). Tanıda normal sperm analizi, ovulatuvar siklusların varlığı, normal uterin kavite

ve en azından bir tubanın açık olduğunun gösterilmesi gerekir. Bu hastalarda sperm ve oosit fonksiyonunda, fertilizasyon, implantasyon veya erken embriyo gelişiminde bozukluklar olduğu düşünülmektedir.

Tedaviden bağımsız olarak açıklanamayan infertilite hastalarında kadının yaşı ve infertilite süresi uzadıkça gebelik şansı azalmaktadır. Bu hastalarda aylık fekundite %2-4'dür ve normal çiftlerin (%20) oldukça altındadır (57). Açıklanamayan infertilite hastalarının çoğu, kadının yaşı ve infertilite süresine bağlı olarak, kendiliğinden gebeliğe ulaşır. İyi prognozlu hastalarda spontan gebelik oranları daha yüksektir (58).

IVF tedavisi söz konusu olduğunda tedavinin başarısını, kadının yaşı, önceki gebelikleri, mevcut FSH düzeyi, infertilitenin süresi ve tedavi esnasında elde edilen transfere uygun yumurta ve embriyoların sayısı belirler (85). IVF günümüzde açıklanamayan infertilite tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak siklus başına beklenen canlı doğum oranları % 13 ile % 28 arasında değişmektedir (86).

Açıklanamayan infertilite vakalarında altta yatan bir diğer sebep de fertilizasyon başarısızlıklarıdır. Fishel ve ark. özellikle yüksek fertilizasyon oranları ile embriyo sayısını ve gebelik oranlarını maksimize eden yöntem olarak ICSI'yi açıklanamayan infertilite vakalarında ilk tercih olarak göstermektedir (87). 2003 yılında ABD'de YÜT sonuçlarını bildiren raporda açıklanamayan infertilitesi olanlarda siklus başına canlı doğum oranının %30 olduğu bildirilmiştir (88).

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

2.3. İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi

2.3.1. Kadın Hastanın Değerlendirilmesi

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

Öyküde dikkat edilmesi gereken konular şunlardır (16):

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

Fizik ve jinekolojik muayene aşağıdaki esaslara göre yapılmalıdır (16):

1. Kilo ve beden kitle indeksi (BMI)
2. Tiroidde büyüme, nodül, hassasiyet
3. Memede sekresyon ve özellikleri
4. Artmış androjen bulguları
5. Pelvik veya abdominal hassasiyet, organ büyümesi veya kitle
6. Vajinal veya servikal anormallik, sekresyonlar veya akıntı
7. Adneksler veya cul-de-sac'da kitle hassasiyet veya nodülerite

Laboratuvar

İnfertil hastanın değerlendirilmesinde laboratuvar önemli yere sahiptir. Menstrüel siklusun 3. günü bazal serum FSH ve E₂ seviyelerinin tüm infertil hastalarda değerlendirilmesi gerekmektedir. FSH ölçümünün, olguların ovulasyon indüksiyonuna vereceği cevabın değerlendirilmesinde etkili, gebelik elde etme oranlarıyla iyi bir uyum gösteren, over rezervini en iyi şekilde ortaya koyan test olduğu kabul edilmektedir. FSH değerleri <15 mIU/ml olan olgularda gebelik oranlarının, 15- 24,9 mIU/mL olan olgulara göre 2 kat, 25 mIU/ml olan olgulara göre 6 kat fazla olduğu bildirilmiştir (90). Bazal E₂ seviyelerinin <40 ng/ml olması beklenir. Yüksek E₂ seviyelerinin (>80ng/ml) tespit edilmesinin, elde edilen oosit sayısında ve gebelik oranlarında azalma ile birlikte olduğunu göstermektedir (91).

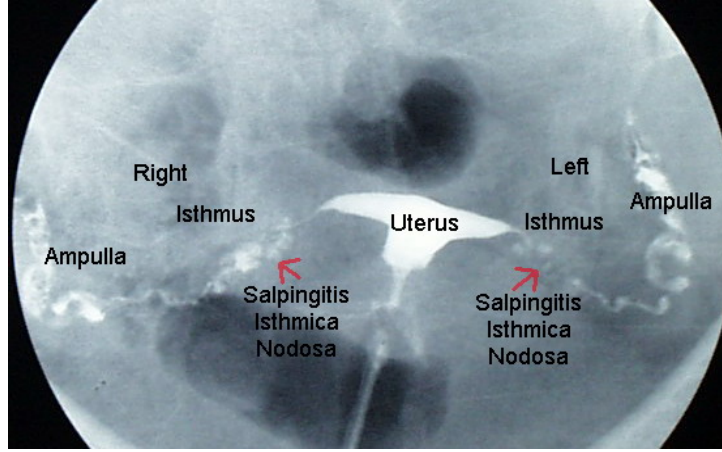
Ultrasonografi

Bütün jinekolojik hastaların değerlendirilmesinde olduğu gibi infertil hastaların da ilk değerlendirilmesinde TVUSG önemli bir tanı aracıdır. Noninvaziv ve kolay uygulanabilir olması avantajlarıdır. Uterin kavite ve endometriumun değerlendirilmesinde, vakaların % 70'inde transabdominal USG'ye göre daha fazla bilgi verir. USG ile Müllerian sisteme ait konjenital anomaliler, intramural ve submüköz myomlar, endometrial polipler, endometriomalar veya dermoid kistler görülebilir (92).

Histerosalpingografi

HSG, uterin kavitenin boyutu ve şekli hakkında bilgi vermektedir. Menstrüel kanamadan 2 -5 gün sonra yapılarak, erken gebelik riskini elimine etmek gerekir. % 1 enfeksiyon komplikasyonu mevcuttur. Serviksten girilerek uterus içine radyoopak bir maddenin verilmesi şeklinde yapılır. Opak madde buradan fallop tüplerine geçer. Fluoroskopi altında görüntüler kaydedilir (16).

İnfertilite araştırmasında erken dönem çekilecek HSG ile uterin anomaliler ve intrauterin lezyonlar, intramural oklüzyonlar ve/veya intramural lezyonlar (tubal açıklık korunmuş olsa dahi), distal tubal oklüzyon ve bu olgularda gebelik açısından prognostik önemi olan intratübal mukozal katlantılar değerlendirilebilir. Proksimal ve distal tubal tıkanıklık bulunup bulunmadığını açık biçimde gösterir. Ayrıca endometrial polipler, fibroidler, septum varlığı ve diğer anomaliler gibi uterusun yapısal patolojileri hakkında da fikir verir. İyi yapılırsa uterus ve tubaların motilitesini de ortaya koyabilir. Tanısal faydasının yanında tedavi edici etkisi de bulunmaktadır (91).



Şekil 2.3. HSG görüntüsü

Laparoskopi

Tubal ve peritoneal hastalıkların tanısında “altın standart” laparoskopidir (16,17,20). Laparoskopi sırasında bütün pelvik organlar, subseröz ve intramural myomlar, peritubal ve periovaryen adezyonlar ve endometriosis olup olmadığı görülür. HSG’deki anormal bulguların doğruluğunun saptanması için laparoskopi uygulanmalıdır. Laparoskopi sırasında metilen mavisi veya indigo karmen gibi bir boya maddesi serviksten verilip, fimbrial geçişine bakılarak tubal açıklık değerlendirilir. Ayrıca gelişmiş optik ve büyütme sistemi ile operatif cihazlar yardımıyla tubal obstruksiyon, pelvik adezyon ve endometriosis tanısı konulup aynı anda tedavi edilebilir. Klasik infertilite araştırmasında kadında önerilen en son tetkik laparoskopi ile endometriosisin ve diğer pelvik patolojilerin araştırılmasıdır (16,92).

Histeroskopi

Histeroskopi fertiliteye olumsuz etkisi olan intrauterin patolojilerin tanı ve tedavisinde kesin sonuç veren bir yöntemdir. Gözden kaçırılmış intrauterin patolojiler saptanabilir. Eğer HSG veya bir patoloji görülmüş ise tanısal ve operatif histeroskopi yapılabilir. Histeroskopi ile intraservikal ve intrauterin lezyonlar değerlendirilir ve aynı seansta cerrahi işlem uygulanabilir (16,92).

Sonohisterografi

Tubal açıklığı değerlendiren bir başka yöntem ise sonohisterografidir. Uterus kavitesini değerlendirmede faydalıdır fakat tubaların durumu hakkında değeri sınırlıdır (16).

2.3.2. Erkek Hastanın Değerlendirilmesi

Hastanın öyküsü ayrıntılı olarak alınmalıdır. İnfertilite öyküsü, cinsel yaşam öyküsü, çocukluk çağı hastalıkları ve gelişim öyküsü, enfeksiyonlar, geçirilmiş operasyonlar, gonadal toksinlere maruziyet, sistemik hastalıklar, kullanılan ilaçlar ve aile öyküsü alınmalıdır. Erkek infertilitesi değerlendirilirken tıbbi ve üreme öyküsü, bir ürolog ya da bu konuda uzman kişi tarafından yapılmış fizik muayene ve en azından iki semen analizi gereklidir. Sonuca göre infertilitenin etyolojisine göre ek testler istenebilir. Bu testleri, ek semen analizi, endokrin değerlendirme, postejakulatuar idrar analizi, ultrasonografi, semen ve spermle ilgili özel testler ve genetik tarama olarak sayabiliriz (16,17,20).

Öykü ve Fizik Muayene

Genel fizik muayene değerlendirmenin önemli bir bileşenidir. Burada cinsel organlarla ilgili şu özelliklere dikkat edilmelidir (16).

- 1) Penis muayenesi, üretral meatusun yeri
- 2) Testislerin palpasyonu ve büyüklükleri
- 3) Vas deferenslerin ve epididimislerin varlığı ve yapısı
- 4) Varikosel varlığı
- 5) Vücut yapısı, kıl dağılımı ve meme gelişimi gibi sekonder seks karakterleri
- 6) Dijital rektal muayene

Tanısal Testler

İnfertil çiftlerin % 48'inde erkeğe bağlı bir faktörün olması erkek fertilizasyon potansiyelinin araştırılmasını bir ön koşul olarak beraberinde getirmektedir (16).

Klasik Semen Analizi

Erkek fertilizasyon potansiyelinin araştırılmasındaki ilk adım en az 4 hafta ara ile uygun yapılmış 2 semen analizi olmalıdır.

Bazı semen değişkenleri için terminoloji şu şekildedir (93):

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

Bu konu WHO tarafından bir kitap halinde hazırlanmış ve dünyada en çok kullanılan referans kitap haline gelmiştir (Tablo 2.2.) (93).

Tablo 2.2. Semen incelemesinin normal değerleri (93)

| Parametre | Alt Referans Limiti |
|---|---------------------|
| Semen Hacmi (mL) | ≥ 1.5 (1.4-1.7) |
| Ph | ≥ 7.2 |
| Sperm Konsantrasyonu (10^6 /mL) | ≥ 15 (12-16) |
| Total Sperm Sayısı (10^6 / ejakülat) | ≥ 39 (33-46) |
| Toplam motilite (PR + NP, %) | ≥ 40 (38-42) |
| Progresif Motilite (PR, %) | ≥ 32 (31-34) |
| Sperm morfolojisi (normal formLar, %) | ≥ 4 (3.0-4.0) |
| Peroksidaz-pozitif lökositler (10^6 / ml) | < 1.0 |
| MAR testi (bağlı bulunan motil spermatozoa, %) | < 50 |
| Immunobead testi (bağlı bulunan motilspermatozoa,%) | < 50 |
| Seminal zinc (mol/ejakülat) | 2 .4 |
| Seminal fructose (mol/ejakülat) | 1 3 |
| Seminal nötral glukozidaz (mU/ejakülat) | 2 0 |

PR: progresif motilite; NP: non-progresif motilite

WHO Laboratory manual for the examination and processing of human semen-5. Baskıdan alınmıştır.

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

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

Semen analizinin en önemli kısmını ise mikroskopik inceleme oluşturmaktadır. Kruger ve arkadaşları tarafından 'Strict' kriterleri ile morfoloji değerlendirilmesinin tanımlanmasıyla bu parametre giderek artan bir önem kazanmıştır. Kruger'e göre morfoloji % 4 den az, % 4-14 ve % 14 den fazla olarak sınıflandırılmaktadır.

Normal morfoloji % 4'den az olduğunda IVF ile her oosit başına fertilizasyon oranı % 7,6 iken, % 14'den büyük olanlarda oran % 63,9'a yükselmektedir (93,94).

Endokrin Değerlendirme

Normal semen analizi olan kişilerde genelde hipotalamus-hipofiz-testis aksında bir bozukluk yoktur. Her erkeğe rutin endokrin değerlendirme gerekli değildir. Minimum hormonal değerlendirme için, serum FSH ve testosteron düzeylerinin ölçülmesi yeterlidir. Hormonal düzey ile altta yatan patolojiyi öngörmek mümkün olabilir. Belirgin FSH yüksekliği ve 5 milyon/ml altında sperm sayısı varlığı testiküler yetmezliğin bir göstergesidir. FSH, LH ve testosteron düzeylerinde düşüklük olması kazanılmış hipogonadotropik hipogonadizmi düşündürür. Bu, prolaktinomaya veya nonfonksiyone bir hipofiz tümörüne bağlı olabilir (16,20).

Post-ejakulatuar İdrar Analizi

Ejakulat volümü 1 ml'nin altında veya hiç ejakulat yok ise retrograd ejakulasyon, ejakulatuar kanal obstrüksiyonu, hipogonadizm veya bilateral konjenital vas deferens agenezisi ayırıcı tanıda düşünülmelidir. Hipogonadizm ve bilateral konjenital vas deferens agenezisi tanısı ekarte ediliyorsa retrograd ejakulasyon tanısını koymak için post-ejakulatuar idrar analizi yapılmalıdır. Ancak ejakulatın uygun şekilde ve uygun sürede alınmış olmasından emin olunmalıdır. Post-ejakulatuar idrar analizinde sperm görülmesi aspermili veya azospermili bir hastada

retrograd ejakulasyon tanısını koydurur. Ancak henüz idrarda en az kaç sperm görülmesi gerektiği konusunda tam bir fikir birliği yoktur. Genel kabul her sahada 5-10 sperm görülmesi yeterlidir (95).

Ultrasonografi

Transrektal USG, post-ejakulatuar idrar analizinde sperm görülmeyen, serum testosteronu normal olan, fizik muayenesinde palpe edilebilen iki taraflı vas deferensleri bulunan düşük ejakulat volumlü bir hastada yapılmalıdır (96).

Genetik

Erkek infertilitesinin % 40'nın nedeni bilinmemekle birlikte, genetik faktörler bu nedenler arasında önemli bir yer tutmaktadır. Sayısal ve yapısal kromozomal düzensizliklerine, sebebi bilinmeyen oligozoospermik ve azoospermik olgularda sık rastlandığı bilinmektedir (97,98).

2.4.Yardımla Üreme Teknikleri

IVF, oositlerin overlerden toplanıp, ekstrakorporal olarak fertilize edilip oluşan embriyonun uterus içerisine yerleştirildiği bir yardımla üreme tekniğidir. IVF teknikleri kullanılarak daha fazla sayıda hareketli sperm oositlerle küçük kültür ortamlarında birlikte enkübe olmaları sağlanır ve böylece döllenme şansı artmış olur (99).

Endikasyonlar, tubal faktör, endometriosis, erkek faktörü, açıklanamayan infertilite, immünolojik infertilite olarak sınıflanabilir. IVF uygulamalarında başarıyı etkileyen major faktörlerden birisi olan yaş, özellikle 35'in üzerinde olduğu zaman, negatif yönde etkileyici bir parametre olabilmektedir. Özellikle ovaryan cevabın azalması, gelişen follikül sayısının ve elde edilen oosit sayısının yeterli ve uygun kalitede olmaması, 40 yaş altında 3'den fazla follikülü olanlarda canlı doğum oranlarının % 32'lerden 40 yaş üzerinde 3'den az follikülü olanlarda % 4'lere düşmesine neden olmaktadır (100,101).

Son yıllarda infertiliteye yönelik tedavilerde IVF ve YÜT'de ciddi yenilikler ve ilerlemeler olmuştur. IVF uygulamaları ciddi tubal hasar, ileri erkek faktörü gibi başka yolla tedavi edilemeyecek mutlak endikasyonları yanında diğer tedavilerin

başarısız olduğu multifaktöriyel infertilite durumlarında da kullanılmaktadır. YÜT ile, prematür over yetmezliği veya ileri yaşta over rezervinin tükendiği durumlarda oosit bağıışı ile çiftlere çocuk sahibi olma imkanı sunulmaktadır (102,103).

Dutch Society of Obstetrics an Gynecology, IVF-ICSI endikasyonları konusunda guidelinee yayınlamıştır (Tablo 2.3.) (104).

Tablo 2.3 . Dutch Society of Obstetrics and Gynecology: IVF-ICSI endikasyonları

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

İntrasitoplazmik Sperm İnjesiyonu;tek bir spermin çok ince bir pipet yardımıyla oosit sitoplazmasına enjekte edilmesi olarak tanımlanan ICSI yönteminin yardımcı üreme tekniklerine katılması önemli bir başarı olmuştur. Erkek faktörü infertilitesinde önemli bir dönem başlamış, embriyologların oosit ve sperm ile daha yakından çalışması sağlanmıştır. Bununla beraber IVF yapılmasına karşın

fertilizasyon başarısızlığına bağlı olarak gebelik elde edilemeyen önemli sayıda hastalarda fertilizasyonu sağlamak için çeşitli mikromanüplasyon teknikleri geliştirilmiştir. ICSI endikasyonları Tablo 2.4.'te görülmektedir (104).

Tablo 2.4. ICSI endikasyonları

1. Şiddetli oligo-asteno-teratozoospermi
2. Geçirilmiş başarısız IVF öyküsü
3. Antisperm antikolar
4. Ejakulatuvar disfonksiyonlar (elektroejekülasyon, retrograd ejakülasyon)
5. Bilateral vas deferenslerin konjenital yokluğu
6. Bilateral ejakulatuvar duktus obstrüksiyonu
7. Young sendromu
8. Testiküler yetmezlik nedeniyle (matürasyon arresti, germ hücre aplazisi) azospermi
9. Başarısız vazo-vazostomi ve vazo-epididimostomi sonrası
10. Ejakulatta nekrozoospermi
11. Fibröz nedeniyle epididimal sperm toplanamaması
12. Globozoospermi (ICSI'de bile başarı oldukça düşük)
13. İmmotil silia sendromu (yarısı Kartegener Sendromu: situs inversus, bronşektazi, kronik sinüzit)

2.5.YÜT Başarısını Belirleyen Faktörler

Primordial folliküllerin yaşla birlikte programlı hücre ölümü sonucu kaybı over rezervini düşürür. Özellikle 37 yaşın üzerinde follikül kaybı hız kazanır ve bu hızlı kayıp menopoza kadar devam eder (105). Birçok çalışmada tek başına yaş faktörünün over rezervini öngörmeye en etkili faktör olduğu gösterilmiştir (106,107). Aynı zamanda kronolojik yaş, embriyo implantasyonu ve abortus oranlarını belirlemede iyi bir prediktördür (108,109).

Bazal serum FSH düzeyi over rezervini öngörmeye bağımsız değişkenlerdendir. 20 IU/ml üzerinde bazal serum FSH düzeyleri varlığında gebelik olasılığı çok düşük bulunmuş ve 25 IU/ml üzerinde ise devam eden gebelik olasılığının bulunmadığı rapor edilmiştir. Kontrollü ovaryen hiperstimülasyon

(KOH) yanıtında bir başka etken bazal serum E_2 düzeyidir. 20 pg/ml altında ve 80 pg/ml üzerinde siklus iptal oranları yüksek olmakla birlikte gebelik olasılığını öngörmeye etkili bulunmamıştır. FSH ölçümü ile birlikte değerlendirilmesi daha sensitiftir (16,72,88). Genel olarak FSH ve antral follikül sayısı (AFC) ovaryan rezervi yaştan daha iyi predikte ederken, kronolojik yaş embriyo implantasyonu olasılığını öngörmeye daha etkili bulunmuştur (110).

Foliküler sıvıdaki AMH düzeyi fertilize oositlerde fertilize olmayanlara göre 3 kat daha fazladır (111,112). Ayrıca indüksiyon siklusunda endometrial kalınlık ve değişim paternlerinin de gebeliği öngörmeye etkili olabileceği bildirilmiştir. Stimülasyonun 6. gününde artmış endometrial kalınlık ve hCG günü endometrial kalınlığının IVF başarısında iyi bir prognostik faktör olabileceği bildirilmiştir (113).

2.5.1.Over Rezervi Tayini

Yetersiz follikül gelişimi, oosit kalitesinin kötü olması olarak adlandırılan ovaryen rezerv azalması ve bunun tespit edilerek hastaların yönlendirilmesi büyük önem kazanmaktadır (114). Azalmış over rezervi ve buna bağlı azalan reproduktif potansiyelin başlangıç zamanı çok değişken olabilir. Gebe kalamama oranı 25 yaşın altında %6 iken, 36-40 yaşlarında %43'dur. Yaşla over rezervi azalması arasında bir ilişki olmasına rağmen sadece yaşa bakarak hastaya tedavi sonucu hakkında bilgi vermek ve tedaviyi yönlendirmek yanlış olur (16,17,20).

2.5.2.Gonadotropinlere Cevap

Yaş ilerledikçe overlerdeki folliküllerin sayısında azalma ve hızlı kayıpları söz konusudur. Over rezervlerinin azaldığı durumlarda gonadotropinlerle stimülasyonda follikül kümelerinin aktivitelerinin düşük olacağı düşünülmektedir. Norfolk grubu iyi standardize edilmiş bir gonadotropin stimülasyon programına cevaba göre görünüşte normal kadınları prognostik kategorilere ayırmıştır. Kötü cevabı olanlar (düşük E_2 seviyeleri olanlar) daha az follikül geliştirmişler, bunlardan elde edilen az miktardaki oositlerin kaliteleri bozuk bulunmuş dolayısıyla gebelik oranlarında düşük olarak tespit edilmiştir. Overin kendisinden kaynaklanan bu cevap durumu doz arttırılsa bile düzeltilememiştir. Gonadotropinlerle stimülasyona overlerin verdiği yanıt over rezervini iyi bir şekilde yansıtmaktadır. Fakat prognostik

bilgilenme, tedavi sonrası retrospektif olarak elde edilebilmekte ayrıca invaziv, pahalı ve nadir de olsa ciddi yan etkilere sahip bir yöntem olduğunda tarama yöntemi olarak kullanımı kısıtlanmaktadır. Daha basit, güveni daha az invazif bir tarama yöntemi daha iyi klinik değere sahip olacaktır (88).

2.5.3.GnRHa (Gonadotropin Serbestleştirici Hormon Agonisti) Uyarı

Testi

1 mg GnRH–A uygulaması sonrasında 2. gün seviyelerine göre 2 kat artan E₂ düzeyi tespit edildiğinde olgulardan daha fazla oosit toplanabildiği, gebelik oranlarının da arttığı belirtilmiştir (114).

2.5.4.Bazal FSH Seviyesi

Bazal FSH ile gebelik oranlarını ilk araştıranlardan Muasher ve ark. bazal gonadotropin tayininin stimülasyon kalitesi için iyi fakat gebelik oranları için iyi olmayan prediktif değere sahip olduğunu vurgulamışlardır. Fakat bu çalışma az sayıda olgu ile yapılmıştır (115). Scott ve ark. 758 IVF siklusunda yaptıkları geniş çalışma sonucunda bazal FSH’i yüksek olanlarda, gebelik oranını düşük bulmuşlardır. Devam eden gebeliklerin hepsinde de FSH 15 mIU/ml altında idi, gebelik oranını FSH 25 mIU/ml üzerinde olan olgularda %5’lere düşmekteydi. FSH 15-24.5 mIU/ml arasında olan grup orta grup olarak isimlendirildiğinde, devam eden gebelik oranları düşük, orta ve yüksek FSH gruplarında sırasıyla %17, %9.3, %3.6 olarak bulunmuştur (90). Gebelik oranlarının düşmesi azalmış over rezervi dolayısıyla daha az follikül gelişmesi daha az oosit oluşması ve daha az embriyo elde edilmesi nedeniyledir. Yaşın önemli bir prediktif değeri tespit edilememiştir. Böylece bazal FSH seviyelerini overlerin cevabını değerlendirmede ve muhtemel gebeliği tayin etmede tedavinin riskine ve masrafına katlanmadan önce belirleyici olduğu vurgulanmaktadır (90).

Bazal FSH taramasının kesin fizyolojik temeli bilinmez, inhibin aktivitesindeki değişiklikleri yansıtır olabilir. İnhibin seviyelerinde yaşla ilgili değişiklikler saptanmasına rağmen bazal seviyelerde değişiklikler bulunmamıştır (116). Tek bir ovaryen ürünün bazal FSH seviyesinden sorumlu olmadığı bir gerçektir. Bazal FSH seviyesinin rutinde kullanımını bazı soruları akla getirmektedir.

Sikludan siklusa bazal FSH seviyelerinde değişme dolayısıyla hastaların prognostik kategorilerinde değişme olmakta mıdır? Scott ve ark. bu konuda yaptıkları çalışmada bazal FSH'sı düşük olanlarda (<15 mlu/ml) sikluslar arası değişimin düşük olduğu, bazal FSH'sı yüksek olanlarda (>25 mlu/ml) bu değişkenliğin daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Bu oynamaların hastaların prognostik kategorilerini değiştirmediğini belirlemişlerdir.

2.5.5.Eksojen FSH Ovaryan Rezerv Testi

Adetin 3. gününde serum E₂ ve FSH düzeyleri tespit edildikten sonra 300 IU FSH enjeksiyonu yapılır. Bir gün sonra ölçülen serum E₂ düzeyindeki artış miktarına göre değerlendirme yapılır (113).

2.5.6.Klomifen Sitrat “Challenge Test”

35 yaşın üzerindeki kadınların over rezervlerini tayin etmek için önerilmiştir. Klomifen sitrat (siklusun 5-9 günleri arası 100 mg/gün) vermeden önce ve verdikten sonraki 3. ve 10. günlerde FSH, LH, E₂ seviyelerine bakılmıştır. Anormal test 10. günkü yüksek FSH değerleri olarak tarif edilmiştir.

Loumaye ve ark. klomifen sitrat challenge test sonuçlarını 3. ve 10. gün FSH değerlerini toplayarak değerlendirmişlerdir. Toplanmış FSH değeri 26 mlu/ml üzerinde ise gebelik oranı sıfır olarak bulunmuştur (117,118).

2.5.7.İnhibin B Değerlendirmesi

Overlerden salgılanan İnhibin B granüloza hücre ürünü olup gelişen follikül kümesi tarafından salgılandiğı düşünölmektedir. Bu yüzden İnhibin B seviyeleri over rezervi ile korele olabilir (88). İnhibin B'nin FSH salınımını inhibe ettiği bilinmektedir. İlerleyen yaş ve azalan over rezervi ile paralel olarak İnhibin B seviyesinin azaldiğı gösterilmiştir.İnhibin B düzeyi 45 pg/ml ve altında olan olgularda gebelik oranlarının düşük olduğu gösterilmiştir (116,119).Seifer ve ark. 156 infertil kadın üzerinde yaptıkları bir çalışmada adetın 3. günü FSH değerleri normal olan ancak İnhibin B seviyesi düşmüş kadınlarda over rezervinin ve over cevabının azaldiğını göstermişlerdir (120).

2.5.8.Over Rezervinin Değerlendirilmesinde Ultrasonografi (AFC ve OV)

Over hacmi ve antral follikül sayısı artıkça over rezervinde arttığı düşünülmektedir (111). Antral folliküllerin yayınlanmış çapları 2-10 mm ve 2-5 mm'dir. Sharara ve ark. yaptıkları bir çalışmada yaş ile FSH değerleri arasında pozitif korelasyon, FSH değerleri ile antral follikül sayısı arasında da pozitif korelasyon saptamıştır. Kötü over yanıtının tahmininde AFC'nin FSH'ya üstünlüğü gösterilmiştir (121).

2.5.9.Over Biyopsi

Biyopsi ile overdeki follikül sayısı ve yoğunluğunun değerlendirildiği bir çalışmada ise follikül sayısı ve over hacminin yaşı ileri olanlarda azaldığı bulunmuştur (122).

2.5.10.Bazal E₂ Değerlendirilmesi

Rezerv tahmininde önemlidir. Çünkü birincisi, yüksek seviyeler hastanın follikül gelişmesinin daha ileri safhalarında olduğunu gösterecektir. Follikül seçiminin ve recruitmentın ilerlemiş evrelerinde olanlar eksojen gonadotropin tedavisi ile kurtarılabilen kümede daha az folliküle sahip olabilecektir. İkinci olarak, yüksek E₂ dolaşımdaki gonadotropinleri azaltacaktır. Perimenopozal dönemdeki kadınlarda folliküler faz kısalmış ve adet 3. gününde ileri folliküler gelişim vardır. Dolayısıyla yüksek bazal E₂ hastanın menopoza yaklaştığını gösterir ve şansının azaldığının işareti sayılır. Üçüncü gün E₂ değeri 80 pg/ml'yi geçince gebelik elde edilememiştir. 45pg/ml üzerinde ise devam eden gebelik saptanmamıştır (111).

2.5.11.Antimüllerian Hormon (AMH)

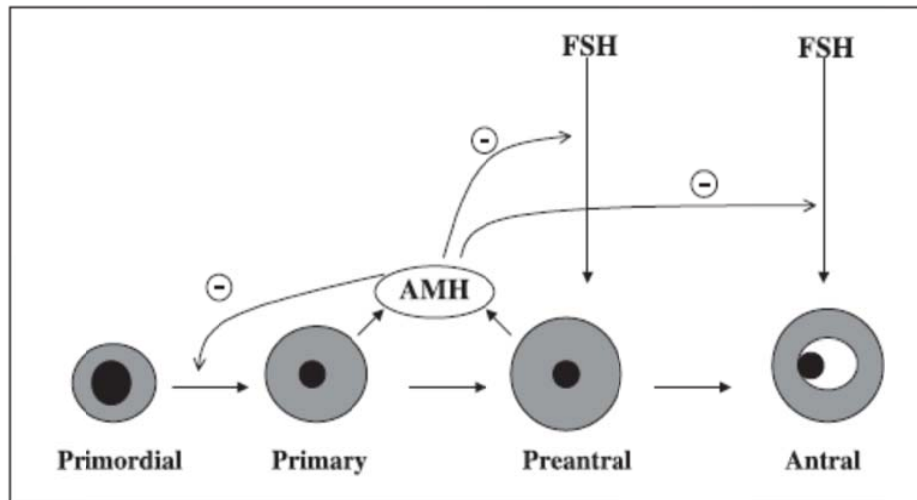
AMH'nin Yapısı, Genetiği Ve Etki Mekanizması: MIS (Müllerian İnhibiting Substance) diye de adlandırılan AMH kadın overlerinde granüloza hücrelerince sentezlenir ve Transforming Growth Factor Beta (TGF- β) ailesinin bir üyesi olarak kabul edilir (123). AMH'nin over folliküllerinin büyüme ve gelişiminde çeşitli büyüme faktörleri ile bağlantılı olduğu, diğer TGF- β aile üyelerinin sahip oldukları özellikleri sergilediği belirtilmektedir (124). Özellikle granüloza hücreleri tarafından

lokal olarak üretilen AMH ve İnhibin B gibi büyüme faktörlerinin folliküler büyüme ile yakından ilişkili oldukları görülmektedir (125).

İlk çalışmalar AMH'nın folliküler hormon yapımında etkili olduğunu göstermiştir. Kadın folliküllerinin büyüme ve gelişiminde çeşitli büyüme faktörlerinin bağlantılı olduğu TGF- β ailesinin onların sahip oldukları fonksiyonları kullandığı ve gonadotropin salınımına neden olan sinyallerle birbirlerini etkiledikleri belirtilmektedir (126). Antral fazın ilerleyen döneminde AMH'nın görülmesi kaybolur, pre-ovulatuvar folliküllerde ve korpus luteumda da AMH tespit edilemez. Dişi bireyde embriyogenesiste AMH'nın yokluğu tuba, serviks, uterus ve vajinanın üst kısımlarının gelişimine izin vermektedir (127).

AMH teka hücrelerinde testosteron yapımını azaltırken, overyan aktivitesi üzerine de düzenleyici etkisi vardır. AMH'nın müllerian kanaldan elde edilen dokunun büyümesini inhibe etme yeteneğinin olmasından dolayı endometriosis, adenomyosis, uterus kanseri dahil çeşitli hastalıklarda hormonun tedavisel yaklaşımında faydalı olabileceği ifade edilmektedir (128).

Folikülogenesiste AMH'nın Rolü: Primordial folliküllerin sınırlı populasyon miktarı fetal yaşam boyunca oluşturulur. Germ hücreleri oositlerin maksimum sayısına kadar 10–15 kez bölünmektedir. Menarş dönemine 300.000–500.000 kadar oositle girilir. Primordial folliküllerin kaybindan sonra sınırlı kalan follikül stoğu, primordial folliküllerin büyüme fazına girmesi ya da atreziye uğramasıyla da ayda yaklaşık 1000 follikül kaybı sürmektedir. Bu aylık kayıp oranı 35 yaşından sonra daha da artabilir (129).



Şekil 2.4. AMH'nın folliküller üzerinde düzenleyici rolü

Durlinger, A.L., Gruijters, M.J., Kramer, P., Karels, B., Ingraham, H.A., Nachtigal, M.W., et al . Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology* 2002;143:1076–84.

Son bulgular AMH'nin üreme çağındaki kadında hayati önemi olduğunu göstermektedir. AMH primordial follikül havuzun azalmasında ve folliküllerin primordial safhadan büyüme safhasına geçiş hızının düzenlenmesinde önemli role sahip olduğu görülmektedir. AMH, primordial follikül havuzunun tüketilme hızını yavaşlatarak koruyucu bir rol oynamaktadır. Erken antral dönemde de FSH'ya bağlı follikül büyümesini inhibe ederek, folliküllerin büyüme hızını düzenlemektedir. Hiperstimülasyon durumunda serum AMH düzeylerinde belirgin azalma meydana gelmekte, küçük antral follikül sayılarında azalma, büyük dominant follikül sayılarında artış olmaktadır. AMH düzeyleri <12 mm folliküller ile korele iken, ≥ 12 mm folliküller ile korelasyon göstermemektedir (129,130).

AMH eksikliğinin sonucu olarak daha fazla primordial follikül FSH tarafından stimüle edilir. Böylece daha fazla follikül gelişme evresine girmektedir. Overlerinde AMH bulunmayan kız çocuklarının (genelde 13-14 yaşında) primordial folliküllerinin tümü kaybedilir. Sonuç olarak overlerde büyüyecek hemen hemen hiç follikül kalmaz (131). AMH, over rezervinin değerlendirilmesinde, granüloza hücreli tümörlerin saptanması ve takibinde, puberte prekoks ve gecikmiş pubertenin tanınmasında, kriptoorşit ve anorşit tanısında, her yaşta erkek gonad fonksiyonunun değerlendirilmesinde klinik çalışmalarda kullanılmaktadır (132,133,134,135). AMH'nin over rezervi ve IVF'in klinik sonuçlarına etkisi üzerine pek çok çalışma yapılmıştır. Van Rooij ve ark. yaptıkları çalışmada over rezervi azalmış, IVF'de kötü cevaplı hastalarda serum AMH konsantrasyonlarında azalma göstermişlerdir (136,137).

2.5.12.GnRHa Stimülasyon Testi (GAST)

Test leuprolid asetat 1 mg (sc) verildikten sonra siklusun 2. gününden 3. gününe kadar E₂ değişikliklerinin tespitini içerir (138). Gebelik oranlarının test süresince artan E₂ değerleri ile ilişkili olduğu vurgulanmıştır. Pahalı olması testin kullanımını kısıtlamaktadır ayrıca değerinin ispatlanması için de ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kısaca over rezervini taramak için endikasyonlar şöyle özetlenebilir (16):

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

Over rezervi taramasında prognozu kötü tespit edilen gruptaki hastalara tedavi ile düşük gebelik şanslarının olduğu açıklanmalıdır. Buna rağmen hasta tedavinin devamında ısrarlı ise hastanın, başarılı olma şansının az olduğu bilgisi içinde, tedaviyi kabullenmesi halinde tedavi yapılabilir (139).

2.5.13.Oosit Gelişim Potansiyeline Etkili Follikül Sıvısı Belirteçleri

Kontrollü ovaryan stimülasyonu için gonadotropin tedavisi esnasında folliküler sıvı içeriği dinamik değişimler gösterir. Ovaryen folliküller gonadotropin uygulamasına göre değişik hormon, büyüme faktörü ve sitokin salgılar. Bu maddeler direkt ya da indirekt olarak oosit viabilitesi ve gelişim potansiyelini etkiler (140,141).

2.6. Kontrollü Ovaryen Hiperstimulasyon

Değerlendirilen kadın olgunun ultrasonografisine göre overleri stimüle edecek ilaçların başlanmasını, follikül takibini, uygun büyüklüğe gelen oositlerin çatlatılmasını amaçlar (142).

2.7.YÜT Siklusunda Tedavi Protokolü

Long protokol (uzun etkili GnRH agonisti ile down regulasyon sonrası eksojen gonadotropin uygulaması) :Uzun etkili GnRH agonistleri, endojen hipofizer gonadotropin sekresyonunu suprese eder (143). Böylece eksojen gonadotropin stimülasyonu sırasında gelişebilecek prematur LH yükselişi engellenmiş olur. Bu uygulama sayesinde hastanın uyumunu zorlaştıran sık sık LH ölçümüne gerek kalmadığı gibi, siklusların %20 inin iptaline neden olan prematur lüteinizasyon da engellenmiş olur (144). GnRH agonist down regulasyonundan sonra siklusların sadece <%2 inden azında prematur LH yükselmesi izlendiğinden, foliküller yeterince

büyüyene kadar stimulyasyon devam edebilir. Tek dezavantajı, uzun süreli agonist tedavisinin, takip eden eksojen gonadotropin tedavisine yanıtı azaltmasıdır(145). Dolayısıyla uygun foliküler gelişimi sağlamak için kullanılan total gonadotropin dozu ve miktarını arttırmak gerekebilir. Alışlagelmiş tedavi protokolünde GnRH agonist tedavisine, midluteal fazda (ovulasyondan 1 hafta sonra) başlanır (146,147). Bu dönemde endojen gonadotropinler en düşük seviyelerindedir. GnRH agonist tedavisi (örneğin 1 mg/gün dozunda leuprolid asetat) adet dönemine yada gonadotropin stimulyasyonuna kadar uygulanır. Daha sonra HCG uygulama gününe kadar yarı dozda devam edilir(148). GnRH agonist uygulaması ile depolanmış hipofizer gonadotropinler birden salınır (flare etki). Ancak bu hafif artışın, foliküler gelişimi sağlayabilecek bir etkisi yoktur. Agonist tedavisine luteal fazda başlandığında, gonadotropinlerle daha çok folikül ve oosit elde edilebilmektedir . Yine bu şekilde uygulandığında oosit ve embryo sayısı artar. GnRH agonist tedavisine ideal başlama zamanı 28 günlük siklusu olan kadınlarda siklusun 21. günüdür. Kullanımdaki GnRH agonistleri :Leuprolid asetat-subkutan uygulanır. Nafrelin asetat-intranasal uygulanır. Buserelin asetat- s.c/ intranasal uygulanır (149). Triptorelin asetat-s.c uygulanır. Bütün agonistlerin etkilerinin eşit olduğu bildirilmiştir. Kullanımda olan gonadotropinler üriner FSH, rekombinant FSH, üriner menotropin (hMG)dir. Hepsi subkutan uygulanır. Fakat menotropin (hMG) tercihen intramuskuler kullanılır (150). Step-up ya da step-down protokolu kullanılabilir ancak step-down protokolu daha çok tercih edilen protokoldür. Foliküler steroidogenez için gereken LH dozu, LH reseptörlerinin %1 inin bağlanmasıyla sağlanır. Dolayısıyla GnRH agonist tedavisi sonrasında yine de az da olsa salınan LH, folikülogeneze yardım etmeye yeter (uFSH veya rFSH ile stimule edilen). Ancak iyice suprese olmuş sikluslarda, LH konsantrasyonları yeterli olmaz. Sadece FSH ile tedavi edilip bu tedaviye cevap vermeyen hastalarda rFSH + rLH tedavisi denenebilir(151). Sadece FSH tedavisi ile tedavi edilip LH seviyelerinin iyice azaldığı vakalarda (<1 IU/L), kullanılan total gonadotropin dozu ve süresi artar, E2 seviyesi azalır, oosit ve embryo sayısı azalır (153). Bunun dışında fertilizasyon, implantasyon ve gebelik oranları da azalmaktadır. Stimulyasyona cevap, E2 ve USG ile takip edilir. İlk E2 ölçümü gonadotropin uygulamasından 3-5 gün sonra yapılır ve 1-3 gün arayla tekrarlanır. Birçok kadına 7-12 gün stimulyasyon gerekir. Amaç, 17-18

mm çapında, en az iki ve 14-16 mm çapında birkaç tane folikül sağlamak ve kohortun büyüklüğüne ve matüritesine uygun E2 seviyelerine ulaşmaktır (Örn:14 mm'lik folikül için yaklaşık 200 pg/ml E2). Foliküller hazırlandığında, hCG 5000-10000 mIU dozunda uygulanır (Rekombinant formu 250 microgram)(154).

GnRH agonist ve eksojen gonadotropinin ardışık uygulanması (kısa = flare protokol):Bu protokolda leuprolid asetat 1 mg / gün dozunda , siklusun 2-4. günlerinde uygulanır. Daha sonra doz 0.5 mg/ gün dozuna düşürülür. Siklusun 3. günü ise 150-450 IU gün dozunda gonadotropin stimülasyonuna başlanır (155).

Ultra - kısa protokol:3 gün agonist uygulamasıyla flare cevap alınır daha sonra agonistler kesilerek sadece gonadotropinlerle tedaviye devam edilir. Endojen gonadotropin baskılanması için yeterince uzun süre GnRH agonisti kullanılmadığı için prematür LH yükselmesi daha sık gözlenir (156,157).

Eksojen gonadotropin + antagonist protokol: GnRH agonistleri reseptör down regülasyonu ile gonadotropinlerin GnRH'a karşı desensitize olmasını sağlar böylece gonadotropin sekresyonu önce stimüle sonra inhibe olur (158). Antagonistler ise GnRH reseptörlerini doza bağlı kompetitif şekilde bloke eder, flare etki yaratmaz ve gonadotropinleri suprese eder .Ganirelix ve cetrorelix klinik kullanımda olan GnRH antagonistleridir. Prematür LH yükselmesini önleyen minimum doz 0.25mg/gün'dür. Subkutan olarak uygulanır(159,160). Tedavi, gonadotropin stimülasyonunun 5- 6. gününden sonra başlar (sabit protokol- bu protokolle agonistler kadar kuvvetli şekilde LH yükselmesi önlenabilir) ya da hastanın cevabına göre düzenlenir (esnek protokol-önde giden folikül 13-14 mm olduğunda tedaviye başlanır- bu protokol overyan stimülasyonu kolaylaştırır).Tedavi kişiselleştirildiğinde, kullanılan total gonadotropin dozu daha az olup, sonuçlar daha başarılı olmaktadır (161). Esnek rejimin uygulandığı bir çalışmada elde edilen oosit sayısının ve klinik başarının arttığı bildirilmiştir. Daha sonra sabit ve esnek protokolün kıyaslandığı bir çalışmada (PCOS ve zayıf yanıtli hastaların dahil edilmediği bir çalışma) elde edilen total oosit sayıları, kullanılan total gonadotropin dozu ve uygulama süresi, embryo kalitesi, fertilizasyon oranları ve klinik gebelik oranları açısından anlamlı bir farklılık

bulunmamıştır ancak istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmese de klinik gebelik oranları esnek protokolde daha azdır (162,163).

Mikrodose flare-up protokolü (OKS+ mikrodoz + GnRH agonist) :14-21 günlük OKS supresyonunu takiben mikrodoz olarak hazırlanmış leuprolid asetat, siklusun 1. günü, 40 microgr günde 2 kez olacak şekilde başlanır (164). Siklusun 1.günüden HCG gününe kadar uygulanır. Leuprolid tedavisinin 3.günü yüksek doz (300-450 IU/gün) gonadotropin başlanır. Bu tedavi kısa protokole göre daha avantajlıdır (165).Uygulanan GnRH agonist dozu düşük olduğundan ve OKS ile cevap verebilecek corpus luteum oluşması engellendiğinden serum progesteron ve androjen konsantrasyonlarında artış olmaz (166).Serum FSH değerinde dramatik artışlar izlenen, zayıf cevaplı olgular için iyi bir protokoldür. Siklus iptal oranı azalır, serum tepe E2 seviyesi, transfer oranı, klinik ve devam eden gebelik oranları artar (167). Yedi klinik çalışmayı içeren metaanalizde kısa ve uzun GnRH agonist tedavisinin benzer iptal ve gebelik oranlarının olduğu bildirilmiştir (168).

Klomifen sitrat + eksojen gonadotropin +GnRh antagonisti tedavisi:zayıf yanıtli olgularda elde edilen oosit ve kalitesini buna bağıli olarak gebelik şansını artırabilmek için yeni stimülasyon protokolleri geliştirilmiştir(169,170).Beş gün 100 mg/gün dozunda klomifen sitrat tedavisine ek olarak, düşük doz eksojen gonadotropin tedavisi başlanır. Erken LH yükselmesini engellemek için GnRH antagonisti de tedaviye eklenir(171,172).

2.8. IVF' de Ultrasonografi

Over Follikül Rezervinin Değerlendirilmesi

Ovaryen rezerv veya uyarılabilecek follikül sayısındaki azalma, azalan fertilitenin primer nedenidir. Fakat USG'nin menstrüel siklusun spesifik dönemlerinde antral follikül sayısını tahmin etmek için kullanılabileceğini ve ek, kullanışli, güvenilir klinik bilgi sağlayacağını gösteren yeni birçok kanıt vardır. USG değerlendirmesi, antral follikül sayısı ve over volümünün ölçümü ile yapılır. Postmenstrüel 3 ile 7. günde yapılan erken folliküler faz antral follikül sayımı, eksojen gonadotropinlerle stimülasyon sırasında gelişebilecek follikül sayısını

tahmin etmede kullanılabilir (173,174). Ovaryen stimülasyonun başlamasından önce çapı 10 mm'nin altında 5'den az follikül sayısına sahip kadınlar başarı için relatif kötü prognoza sahiptir (175).

İki yada üç boyutlu USG ile ölçülen ovaryen volüm değerlendirmeleri overde kalan primordial follikül popülasyonu ile over volümü arasındaki anlamlı korelasyon olduğu önermesine dayanır (176,177,178). Azalan over volümü, antral follikül sayısı ve artmış FSH ile kombine olan yaş ilerlemesi arasında net bir ilişki gösterilmiştir. Görüntüleme bazlı değerlendirmeleri standardize etmek için yapılacak epey iş varken over rezerv değerlendirmesi ve başarılı ovaryen stimülasyon siklusu ihtimalinin tahmininde USG önemli yer tutar (179).

Ultrasonografi Rehberliğinde Oosit Toplanması (OPU)

IVF'de ultrasonografik görüntülemenin en önemli kullanımı, oositlerin transvajinal toplanması imkanını sağlayan büyük gelişmedir (180,183). Transvajinal proba eklenen rehber içinden aspirasyon iğnesi geçirilir ve vajinal fornikslerden önce birinci sonra ikinci overin içine sokulur. Sıvı aspire edilirken ve iğne follikülün içindeki tüm sıvının çekildiğine emin olmak için hareket ettirilirken follikülün duvarları kollabe olur (181).

Ultrasonografi Kılavuzluğunda Embriyo Transferi

Embriyo transferinde USG ile görüntüleme optimal embriyo yerleşimini ve başarılı gebelik şansını arttırmak için kullanılmaktadır. Ovaryen stimülasyonların etkilerini izleme, protokolleri optimize etme, kolay oosit toplama, embriyo transferi sırasında endometriumu direkt vizüalize edebilme ve direkt embriyo replasmanını görebilme imkanını sağlamaktadır (182).

hCG Günündeki Endometrium Kalınlığı ve Tipi

hCG günü endometrium kalınlığının gebelik oranlarına etkisi tartışmalıdır. Hiperekojen ve homojen görünümlü endometriumlarda gebelik oranları oldukça düşük, iki myometrial sınır ve her iki endometrial yüzeyin oluşturduğu hiperekojen hatlar ve bunlar arasındaki hipoekojen endometriyumun oluşturduğu üçlü çizgi görünümünde endometriumlarda gebelik oranlarının belirgin olarak arttığı bildirilmiştir (183,184). Endometrium 6 mm'nin altındaysa gebelik elde edilme olasılığı çok düşer (185). Bazı yayınlarda endometrial kalınlık 14 mm' nin üstünde

ise implantasyon ve klinik gebelik oranları belirgin derecede düşüş ve abortus olasılığında artış bildirilmekle beraber farklı yayınlarda da endometrial kalınlık artışı ile implantasyon oranlarında bir azalma meydana gelmediği ve implantasyon açısından risk taşıyan bir üst sınırın mevcut olmadığı belirtilmektedir (186).

2.9. Doppler Ultrasonografi

Doppler Teorisi

Doppler etkisi, akustik ya da USG dalgasının frekansının değişmesidir, bu da iletici ve alıcı kaynaklar arasındaki toplam yol uzunluğu değiştiğinde ortaya çıkar .

Doppler kan akımı çalışmalarında aralıklı (pulsed) ses dalgasının yolu üzerindeki kırmızı kan hücreleri USG ışını üzerine farklı etkiler oluşturur. Doku içinde ilerleme hızını da sabit kabul edersek ve Doppler açısı da biliniyorsa, kan akım hızı ölçülen Doppler kaymasından hesaplanabilir. Eğer bu işlem saniyede birçok kez tekrarlanırsa, zamana göre hızdaki değişmeler kan akım hızının dalga formu olarak gösterilebilir (116).

2.10. İmplantasyon Fizyolojisi

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

Proliferatif endometriumdan sekretuar endometriuma geçiş implantasyon için gerekli olan reseptivitenin elde edilmesi için son derece önemlidir. Proliferatif faz ovaryen follikül gelişimi ve östrojen salınımının artımı ile birlikte dir. Steroidal etki sonucu endometrium gelişmesi ve rekonstrüksiyon olur.

İmplantasyon fertilize oositin uterusu girişinden 2 ile 3 gün sonra olmaktadır. İmplantasyon, apozisyon, adezyon ve invazyon olmak üzere üç evreden oluşmaktadır (72,187).

Blastokist endometrium ile daha yakın bir temasa geldikçe yüzeyindeki mikrovilluslar kısalır ve epitelyal hücrelerin luminal yüzeyindekiler ile bağlantı kurarlar. Sonuçta hücre membranlarının son derece yakın bir temasta olduğu ve

bağlantı komplekslerinin kurulduğu adezyon evresine ulaşılır. Adezyon aşamasında integrin ve selektinleri de içeren tüm adezyon molekülleri görev alır. Desidualize endometrium ve erken embriyo hücre adezyonunu sağlayan laminin ve fibronektin gibi ekstraselüler matriks komponentlerini eksprese ederler. Bu dönemde büyüme faktörleri ve sitokinlerle birlikte birçok molekül embriyo ile endometrium arasında sinyal iletimine yardımcı olarak adezyonu sağlarlar. Glycodelin-A da immünsupresif özelliği ile embriyonun maternal reddini engeller (72,187).

2.11. YÜT Siklusları ve İmplantasyon

Başarılı bir implantasyonun gerçekleşebilmesi için blastokistin belli bir zaman aralığında reseptif endometriumla karşılaşması gerekir. Endometrium menstrüel siklus boyunca yeniden yapılıyor ancak kısıtlı bir zaman aralığında embriyoya reseptif durumda olur. Bu zaman aralığına implantasyon penceresi dönemi denir. Doğal bir siklusta embriyo ovulasyondan ortalama 4 gün sonra uterin kaviteye girer (190). Ovulasyondan 6 ile 8 gün sonra endometrium blastokist implantasyonuna reseptif hale gelir. Ortalama 4 gün boyunca reseptif halde kalır (191).Yüksek kalitedeki embriyoların alıcı annelere transferinin verici annelere transferinden daha iyi implantasyon oranlarıyla sonuçlandığı çalışma, verici annelerde hiperstimülasyona bağlı östradiol yüksekliğinin endometrial reseptiviteyi olumsuz etkilediğini göstermektedir (192). Düşük embriyo kalitesi implantasyon başarısızlığının en önemli nedenlerinden biridir (193).

2.12.Oksidatif Stres

Aerobik metabolizma, serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri (ROS) denen ve içine hidrosil radikalleri, süperoksit anyonları, hidrojen peroksit ve nitrik oksiti alan prooksidan moleküllerinin oluşumu ile ilişkilidir.

Prooksidan ve antioksidanlar arasında kompleks bir ilişki vardır ve bu ilişki intasellüler hemostazın devamını sağlar. Ne zaman prooksidan ve antioksidanlar arasında bir dengesizlik olursa, oksidatif stress durumu başlar.

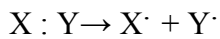
Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır

(194,195). İnsan vücudunda bütün hücrelere hiçbir zorlukla karşılaşmadan giren ve en çok kullanılma özelliğine sahip olan molekül oksijen yapısı itibariyle radikal olmaya çok uygun olduğundan serbest radikal denilince aslında serbest oksijen radikalleri, daha genel bir tabirle reaktif oksijen türleri (ROS) akla gelmektedir (Tablo 2). Serbest radikaller yaşam için gereklidir. Elektron transferi, enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde serbest radikaller temel oluşturur. Biyolojik sistemlerde, serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijen olup, oldukça dayanıksız ve aynı zamanda reaktiftir (196,197).

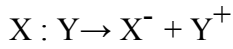
Tablo 2.5. Sık karşılaşılan radikaller, simgeleri ve kimlikleri (200)

| | | |
|------------------------|-------------------------------|---|
| Hidrojen radikali | H | Bilinen en basit radikal. |
| Süperoksit radikali | O ⁻ | Oksijen metabolizmasının ilk ana ürünü. |
| Hidroksil radikali | OH ⁻ | En toksik oksijen metaboliti. |
| Singlet oksijen | - 2 | Yarılanma ömrü hızlı, güçlü oksidatif oksijen |
| Hidrojen peroksit | H ₂ O ₂ | Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf. |
| Perhidroksi radikali | HO ₂ | Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu artırır. |
| Triklorometil radikali | ·CCl ₃ | CCl ₄ metabolizması ürünü, karaciğerde üretilen bir radikal. |
| Nitrojen oksit | NO | L-arjinin aminoasitinden in vivo üretilir. |
| Nitrojen dioksit | NO ₂ | NO' in oksijen ile reaksiyonundan üretilir. |
| Alkoksil | RO ⁻ | Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metabolite. |

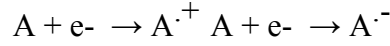
Bir serbest radikal 3 yolla ortaya çıkabilir (199,200): Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı sonucu oluşurlar. Bölünme sonrası her bir parçada ortak elektronlardan biri kalır.



Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi ile oluşurlar. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron, atomlardan birisinde kalır.



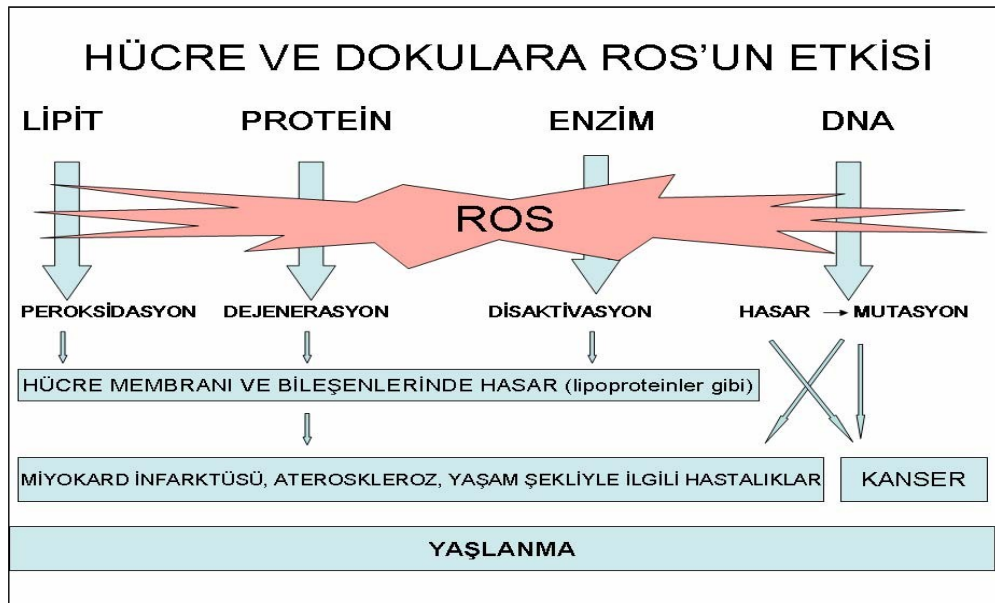
Normal bir moleküle bir elektron eklenmesi veya molekülün bir molekülün bir elektron kaybetmesi ile oluşurlar.



Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşurlar (200). Her ne kadar serbest radikal reaksiyonları bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gerekli olsa da, serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır (201).

Serbest radikaller nötralize edilmezlerse vücutta ciddi hasara neden olabilirler. Serbest radikaller hücre membranı proteinlerini yıkarak hücreleri öldürebilir, membran lipit ve proteinlerini yok ederek hücre membranını sertleştirip hücre fonksiyonunu engelleyebilir, nüklear membranı yararak nükleustaki genetik materyale etki edip DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirebilir veya bağışıklık sistemindeki hücreleri yok ederek bağışıklık sistemini zorlayabilir.

Bu etkiler oksidatif stres olarak bilinen DNA mutasyonları, hücre ölümleri ve hastalıkları gibi hasarlara neden olurlar. Radikaller yapısal proteinler, enzimler, membran lipidleri ve nükleik asitlere atak yaparlar (202,203).



Şekil 2.5: Hücre ve dokulara ROS'un etkisi (202)

Serbest radikallerin fizyolojik koşullarda oluşturulduğu biręok mekanizma ve metabolik yol vardır. Mitokondriyal elektron transport zincirinde normal elektron akışı esnasında en son oluşan ürün sudur. Halbuki elektronların elektron transport zincirinden kağıp moleküler oksijenle direkt olarak reaksiyona girmesi süperoksit radikalini oluşturur.

Mitokondriyal zincirde akan elektronların yaklaşık olarak %1-2'si bu şekilde toksik bir ürünü oluşturmak üzere sızıntıya uğrar. Süperoksit radikallerinin üretimi ve salınımı iç mitokondri membranından sitozolik tarafa doğru olur. Mikrozoimal elektron transport zinciride endoplazmik retikulumda özellikle ksenobiyotiklerin ve diğer endojen maddelerin metabolizması esnasında yan ürün olarak serbest radikaller üretilir. Burada elektronların kağak yaptığı en önemli yapı NADPH sitokrom P450 redüktaz enzimidir. Karma fonksiyonlu oksidazlar olan amino asit oksidaz, sitokrom oksidaz, monoamin oksidazlar, ksantin oksidaz içinde özellikle ksantin oksidaz pürin katabolizmasının en son iki reaksiyonunu katalizleyen enzim olarak bazı özel durumlarda fazla miktarda süperoksit radikal üretir. Nötrofiller fagositoz esnasında, membran ve sitoplazmalarında bulundurdıkları NADPH oksidaz ve myeloperoksidaz enzimleri ile serbest oksijen radikalleri hem de aşırı okside edici ajanları üreterek karşılaştıkları virus, bakteri, mantar gibi ajan patojenleri yok ederler. Bu işlemler esnasında hem ana hem de ara ürün olarak ęok fazla miktarda ROS oluşur. Prostaglandinlerin sentez edildiği lipooksijenaz ve siklooksijenaz ana metabolik yollarında farklı basamaklarda ROS üretilir.

Bunların dışında ayrıca bazı küçük moleküllerin oto-oksidasyonu (tiyoller, katekolaminler, hidrokinoonlar, flavinler, antibiyotikler gibi) ROS oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Son olarak kişilerin maruz kaldığı ekzojen ajanlar da vücutta ROS oluşumuna sebep olmaktadır. Bunlar stres, radyasyon, antineoplastik ajanlar, ksenobiyotikler, bağışıklık yapan bazı maddeler, sigara dumanı vb. olup serbest radikallerin ekzojen kaynakları olarak adlandırılmaktadır (203).

Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller oldukęa reaktif özellikte olduklarından hücre organellerine zarar verebilirler ve biręok hastalıkta rol oynayabilirler. Dejeneratif hastalıkların ęoęunun serbest radikal reaksiyonları kaynaklı olduğunu

gösteren kanıtlar bulunmaktadır. Bu hastalıklar arasında ateroskleroz, kanser, inflamatuvar eklem hastalığı, astım, diyabet ve dejeneratif göz hastalığı sayılabilir (204).

Serbest radikal patolojisi, hücre membranlarındaki ve diğer makromoleküllerdeki nükleik asit gibi anahtar biyomoleküllerin yüksek oranda yüksek radikal reaksiyonlarına maruz kalmasını kapsar (205). Reaktivitelerine bağlı olarak, serbest radikaller tüm hücresel komponentlerde defalarca reaksiyona girer ve hücre için çok toksiktir. Serbest radikaller yapısal proteinler, enzimler, membran lipitleri ve nükleik asitlere atak yaparlar (203,206) .

Membran Lipit Hasarı

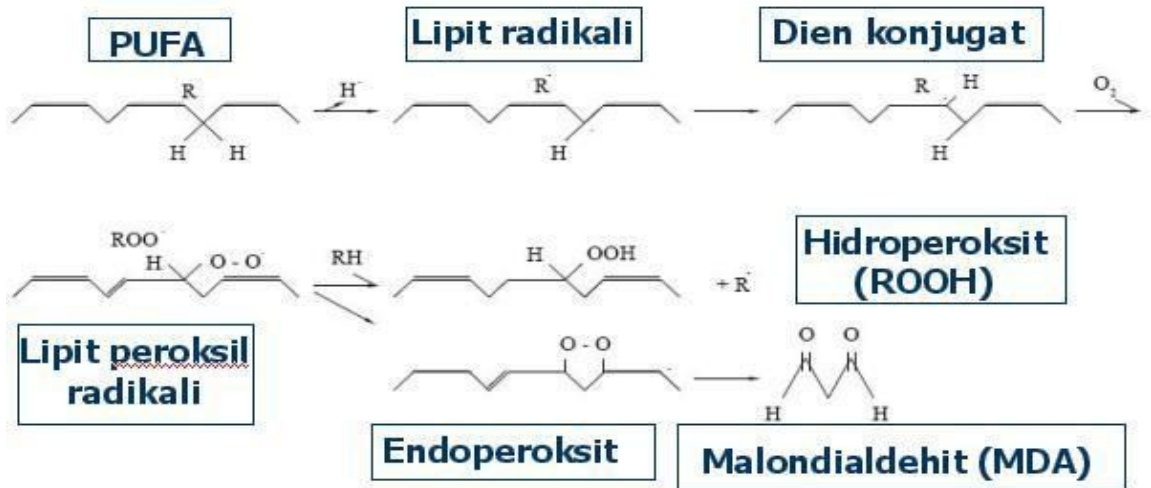
Biyomoleküllerin hemen hemen tümü serbest radikaller tarafından tutulabilir. Hücrenin reaktif oksijen ürünlerine karşı en hassas komponentleri lipitlerdir. Hücre membranları poliansatüre yağ asitlerinden zengin olduğu için okside edici radikaller tarafından kolayca tutulurlar.

Doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı olan lipit peroksidasyonu hasar vericidir, çünkü kendiliğinden ilerleyen zincir reaksiyonları devam eder (207). Lipit peroksidasyon ürünlerinden malondialdehit (MDA), membran komponentlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona yol açmakta ve DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girerek karsinojenik özellik taşımaktadır (208).

Hücre membranları okside edici radikaller tarafından kolayca etkilenen poliansatüre yağ asitlerinden zengindir. Membranda bulunan yağ asitleri ve kolesterolün doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girip peroksidasyona neden olmaktadır. İlk önce yağ asidi hidrojen ve kendi üzerinde birer elektron kalacak şekilde parçalanır ve lipit radikalini oluşturur. Lipit radikalini de oksijenle reaksiyona girerek lipit peroksil radikalini oluşturur. Lipit peroksil radikalini diğer doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek zincirleme bir reaksiyon başlatmış olur. Ayrıca lipit peroksiller ortamdaki hidrojen atomları ile reaksiyona girerek lipid hidroperoksitleri de oluştururlar. Böylece reaksiyonun otokatalitik bir biçimde yürümesi sağlanmaktadır. Lipit peroksidasyonu lipit hidroperoksitlerinin aldehit (MDA) ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesiyle sona ermektedir (78). MDA, yağ asiti oksidasyonunun spesifik ya da

kantitatif bir indikatörü olmamakla birlikte lipit peroksidasyonunun derecesiyle iyi bir korelasyon göstermektedir.

Lipitlerden araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimine enzimatik lipit peroksidasyonu, diğer radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonuna ise enzimatik olmayan lipit peroksidasyonu adı verilmektedir. Lipit radikallerinin hidrofobik yapıda olması nedeniyle reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerle meydana gelir. Membranın geçirgenliği ve akışkanlığı ciddi şekilde hasar görür. Peroksidasyonla oluşan malondialdehit, membran bileşiklerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Membranda deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi özelliklerini değiştirir. Bu etkiler, MDA'nın neden mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklamaktadır (209). MDA oldukça reaktif bir dialdehit olarak proteinlerin serbest amino gruplarıyla, fosfolipitlerle veya nükleik asitlerle inter ve intra-moleküler bağ kurmakta ve böylece biyolojik moleküllerin yapılarında bozukluklara neden olmaktadır. Bu yapısal değişiklikler immun sistem tarafından tanınarak otoimmün cevapların ortaya çıkmasına neden olurlar (210).



Şekil 2.6. Lipit peroksidasyonunun kimyasal yolu

Protein Hasarı

Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme dereceleri amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış ve sülfür içeren moleküllerin serbest

radikallere reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelirler. Bu reaksiyonlar sonucu immunglobülin G ve albümin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler (200). DNA hasarı iyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Sitotoksiste büyük oranda nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hücre ölümüne yol açabilir (200).

2.13. Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidan sistem serbest radikallerin zararlı etkisinden korunmada önemli role sahiptir. Oksidanları inaktif hale getiren maddelere antioksidanlar denir. Antioksidan savunma ile serbest radikaller arasındaki dengenin bozulması oksidan stresi ve bunun sonucunda doku hasarına yol açmaktadır (211,212).

Antioksidanlar dört mekanizma ile oksidanları etkisizleştirirler (213,214). Scavenging (temizleme) etkisi ile oksidanlar zayıf bir moleküle enzimler tarafından çevrilmektedir. Oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz bir hale getirme şeklinde olan quencher (baskılama) etkisi vitaminler ve flavonoidler tarafından yapılır. Metiyonin sülfoksit redüktaz gibi DNA tamir enzimleri ile onarıcı etkisi vardır. Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen zincir koparma etkisi hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılır.

Antioksidan savunma sistemleri enzimatik ve non-enzimatik antioksidan savunma sistemleri olmak üzere ikiye ayrılır (215,216).

2.13.1 Enzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri

Süperoksit Dismutaz(SOD)

Hücre içinde mitokondride doğal olarak bulunan bir enzimdir. Süperoksit radikallerini daha az reaktif olan hidrojen peroksit ve moleküler oksijen formuna

çevirirler. Ökaryotlarda SOD enziminin 3 adet izoenzimi vardır. Bunlar taşıdıkları prostetik grup olan metallere ve lokalizasyonlarına göre; Cu, Zn- SOD, Mn-SOD ve ekstrasellüler SOD şeklinde sınıflara ayrılırlar. Bunların dışında ökaryotlarda bulunmayıp prokaryotlarda bulunan Fe-SOD mevcuttur (216,217).

Katalaz (CAT)

Dört adet alt üniteden oluşmuş glikoprotein yapısında bir hemoproteindir. Hücrenin özellikle peroksizom partikülleri ve mitokondrilerinde, daha az yoğunlukta ise sitoplazma ve endoplazmik retikulumunda bulunur. Özellikle H₂O₂ miktarının aşırı arttığı durumlarda devreye girerek büyük bir spesifiklikle bu molekülü suya çevirir ve oksijene parçalar (218,219).

Glutasyon Peroksidaz (GPx)

Vücudun bütün doku ve hücrelerinde bulunmakla birlikte, hücre içinde sitoplazmada ve mitokondride daha yoğun olarak bulunur. Vücutta hidrojen peroksinin detoksifikasyonunda ve ayrıca lipit hidroperoksitlerin detoksifikasyonunda görev alır. Koenzim olarak glutasyonu kullanır. Redükte glutasyonun -SH grubundan, su oluşturmak için hidroksil radikali ya da hidrojen peroksitle birleşmek üzere hidrojen çıkartılmasını sağlar. Okside glutasyon NADPH bağımlı glutasyon redüktaz ile tekrar GSH'a indirgenir (220).

2.13.2.Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Ürik asit

Ürik asit pürin metabolizmasının son ürünüdür. Serbest radikallerle reaksiyona giren ve radikal tutucu olarak görev yapan bir moleküldür. Serbest radikallerin %65'inin temizlenmesinden sorumludur (221). İnsan plazmasında 0.25-0.45 mM konsantrasyonlarında bulunur. Singlet oksijen, peroksil radikali, HO[•] radikali, hipokloröz asit radikali ve ozon için güçlü bir temizleyicidir (222).

Askorbik Asit

Askorbik asit organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak görev yapar. Güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. O₂. ve HO. radikalleri ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler. Tokoferoksil radikalının α -tokoferole redüklenmesini sağlar (223).

Albümin

Plazma lipoproteinlerinden olan albümin bakır iyonlarını sıkı olarak bağlar ve bakır bağımlı lipit peroksidasyonunu ve HO. oluşumunu inhibe eder. Plazmada 40-60 mg/mL gibi yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Albümin aynı zamanda etkin bir hipokloröz asit temizleyicisidir, kanda serbest yağ asitlerini taşır (224).

E vitamini

Antioksidan etkisi en fazla olan α -tokoferoldür. α -tokoferol dokularda değişik konsantrasyonlarda bulunur. En yüksek E vitamini konsantrasyonları mitokondri ve mikrozomlar gibi membrandan zengin hücre kısımlarında bulunur. Miyokard membranlarındaki miktarı da fazladır. Diyetle yağda çözülmüş olarak alınır, yağ sindirimi sırasında açığa çıkar ve emilir. E vitamininin en önemli depolanma yeri yağ dokusu olup plazma konsantrasyonu 0.5-1.8 mg/dL arasındadır. Çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini hücre membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma elemanıdır. E ve C vitamini desteğinin yaşlı kişilerde ortalama kan lipit peroksit konsantrasyonlarında bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (200,225).

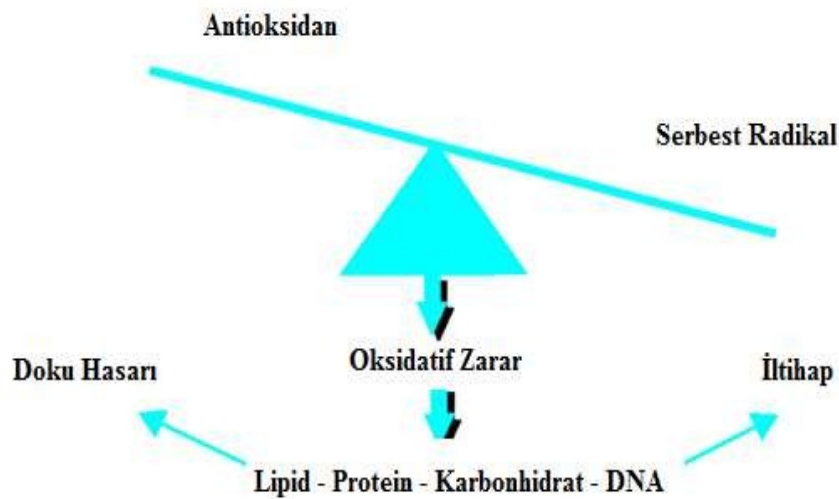
Karotenoidler

A vitamininin metabolik ön maddesi olan β -karoten, son derece güçlü singlet O². temizleyici olup ayrıca HO[•], peroksil ve alkoksil radikalleriyle de doğrudan reaksiyon vererek lipit peroksidasyon zincir reaksiyonlarını önler (226).

Glutasyon

Glutasyon değişik metabolik yolların enzimlerinin kofaktörüdür. Kolesterol biyosentezinde hız kısıtlayıcı basamak olan hidroksimetil glutaril KoA redüktaz enziminin kofaktörüdür. Bazı moleküllerin hücre içine taşınmasında aracılık eder (227).

Serbest radikaller istenmeyen oksidasyon reaksiyonlarına neden olarak lipit peroksidasyonu, protein modifikasyonları ve DNA hasarı oluşturmaktadır.



Şekil 2.7. Oksidatif Stres Oluşumu

2.14.Total Antioksidan Kapasite (TAK)

Vücudun antioksidan kapasitesine majör katkı plazmadaki antioksidan moleküllerden gelir. Plazma farklı kan bileşenlerini oksidatif hasara karşı koruyabildiği gibi, diyetle alınan antioksidanların vücudun diğer kısımlarına dağılmasını da sağlayabilir. Ürik asit, askorbik asit, albümin insan plazmasındaki total antioksidan kapasiteye (TAK) ana katkıyı sağlar. Bu üstünlük büyük ölçüde onların kandaki diğer antioksidanlara (bilirubin, α -tokoferol, β -karoten gibi) nispeten yüksek konsantrasyonlarına bağlıdır. Her bir antioksidan antioksidan defans sisteminde özel bir rol oynamasına rağmen, in vivo oksidatif hasara karşı organlara sinerjistik bir koruma sağlamak amacıyla birlikte etki göstermesi önem arzeder (228). Ayrıca plazma, transferin ve serüloplazmin

gibi demir tutucu antioksidan proteinlere ve direkt olarak radikalleri toplayabilen zincir kırıcı antioksidanlara sahiptir.

İn vivo her antioksidanın nisbi katkısı onun etkinliğine ve biyolojik sıvılardaki konsantrasyonuna bağlıdır (228). Serum ve dokulardaki farklı antioksidan bileşiklerin çeşit olarak fazlalığı, bağımsız olarak her bir antioksidan bileşiğin ölçümünü nispeten zorlaştırmaktadır. İlave olarak ölçüm sırasında farklı antioksidanlar arasında etkileşim olmasından dolayı bu antioksidanların birinin diğerlerini hesaba katmadan ölçülmesi, antioksidanların toplamının etkilerini doğru olarak yansıtmayabilir. Bundan dolayı tüm parametrelerin tek tek ölçümü yerine TAK'ın ölçümü tüm antioksidan durumunun değerlendirilmesi için uygun biyokimyasal parametre özelliği taşıdığı görülmektedir (229).

2.15. ROS ve Folikülogenez

Folikül sıvısı, folikülogenez süresince oositin olgunlaştığı mikroçevredir. Oositi saran foliküler sıvı ortamı fertilizasyon, embriyo bölünmesi ve gebelik oranları gibi IVF sonuçlarını gösteren parametreleri etkileyecek şekilde fertilizasyon ve embriyo gelişiminde kritik bir rol oynayabilmektedir²³⁰. İnsan foliküler sıvısında sitokinler, hormonlar ve büyüme faktörleri gibi follikül gelişimini ve matürasyonunu, ovülasyonu ve foliküler atreziyi etkileyen çeşitli otokrin ve parakrin etki gösteren maddeler bulunmaktadır (231).

Gonadotropik hormonların intraoveryan etkilerinin spesifik reseptörler tarafından kontrol edildiğinin ve folikül geliştikçe foliküler hücrelerdeki reseptörlerin tiplerinin ve sayılarının değiştiğinin anlaşılması, foliküllerin farklı evrelerde aynı gonadotropik uyarıya farklı yanıt verebilmesini aydınlatmıştır. Son yıllarda foliküllerin mikroçevresinin folikül gelişiminin düzenlenmesinde kritik rol oynadığı düşünülmektedir.

Oosit matürasyonunda, folikülogenezde, ovarian steroidogenezde ve luteolizisde ROS'un önemli düzenleyici rolü olduğu düşünülmektedir. Folikülogenez, sıkıca bir araya gelmiş somatik hücrelerden oluşan kabuğun içindeki immatür oositin oluşturduğu ovarian folikülün matürasyonudur. Gelişim süreci, primordial folliküllerin daha büyük preovülatuar folliküllere dönüşümünü gerektirir. Foliküler sıvıdaki ROS düzeyleri, oosit ve devamında embriyo gelişimi

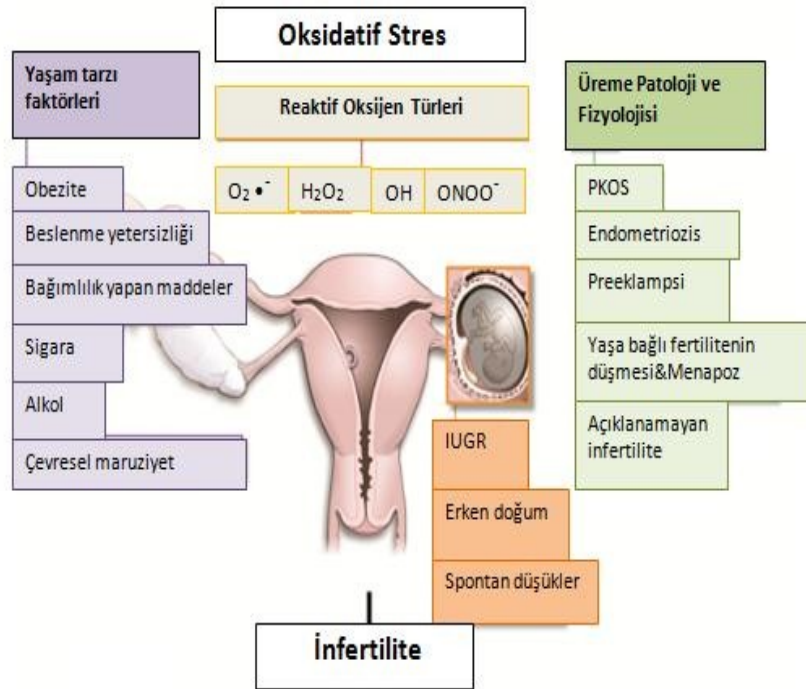
için gerekli olan fizyolojik ROS sınır aralıklarını gösterebilir (231). Ovülasyonda kontrollü oksidatif stresin önemli bir rolü vardır. İnflamasyon benzeri değişiklikler luteinizasyon sırasında hCG'ye cevap olarak önce teka interna ve foliküllerin granüloza tabakalarında ortaya çıkar. Folikül rüptüre olmadan önce oosit matürasyonunun son safhaları çeşitli sitokin, kinin, prostoglandin, proteolitik enzimler, nitrik oksit ve steroid yapımı ile yönlendirilir. Bütün bu olayların periovülatuar dönemde overlere kan akımını etkilediği gösterilmiştir (232).

Normal siklusu olan overlerde çeşitli oksidatif stres markerlerinin ekspresyonu gösterilmiştir (233,234). Çeşitli oksidatif stres markerlerinin foliküler sıvı konsantrasyonlarının foliküler sıvının oositi oksidatif hasardan koruyan yüksek konsantrasyonda antioksidan sistemler içerdiğini düşündürecek şekilde seruma göre daha düşük olduğu gösterilmiştir (235). Foliküler fazda primordial, primer, preantral, nondominant antral foliküller ile dominant ve atretik foliküller enzimatik antioksidan aktiviteyi göstermesi açısından süperoksit dismutaz (SOD) ekspresyonu açısından çalışılmıştır (236). SOD metal içeren antioksidan bir enzimdir. Süperoksiti hidrojen peroksit ve oksijene dönüştürür. Bu şekilde hücrelere serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerinden korur. SOD overde özellikle antral foliküllerin teka interna hücrelerinde bulunur (236). Bu nedenle teka interna hücreleri oosit maturasyonu sırasında oositi oksidatif stresten korur. Preovülatuar folikülün aşırı peroksidasyon ile tükenebilecek güçlü bir antioksidan savunması vardır (237).

Demir bağlayan plazma glukoproteini transferrinin ROS oluşumunu süprese ettiği ve başarılı follikül gelişimi için önemli bir faktör olduğu bilinmektedir (238). Antioksidan faktör olan askorbik asit, oksidanların temizlenmesi nedeniyle veya C vitamininin hücresel döngüsünün bozulmasından dolayı azalabilir. Askorbik asit eksikliği karakteristik olarak ovarian atrofiye, yoğun foliküler atreziye, erken mayotik bölünmeye neden olabilir. Bütün bunlar oksidatif strese karşı askorbik asidin koruyucu rolünün önemini göstermektedir. Diğer antioksidan enzimler örneğin katalaz ve enzimatik olmayan antioksidanlar örneğin E vitamini, peroksidaz kofaktör indirgenmiş glutatyon ve karotenoid lutein gibi, oosit ve embriyoyu oksidatif stresten ROS yapımını detoksifiye ederek veya nötralize ederek korur (231).

2.16.Oksidatif Stresin Kadın İnfertilitesindeki Rolü

Oksidatif stres kadınlarda değişik mekanizmalarla infertiliteye neden olmaktadır. Kadınlarda fazla miktarda ROS üretimi vücudun doğal antioksidan savunma sistemini etkileyerek normal fizyolojik reaksiyonların gerçekleştiği ortamı bozmaktadır (239). (Şekil1). Bu durum üreme sisteminde endometriozis, PKOS ve açıklanamayan infertilite oluşumuna neden olmaktadır. Ayrıca gebelik esnasında çeşitli komplikasyonlara neden olabilmektedir; spontan düşüklükler, tekrarlayan gebelik kayıpları, preeklampsi ve intrauterin gelişim bozuklukları gibi (240).



Şekil 2.8 . Oksidatif stress oluşumunu etkileyen faktörler ve kadın fertilitesindeki etkileri

Al.Gubory KH, Fowler PA, Garrel C: The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. Int J Biochem Cell Biol 2010, 42:1634-1650.

Peritoneal kavitedeki oosit ve spermatozoa direkt oksidatif stres etkisiyle hasarlanmaya maruz kalabilmektedir. Bu da bozulmuş fertilizasyona neden olur. Fertilizasyon gerçekleşse bile embriyo fragmentasyonuna neden olan apoptoz, implantasyon başarısızlığı, abortus veya fetüste konjenital anomali gelişebilir. Fallop tüplerindeki oksidatif stresin embriyo üzerinde direkt olumsuz etkileri

olabilmektedir. Normalde embriyoyu ve embriyo gelişimini destekleyen endometriumdaki defektler kadın üreme organındaki ROS-antioksidan dengesizliğinden kaynaklanabilmektedir (241). ROS antioksidan dengesizliğinin luteal regresyon ve gebeliğin devamı için yetersiz luteal hormonal destekle ilişkili olduğu düşünülmektedir (242). Oksidatif stres aynı zamanda hidrosalpinks, polikistik over hastalığı, açıklanamayan infertilite ve tekrarlayan gebelik kayıpları gibi pek çok infertilite nedeniyle birlikte olabilmektedir (243).

2.16.1.Oksidatif Stres ve Polikistik Over Sendromu

Polikistik over sendromlu hastalarda düşük seviyede antioksidan konsantrasyonları tespit edilmiş ve bunun sonucuna bağlı olarak oksidatif stress oluşumu düşünülmüştür (244). Mitokondriyal oksijen tüketimindeki azalma ve GSH düzeylerinde ROS üretimiyle birlikte artış olması PKOS'lu hastalarda mitokondriyal disfonksiyonu açıklamaktadır (245).

PKOS hastalarında çeşitli endokrin ve metabolik bozukluğun yan etkisi olarak infertilite tedavisi uygulamalarında sıkıntı yaşanmaktadır. LH yüksekliği ve obezite bu grupta düşük gebelik oranları ve yüksek düşük oranları ile ilişkilendirilirken (246,247),yüksek intrafoliküler testosteron seviyesinin, düşük fertilizasyon potansiyeline neden olduğu gösterilmiştir (248). Son yapılan çalışmalarda, endokrinopatiden farklı olarak PKOS hastalarının aşırı oksidatif stres ve yüksek TNF- α seviyeleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (249).

2.16.2.Oksidatif Stres ve Açıklanamayan İnfertilite

ROS seviyesindeki artışın başka herhangi bir neden tesbit edilemeyen kadınlarda periton sıvısında pro-oksidan/antioksidan dengesini değiştirerek infertiliteye neden olduğu şeklinde bir hipotez ileri sürülmüştür. Bu yükselmiş seviyeler oksidatif strese çok hassas olan overden atılan ovuma, zigot/embriyo ve spermatozoaya zarar verebilmektedir (242). İnfertilitenin değerlendirilmesi amacı ile tuba ligasyonu nedeniyle laparoskopi yapılan kadınlarla fertil kadınların periton sıvı ROS seviyeleri karşılaştırıldığında, açıklanamayan infertilitesi olan kadınlarda fertil olanlara göre anlamlı derecede yüksek ROS düzeyleri gösterilmiştir (250). Açıklanamayan infertilitesi olan kadınlarda ROS

düzeylerindeki yüksekliği; E vitamini, glutatyon gibi antioksidanların düzeylerinin düşük olmasına ve neticede ROS'un temizlenmesindeki ve toksik etkilerinin nötralize edilmesindeki yetersizliğine bağlanmıştır (250).

Bu durum, açıklanamayan infertilitesi olan kadınlarda antioksidan konsantrasyonlarının, fertil kadınlara göre daha düşük olduğunu göstermektedir. Bu da açıklanamayan infertilitesi olan kadınlarda yüksek ROS seviyesinin tedavisinde potansiyel olarak antioksidan kullanımının uygun olabileceğini düşündürmektedir.

2.16.3.Oksidatif Stres ve Endometriozis

Endometriozis ve infertilite arasındaki ilişki halen belirsizliğini koruyan bir konudur. Endometriozisle birlikte olan ağır infertilite vakalarının mekanik olarak sperm-yumurta buluşmasını engelleyen endometriomadan, adezyon ve pelvik anatomideki bozukluklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ancak anatomik bozukluğu olmayan hafif- orta dereceli endometriozis vakalarındaki infertilitenin patogenezi tam anlaşılamamıştır.

Endometriozisli kadınlarda periton sıvısı ve bu sıvının içinde peritoneal makrofajlar, sitokinler ve prostaglandinlerin arttığı bildirilmiştir. Aktive peritoneal makrofajlar yüksek miktarda ROS üretiminden sorumlu olduğu için endometriozisin patolojisinde yer almaktadır (251). ROS'un endometrial hücrelerin peritoneal kavitede büyümesini ve adezyonunu artırarak endometrizise bağlı adezyonlara ve infertiliteye neden olduğu düşünülmektedir (252).

Endometriozisle ilişkili oksidatif stresin oluşma nedeni ile ilgili pek çok hipotez mevcuttur. Mestrüel reflünün hücre debrislerini peritoneal boşluğa taşıdığı ve endometriozise neden olduğu ile ilgili pek çok kanıt vardır. Eritrositler proinflamatuvar faktör olarak etki eden hemoglobini ve hemi salmaktadır. Hem redoks oluşturan demir molekülü içermektedir. Peritoneal sıvıda demir, makrofaj ve/veya çevresel kontaminatların bulunması ROS ve antioksidanlar arasındaki dengeyi bozup endometriozise ve doku büyümesine neden olabilmektedir (253). Dolaşımda başka kaynaklardan oluşan oksidatif stress düzeyleri de hastalığın patogenezeine katkıda bulunabilmektedir. Oksidatif stres ve endometriozis arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaların bir çoğunun kontrol grubunun seçilmesi,

uygunluk kriterleri, oksidatif stres ve antioksidan durumun markırları ve oksidatif stresin ölçüldüğü biyolojik ortam gibi çeşitli yönlerden farklı olması nedeni ile kesin bir sonuca varmak mümkün olmamaktadır (254).

Endometriozis hastalarında peritoneal sıvı makrofajlarında artmış ROS yapımı ve lipit peroksidasyonu gösterilmiştir (255). Ancak yapılan bazı çalışmalarda endometriozisli kadınlarla fertil kadınların ROS, lipit peroksi ve antioksidan düzeyleri karşılaştırıldığında fark görülmemiştir (250).

2.16.4.Oksidatif Stres ve Tubal Faktör

Tubal sıvıda ROS konsantrasyonunun artması oosit ve sperm viabilitesi, tubada fertilizasyon ve embriyo transportu üzerine olumsuz etki yapabilmektedir. Ayrıca aktif nötrofil, makrofaj ve proinflamatuvar faktörlerin tubal sıvıda bulunması endometriotik odaklar tarafından ROS üretimini ciddi olarak artırabilmektedir (252). ROS üretimindeki bu ciddi artış sperm plazma ve akrozomal membranlarda oksidatif hasara neden olarak sperm motilitesinin kaybolmasına ve spermatozoanın oosite bağlanma ve penetre olma kabiliyetini kaybetmesine neden olabilmektedir. DNA hasarlanmasına neden olan oksidatif stres fertilizasyon olmamasına, embriyo kalitesinin düşmesine, gebe kalamamaya ve spontan düşüklere yol açmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu prospektif çalışma Aralık 2014 ile Haziran 2015 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, IVF Merkezinde IVF/ICSI uygulanacak hastalardan elde edilen serum ve folliküler sıvılarda gerçekleştirildi.

Bir yıl süre ile herhangi bir korunma yöntemi uygulanmadan ve düzenli cinsel ilişkide bulunulmasına rağmen gebelik oluşmaması nedeniyle başvuran çiftlerden erkek faktörünün ekarte edilmesi için spermogram istendi. Spermogram sonucu IUI için uygun olmayan hastalardan 2 kez daha kontrol amaçlı spermogram istendi, Üroloji bölümüne konsulte edildi. Erkek faktörü onaylanan hastalar direk IVF siklusuna aday çiftler olarak değerlendirildi.

Bayanların menstrual sikluslarının 2-3. gününde hormon profili değerlendirmesi ve bazal pelvik ultrasonografi yapıldı. Hormon profilinde sorun olmayan hastaların spermogram sonuçları da IUI için uygun ise tubal faktörü ekarte etmek için uygun zamanlama ile HSG (histerosalpingografi) çekildi. HSG de bilateral/ unilateral tubal açıklığa sahip hastalara uygun induksiyon ile IUI denendi, 2 veya 3 kez IUI yapılmış ancak gebelik elde edilememiş hastalar IVF grubuna alındı. Menstrual siklus gün 2-3 te yapılan bazal ultrasonografide endometrioma saptanan hastalar mevcut büyüklük ve kliniğine göre cerrahi tedaviye ihtiyaç duyanlar veya medikal tedavi uygulanacaklar olarak gerekli yönlendirmeler yapıldı.

Başvuruda ileri yaş hastalarda over rezerv testleri düşük saptanmış ve/veya ultrasonografide overlerde total antral follikül sayısı düşük gözlenmiş ise zaman kaybını önlemek amaçlı hastalar direk IVF grubuna alındı. Tüm tetkiklerinde çocuk sahibi olabilmek adına sorun teşkil etmeyen grup olan açıklanamayan infertilite grubunda da 3 kez IUI denemesinde gebelik elde edilememiş çiftler IVF e yönlendirildi.

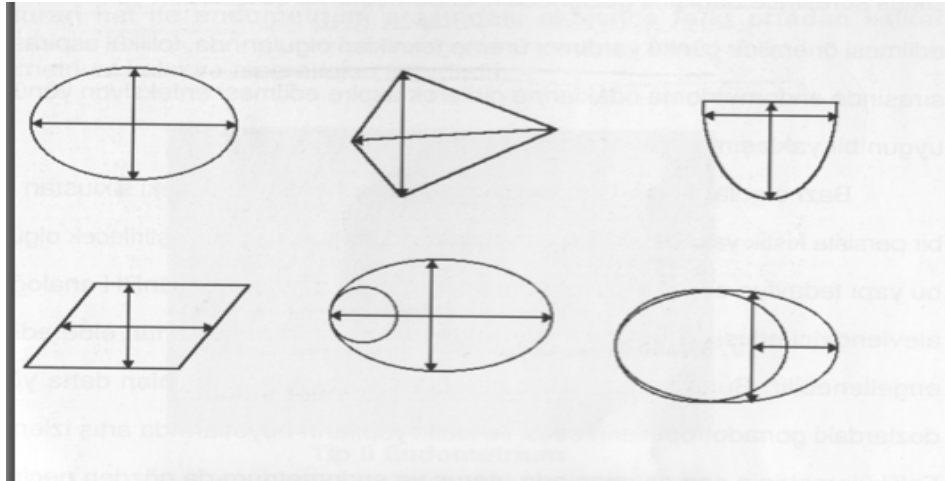
Çalışma, üniversitemiz Etik Kurulunun 2 Eylül 2014 tarih ve 8055874 / 245 sayılı kararı ile yapıldı. Hastalar yazılı ve sözlü onam alındıktan sonra çalışmaya katıldı. Yan tutuculuğu önleyebilmek için aynı klinisyen tarafından takip edilen 100 hasta ile çalışıldı.

Venöz kan örnekleri en az 8 saatlik açlık sonrasında ön koldan saat 08:00 ila 10:00 arasında alındı. Tüm venöz kan örnekleri 3000 rpm de 10 dk santrifüj edildi. Örnekler çalışılincaya kadar -80 °C de saklandı. Kan ve follükül örneklerinin tümü Dumlupınar Üniversitesi Evliya Çelebi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Anabilimdalı 'ndan Uzm.Dr.Özben Özden IŞIKLAR ile usulüne uygun olarak çalışıldı.

Serumda total oksidan durum (TOS); (Rel Assay Diagnostics ®,Gaziantep,Turkey) Erel tarafından bulunan yeni bir otomatize kolorimetrik ölçüm metodu kullanılarak ölçüldü. Bu metoda göre; örnekteki mevcut oksidanlar, ferröz-o-dianisidine kompleksini ferik iyonlara okside eder. Sonuçlar litre başına mikromol Hidrojen peroksit eşdeğeri cinsinden ifade edilir ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$).

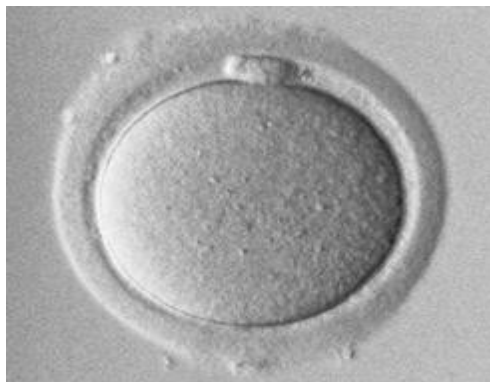
Serumda total antioksidan durum (TAS); (Rel Assay Diagnostics ®,Gaziantep,Turkey) Erel tarafından bulunan yeni bir otomatize kolorimetrik ölçüm metodu kullanılarak ölçüldü. Bu metoda göre; fenton reaksiyonu sonrası oluşan hidroksil radikali, renksiz o-dianisidine substratı ile reaksiyona girerek parlak sarımsı kahverengi dianisyl radikalini oluşturur. Ölçüm sonuçları litre başına milimol Trolox eşdeğeri cinsinden ifade edildi.(mmol Trolox Eq/L)

Kan serum örnekleri follüküler fazın 3. günü, oosit toplama günü ve embriyo transferi esnasında alınan rutin kanların 3-5 ml si kullanılarak çalışıldı, 3000 rpm olarak 10 dakika santrifüj edilip serumları -80 °C de saklandı. Çalışma boyunca follüküler fazın 3. gününde alınan, oosit toplama günü alınan ve embriyo transferi anında alınan kan örneklerinde Total Oksidan Kapasite(TOS), Total Antioksidan kapasite (TAS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) çalışıldı. IVF tedavisi alan olguların oosit indüksiyonunda follükül büyüklükleri aynı klinisyen tarafından uygun zaman aralıklarında ultrasonografi ile takibi yapıldı.



Şekil 3.1.Follikül şekillerine göre değişik ölçüm yöntemleri (YÜT ve reprodüktif endokrinoloji merkezi 2000,syf 73)

Oosit toplama anında alınan follikül sıvı örneği, debris ve granuloza hücrelerini uzaklaştırmak için, 600xg olarak 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant -80°C'de analiz gününe kadar saklandı. Folliküler sıvıda da Total Oksidan Kapasite(TOS),Total Antioksidan kapasite (TAS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) çalışıldı. Hastaların embriyo kültür formlarından oosit toplama işleminde kaç oosit elde edildiği, nükleer matürasyon oranları, (MII: metafaz II, matür oosit, MI: metafaz I , GV: germinal vezikül, immatür) sitoplazma, polar cisimcik ve perivitellin aralık değerlendirmeleri incelendi. İmmatür oosit (GV): Polar cisim yok, germinal vezikül koyu, kompakt kumulus mevcut, MI oosit (metafaz I): Polar cisim yok, germinal vezikül yok, kumulus geniş ve oosit açık renk, MII oosit (metafaz II): Polar cisim var, stoplazma düzgün, kumulus geniş görümlü olarak değerlendirildi.



Şekil 3.2. Metafaz II Oosit



Şekil 3.3.Germinal vezikül

Örnek içerisindeki antioksidanlar koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalini renksiz indirgenmiş ABTS formuna dönüştürür. 660 nm de ki absorbanans değişimi örneğin total antioksidan düzeyi ile ilişkilidir. Ölçüm bir vitamin E analogu olan ve Trolox Equivalanı olarak adlandırılan stabil antioksidan standart solüsyonu tarafından kalibre edilir.Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon (Fe^{+2}) şelator kompleksi ferrik iyon (Fe^{+3}) 'a okside eder. Oksidasyon reaksiyonu reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan arttırıcı moleküller tarafından uzatılır. Ferrik iyonlar asidik ortamda kromojen ile renkli kompleks oluşturur. Örnekte bulunan oksidan moleküllerin total miktarı ile ilişkili olan rengin yoğunluğu, spektrofotometrik olarak ölçülebilir. Ölçüm hidrojen peroksit ile kalibre edilmiştir ve sonuçlar litre başına mikromolar hidrojen peroksit cinsinden ifade edilecektir. ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L).

Örnekler oda sıcaklığına geldikten sonra Beckman Coulter AU 680 (Beckman Coulter Inc ®, CA, USA) cihazında çalışıldı. TAS ölçümleri için intraassay %CV ler sırasıyla 0.50 (0.35-0.65) mmol Trolox Equiv/L için %4.12, 2.0 (1.7-2.3) mmol Trolox Equiv/L için %1.53 idi. TOS ölçümleri için intraassay %CV'ler sırasıyla 5.5 (3.0-8.0) $\mu\text{mol/L}$ için %3.57, 19.5(16-23) $\mu\text{mol/L}$ için %5.17 idi.Total Oksidan Seviye (TOS) /Total Antioksidan Seviye (TAS) bölünerek Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplandı.

Çalışmaya katılan 100 olguya anket formu uygulandı.

Hasta Anket Formu

Adı Soyadı :

Tarih:

Yaş:

Dosya No:

Gravida:

Parite:

Abortus:

Yaşayan:

Boy:

Kilo:

VKI (Kg/M^2):

Meslek:

Evlilik Süresi:

İnfertilite Süresi :

İnfertilite Nedeni:

Erkek Faktör Endometriozis Açıklanamayan İnfertilite
Tubal Faktör Poor Responder
PCO İleri Yaş
Primer/Sekonder İnfertilite :
Alerji :
İlaç Kullanımı:
Tanısı Konulmuş Diğer Hastalık/Hastalıklar :
Geçirilmiş Ameliyat:
Jinekolojik Müdahale:
Soygeçmiş:
Alkol Kullanımı: Miktar/Gün/Yıl
Sigara Kullanımı (İçen veya bırakmış ise sigara adedi ve süresi):
Miktar/Gün/Yıl
Spermiogram:
Normozoospermi
Oligoastenoteratozoospermi
Şiddetli oligoastenoteratozoospermi Astenozoospermi
Astenoateratozoospermi Azospermi
Oligoastenozoospermi Hipoazoospermi
Hipozoospermi Criptozoospermi
Teratozoospermi Aspermi
Sayım: Hacim : Progresif İleri Motil : Konsantrasyon:
Bazal FSH (mIU/ml):
Bazal LH (mIU/ml):
Bazal Estradiol (pg/ml):
AMH:
PUSG Bulguları: EK: mm
(PUSG de Özellik Varsa Belirtiniz,Myom,Endometrioma,Kist )
Bazal Antral Follikül Sayısı:
IVF Protokolü:
Total Gonadotropin Dozu:
Ovulasyon İndüksiyon Gün Sayısı:

HCG Günü Endometrium Kalınlığı: mm
OPU Günü Toplanan OCCC Sayısı:
Fertilizasyon Oranı(%):
Klivaj Oranı:
Gün 3 Teki Embriyo Sayısı:
Grade 1 Embriyo (En Üst Kalite Embriyo) Sayısı; Grade 2 Embriyo Sayısı;
Grade 3 Embriyo Sayısı; Grade 4 Embriyo Sayısı;
Transfer Edilen Embriyo Sayısı:
Gün 14 'te HCG Değeri:
Biyokimyasal Gebelik: (Hcg Değeri) Klinik Gebelik:

IVF sonuçlarını değerlendirirken hastalarda biyokimyasal ve klinik gebeliğin doğrulanması için embriyo transferi sonrası 14. Günde kanda HCG değerinin 50 mIU/ml üzerinde olması, tetkikten 48 saat sonra HCG kontrolünde değerin ikiye katlamaması,kendiliğinden değerin düşmesi ile biyokimyasal gebelik (kimyasal gebelik veya erken düşük) olarak adlandırıldı.Klinik gebelik ise embriyo transferi sonrası 6. haftada intrauterin yerleşimli gebelik kesesi içinde embrioda kalp atımlarının saptanması olarak adlandırıldı.Olguların follikül sıvıları ve kandaki TAS,TOS ve TOS/TAS seviyeleri ile biyokimyasal gebelik ve klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasındaki ilişki değerlendirildi(22).

4. BULGULAR

Çalışmamız Aralık 2014 ile Haziran 2015 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilimdalı Üreme Sağlığı Merkezine başvuran ,gerekli uygulamalar tetkik ve testler sonrasında IVF kararı alınan 100 hastanın serum ve follüküler sıvılarında gerçekleştirilmiştir.

100 hastanın genel özellikleri incelendiğinde yaş ortalamaları 30.3 ± 0.5 (yıl) , BMI ortalamaları 24.9 ± 0.43 (kg/m^2), infertilite sürelerinin ortalamaları 5.7 ± 0.4 (yıl) idi.

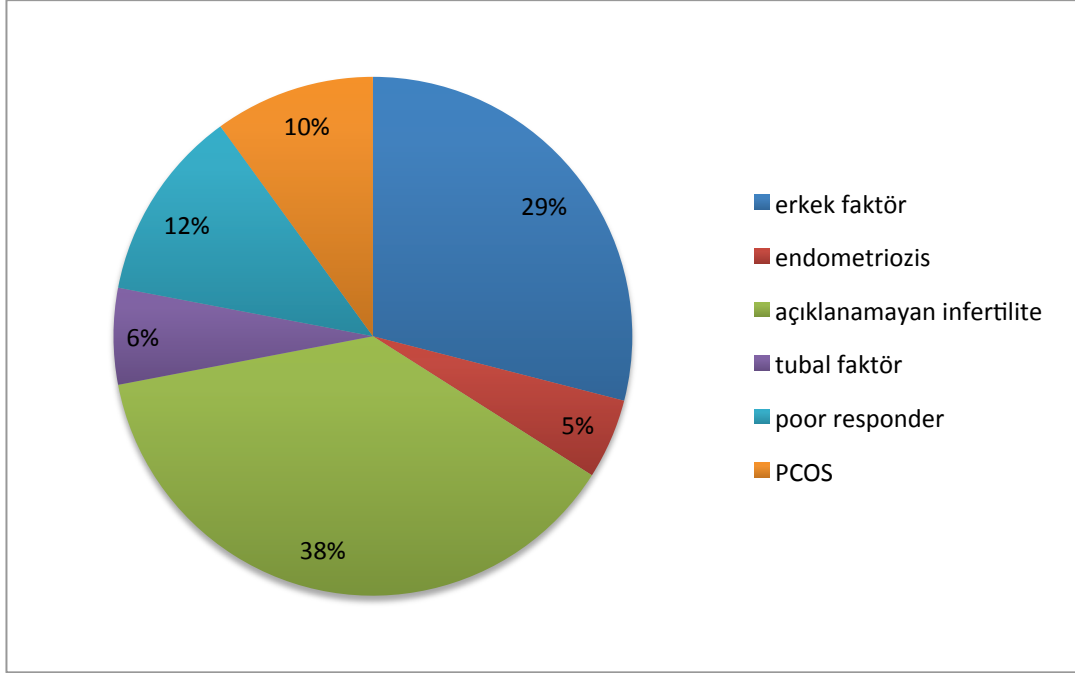
Çalışmaya katılan 100 olgunun demografik özelliklerine göre farklı parametrelerin değerlendirilmesi Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1 Çalışmaya katılan hastaların demografik özelliklerine ait farklı parametreler

| Demografik özelliklerde farklı parametreler | Olgu sayısı (n) |
|---|-----------------|
| Meslek; Ev hanımı | 79 |
| Memur | 10 |
| İşçi | 12 |
| Infertilite tipi;Primer infertil | 76 |
| Sekonder infertil | 24 |
| Kullanılan protocol;Antagonist protokol | 54 |
| E2 antagonist protokol | 12 |
| Long lukrin protokol | 32 |
| Hipogonadotropik hipogonadizm protokolü | 2 |

Tablo 4.2. Çalışmaya katılan hastaların sosyodemografik özellikleri

| Sosyodemografik özellikler | n | Min. | Max. | Mean \pm SD |
|------------------------------------|-----|-------|------|-------------------|
| Yaş (yıl) | 100 | 21 | 41 | 30,3 \pm 0,50 |
| Boy (cm) | 100 | 144 | 178 | 161,25 \pm 0,65 |
| Kilo | 100 | 44 | 185 | 66,90 \pm 0,17 |
| VKI | 100 | 15 | 39 | 24,93 \pm 0,43 |
| Infertilite süresi (yıl) | 100 | 1 | 18 | 5,71 \pm 0,40 |
| Evlilik süresi (yıl) | 100 | 2 | 20 | 7,10 \pm 0,45 |
| Spermiogramda sayım | 100 | 0 | 271 | 44,42 \pm 0,54 |
| Spermiogramda hacim | 100 | 0 | 8 | 2,79 \pm 0,14 |
| Prograsif ileri motil sperm sayısı | 100 | 0 | 97 | 44,82 \pm 0,28 |
| Spermiogramda normal sperm sayısı | 100 | 0 | 44 | 11,75 \pm 0,11 |
| Bazal FSH | 100 | 0,10 | 55 | 5,75 \pm 0,27 |
| Bazal LH | 100 | 0,10 | 44 | 7,51 \pm 0,61 |
| Bazal E2 | 100 | 10,50 | 102 | 41,97 \pm 0,16 |
| AMH | 100 | 0,09 | 13 | 2,76 \pm 0,23 |

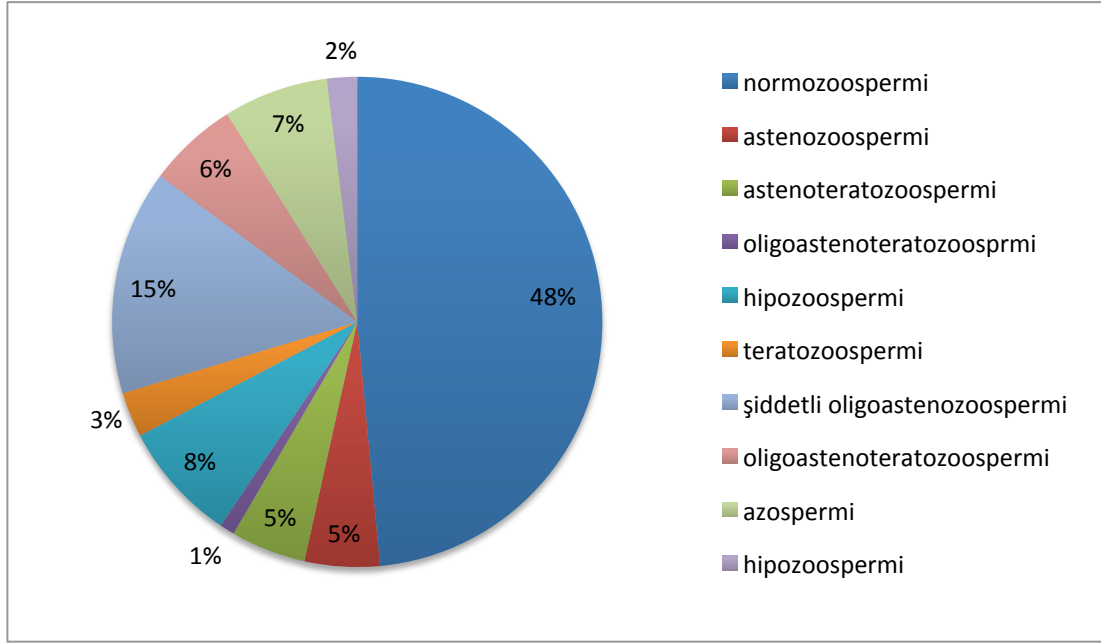


Şekil 4.1. Çalışmaya dahil edilen 100 olgunun infertilite tipi ve sayısı

Çalışmamızdaki hastalardan 76 hastanın gravidası sıfır,16 hastanın gravidası bir,3 hastanın gravidası iki,2 hastanın gravidası üç,1 hastanın gravidası dört,1 hastanın da gravidası altı olarak saptandı.

Herhangi bir ek hastalığa sahip olmayan 82 hasta ile hipotiroidi,diabet,kronik hipertansiyon,hipertiroidi gibi ek hastalıklara sahip 18 hastamız mevcuttu,14 hastanın tedavi ve takip amaçlı ilaç kullanımı mevcuttu,82 hastanın ise ilaç kullanım öyküsü yoktu.

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



Şekil 4.2. Spermogram test sonuçları

IVF planlanan hastaların Gün 2 ultrasonografisi değerlendirildiğinde bilateral overlerde toplam antral follikül sayısı <5 olan hasta sayısı 16 kişi, 5-12 arasında olan 39 kişi, >12 olan 45 kişi idi.

Gün 3 embriyo sayısı 1 olan 17 kişi, 2 olan 19 kişi, 3 olan 17 kişi, 4 olan 16 kişi, 5 olan 9 kişi, 6 olan 4 kişi, 7 olan 3 kişi, 8 olan 10 kişi, 10 olan 3 kişi, 12 olan 1 kişi, 16 olan 1 kişiydi.

Erkek faktörü nedeniyle IVF yapılan hastalardan 22 sinden 7 sinde, endometriozis nedeniyle IVF yapılan 4 hastadan 1 inde, açıklanamayan infertilite nedeniyle IVF yapılan hastalardan 28 inden 10 unda, tubal faktör nedeniyle IVF yapılan 5 hastadan 1 inde, zayıf yanıtı olgu nedeniyle IVF yapılan 8 hastadan 4 ünde, PCOS nedeniyle IVF yapılan 6 hastadan 4 ünde gebelik gerçekleşmiştir. (hCG pozitifleşmiş ve fetal kalp hareketi gözlenmiştir).

Transfer edilen embriyo sayısı 72 hastada 1 adet, 27 hastada 2 adet, 1 hastada 3 adet idi

Biyokimyasal gebeliği olan ve olmayan olgularda farklı parametrelerin karşılaştırılması Tablo 4.3. te verilmiştir.

Tablo 4.3. Biyokimyasal gebeliklerin karşılaştırılması

| Farklı parametreler | Biyokimyasal Gebelik Var(n: 4) | Biyokimyasal Gebelik Yok (n:96) | t/ Z değeri | p |
|------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------|--------|
| Yaş (yıl) | 31,00±0,29 | 30,28± 0,50 | Z:-,317 | 0,751 |
| VKI | 27,17 ± 0,85 | 24,84 ± 0,41 | Z:-,273 | 0,785 |
| Evlilik süresi(yıl) | 8,00 ± 0,74 | 7,06 ± 0,44 | Z:-,062 | 0,951 |
| İnfertilite süresi(yıl) | 3,75 ± 0,17 | 5,79 ± 0,41 | Z:-,860 | 0,390 |
| Spermiogramda sayım | 96,0 ± 0,47 | 45,40 ± 0,54 | Z:-2,068 | 0,039* |
| Spermiogramda hacim | 4,00 ±0,18 | 2,73 ±0,13 | Z:-1,41 | 0,156 |
| Progresif ileri motil sperm sayısı | 61,00 ± 0,22 | 2,89 ± 0,28 | Z:-1,26 | 0,207 |
| Spermiogramda normal sperm sayısı | 23,2 ± 0,73 | 11,27 ± 0,11 | Z:-2,147 | 0,032 |
| Bazal FSH | 6,90 ± 0,27 | 7,54 ± 0,63 | Z:-,026 | 0,979 |
| Bazal LH | 3,92 ± 0,17 | 5,83 ± 0,73 | Z:-1,58 | 0,113 |
| Bazal E2 | 38,7 ± 0,78 | 42,10 ± 0,17 | Z:-1,167 | 0,867 |
| AMH | 2,09 ± 0,19 | 2,78 ± 0,24 | Z:-,510 | 0,610 |
| USG de EK(mm) | 5,87 ± 0,34 | 4,75 ± 0,14 | Z:-,300 | 0,764 |
| Total indüksiyon gün sayısı | 8,75 ± 0,18 | 9,69 ± 0,23 | Z:-,565 | 0,572 |

Tablo 4.3.''Devamı''Biyokimyasal gebeliklerin karşılaştırılması

| | | | | |
|-------------------------|----------------|---------------|----------|--------|
| HCG günü EK | 11,6 ± 0,13 | 10,7 ± 0,22 | Z:-1,067 | 0,286 |
| OCCC (sayı) | 8,50 ± 0,51 | 10,6 ± 0,72 | Z:-,494 | 0,622 |
| Total gonadotropin dozu | 2025,00 ± 0,48 | 2089 ± 0,87 | Z:-,211 | 0,833 |
| M2 oosit | 6,75 ± 0,35 | 6,63 ± 0,54 | Z:-,468 | 0,640 |
| GV oosit | 1,79 ± 0,10 | 0,98 ± 0,12 | Z:-2,080 | 0,037* |
| Gün 14'te HCG değeri | 213,70 ± 0,28 | 148,07 ± 0,28 | Z:-1,940 | 0,52 |

Biyokimyasal gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında sperm sayısı, GV ve Gün 14 te HCG seviyesi açısından anlamlı fark saptandı.(p:0,037)

Klinik gebeliği olan ve olmayan olgularda farklı parametrelerin karşılaştırılması Tablo 4.4 te verilmiştir.

Tablo 4.4.Klinik gebeliklerin karşılaştırılması

| Farklı parametreler | Klinik Gebelik Var (n: 27) | Klinik Gebelik Yok (n:73) | t/ Z değeri | p |
|------------------------------------|-----------------------------|---------------------------|-------------|-------|
| Yaş (yıl) | 30,07±0,54 | 30,30± 0,48 | Z:-,350 | 0,726 |
| VKI | 23,97 ± 0,39 | 25,37 ± 0,52 | Z:-1,135 | 0,256 |
| Evlilik süresi(yıl) | 7,6 ± 0,46 | 6,89 ± 0,44 | Z:-1,09 | 0,273 |
| İnfertilite süresi(yıl) | 6,20 ± 0,48 | 5,51 ± 0,37 | Z:-,282 | 0,778 |
| Spermiogramda sayım | 49,3 ± 0,46 | 46,7 ± 0,57 | Z:-,711 | 0,477 |
| Spermiogramda hacim | 2,78 ±0,15 | 2,79 ±0,13 | Z:-,192 | 0,848 |
| Progresif ileri motil sperm sayısı | 52,7 ± 0,26 | 3,33 ± 0,28 | Z:-,816 | 0,632 |
| Spermiogramda normal sperm sayısı | 12,22 ± 0,13 | 11,57 ± 0,10 | Z:-,047 | 0,962 |
| Bazal FSH | 6,49 ± 0,21 | 7,89 ± 0,71 | Z:-,357 | 0,962 |
| Bazal LH | 6,08 ± 0,28 | 5,63 ± 0,26 | Z:-,516 | 0,606 |
| Bazal E2 | 38,7 ± 0,12 | 43,18 ± 0,18 | Z:-,765 | 0,444 |
| AMH | 2,76 ± 0,19 | 2,75 ± 0,25 | Z:-,485 | 0,627 |
| USG de EK(mm) | 4,85 ± 0,14 | 4,77 ± 0,16 | Z:-,381 | 0,703 |
| Total indüksiyon gün sayısı | 9,66 ± 0,26 | 9,65 ± 0,21 | Z:-,435 | 0,663 |
| HCG günü EK | 10,18 ± 0,16 | 10,9 ± 0,23 | Z:-,381 | 0,108 |
| OCCC (sayı) | 12,8 ± 0,97 | 9,73 ± 0,57 | Z:-1,331 | 0,183 |

Tablo 4.4. "Devamı" Klinik gebeliklerin karşılaştırılması

| | | | | |
|-------------------------|----------------|---------------|----------|--------|
| Total gonadotropin dozu | 2014,35 ± 0,85 | 2113,3 ± 0,87 | Z:-,734 | 0,463 |
| M2 oosit | 7,70 ± 0,76 | 6,24 ± 0,42 | Z:-,257 | 0,797 |
| GV oosit | 1,51 ± 0,15 | 0,496 ± 0,10 | Z:-2,663 | 0,008* |
| Gün 14'te HCG değeri | 452,8 ± 0,35 | 38,9 ± 0,13 | Z:-7,97 | 0,000* |

*p<0.05

Klinik gebeliği olanlar ile olamayanlar arasında GV ve Gün 14 te HCG seviyesi açısından anlamlı farklılık saptandı. (p<0.05)

İnfertilite nedenlerine göre biyokimyasal ve klinik gebeliklerin değerlendirilmesi sırasıyla Tablo 4.5 ve Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.5. Biyokimyasal gebeliklerin infertilite nedenlerine göre değerlendirilmesi

| İnfertilite Nedenleri | Biyokimyasal gebelik yok(n:96) | Biyokimyasal gebelik var (n:4) | p |
|---------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------|
| Erkek faktör | 29 | 0 | 0,356 |
| Endometriozis | 5 | 0 | |
| Açıklanamayan infertilite | 36 | 2 | |
| Tubal faktör | 5 | 1 | |
| Poor responder | 12 | 0 | |
| PCOS | 9 | 1 | |

*p<0.05

Tablo 4.6.Klinik gebeliklerin infertilite nedenlerine göre değerlendirilmesi

| İnfertilite Nedenleri | Klinik gebelik yok(n:73) | Klinik gebelik var (n:27) | p |
|---------------------------|--------------------------|---------------------------|-------|
| Erkek faktör | 22 | 7 | 0,891 |
| Endometriozis | 2 | 1 | |
| Açıklanamayan infertilite | 28 | 10 | |
| Tubal faktör | 5 | 1 | |
| Poor responder | 8 | 4 | |
| PCOS | 6 | 4 | |

*p<0.05

İnfertilite nedenleri ile (erkek faktör,endometriozis,açıklanamayan infertilite,tubal faktör,poor responder,PCOS) biyokimyasal ve klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Biyokimyasal gebeliği olanlar ile olmayan olguların tanısı konulmuş hastalıkların varlığına göre değerlendirilmes Tablo 4.7 'de verilmiştir.

Tablo 4.7. Biyokimyasal gebeliklerin tanısı konulmuş hastalıkların varlığına göre değerlendirilmesi

| Tanısı konulmuş hastalık | Biyokimyasal gebelik var (n:4) | Biyokimyasal gebelik yok (n:96) | p |
|--------------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------|
| Var | 1 | 17 | 0,142 |
| Yok | 3 | 79 | |

*p<0.05

Klinik gebeliği olanlar ile olmayan olguların tanısı konulmuş hastalıkların varlığına göre değerlendirilmes Tablo 4.8 'de verilmiştir.

Tablo 4.8. Klinik gebeliklerin tanısı konulmuş hastalıkların varlığına göre değerlendirilmesi

| Tanısı konulmuş hastalık | Klinik gebelik var (n:27) | Klinik gebelik yok (n:73) | p |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|-------|
| Var | 2 | 16 | 0,554 |
| Yok | 25 | 57 | |

*p<0.05

Çalışmaya katılan hastaların tanısı konulmuş hastalık öyküleri ile biyokimyasal ve klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Biyokimyasal gebeliği olan ile olmayan olguların sigara kullanımına göre değerlendirilmesi Tablo 4.9.'da verilmiştir.

Tablo 4.9. Biyokimyasal gebeliklerin sigara kullanımına göre değerlendirilmesi

| Sigara kullanımı | Biyokimyasal gebelik var (n:4) | Biyokimyasal gebelik yok (n:96) | p |
|------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------|
| Var | 1 | 14 | 0,100 |
| Yok | 3 | 82 | |

*p<0.05

Klinik gebeliği olan ile olmayan olguların sigara kullanımına göre değerlendirilmesi Tablo 4.10.'da verilmiştir.

Tablo 4.10. Klinik gebeliklerin sigara kullanımına göre değerlendirilmesi

| Sigara kullanımı | Klinik gebelik var (n:27) | Klinik gebelik yok (n:73) | p |
|------------------|---------------------------|---------------------------|-------|
| Var | 4 | 11 | 0,484 |
| Yok | 23 | 62 | |

*p<0.05

Sigara kullanımına göre ile biyokimyasal ve klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Biyokimyasal gebeliği olanlar ile olmayanların kullanılan IVF protokollerine göre değerlendirilmesi Tablo 4.11.'de verilmiştir.

Tablo 4.11.Biyokimyasal gebeliklerin kullanılan IVF protokollerine göre değerlendirilmesi

| IVF Protokolleri | Biyokimyasal gebelik var(n:4) | Biyokimyasal gebelik yok (n:96) | p |
|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|------|
| Antagonist protokol | 3 | 51 | 0,84 |
| E2 Antagonist protokol | 0 | 12 | |
| Long lucrin protocol | 1 | 31 | |
| Hipogonadotropik hipogonadizm | 0 | 2 | |

*p<0.05

Klinik gebeliği olanlar ile olmayanların kullanılan IVF protokollerine göre değerlendirilmesi Tablo 4.12.'de verilmiştir.

Tablo 4.12.Klinik gebeliklerin kullanılan IVF protokollerine göre değerlendirilmesi

| IVF Protokolleri | Klinik gebelik var(n:27) | Klinik gebelik yok (n:73) | p |
|-------------------------------|--------------------------|---------------------------|-------|
| Antagonist protokol | 17 | 37 | 0,330 |
| E2 Antagonist protokol | 1 | 11 | |
| Long lucrin protocol | 9 | 23 | |
| Hipogonadotropik hipogonadizm | 0 | 2 | |

*p<0.05

Biyokimyasal gebeliği olanlar ile olmayanların Gün-3 te elde edilen embriyo sayısına göre değerlendirilmesi Tablo 4.13.'te verilmiştir.

Tablo 4.13. Biyokimyasal gebeliklerin Gün 3'te elde edilen embriyo sayısına göre değerlendirilmesi

| Gün 3'te elde edilen Embriyo sayısı | Biyokimyasal gebelik var(4) | Biyokimyasal gebelik yok (n:96) | p |
|-------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-------|
| 1 | 0 | 17 | 0,975 |
| 2 | 1 | 18 | |
| 3 | 1 | 16 | |
| 4 | 1 | 15 | |
| 5 | 1 | 8 | |
| 6 | 0 | 4 | |
| 7 | 0 | 3 | |
| 8 | 0 | 10 | |
| 10 | 0 | 3 | |
| 12 | 0 | 1 | |
| 16 | 0 | 1 | |

*p<0.05

Gün-3 te elde edilmiş embriyo sayısı ile biyokimyasal gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Klinik gebeliği olanlar ile olmayanların Gün-3 te elde edilen embriyo sayısına göre değerlendirilmesi Tablo 4.14.'te verilmiştir.

Tablo 4.14. Klinik gebeliklerin Gün 3'te elde edilen embrio sayısına göre değerlendirilmesi

| Gün 3'te elde Edilen embriyo sayısı | Klinik gebelik var(n:27) | Klinik gebelik yok (n:73) | p |
|-------------------------------------|--------------------------|---------------------------|--------|
| 1 | 3 | 14 | 0,020* |
| 2 | 7 | 12 | |
| 3 | 1 | 16 | |
| 4 | 6 | 10 | |
| 5 | 2 | 7 | |
| 6 | 0 | 4 | |
| 7 | 0 | 3 | |
| 8 | 4 | 6 | |
| 10 | 3 | 0 | |
| 12 | 1 | 0 | |
| 16 | 0 | 1 | |

*p<0.05

Gün-3 te elde edilmiş embriyo sayısı ile klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı fark saptandı.(p:0,020)

Biyokimyasal gebeliği olanlar ile olmayan olguların transfer edilen Grade 1 embriyo sayısına göre değerlendirilmesi Tablo 4.15 'te verilmiştir.

Tablo 4.15. Biyokimyasal gebeliklerin transfer edilen Grade 1 embriyo sayısına göre değerlendirilmesi

| Transfer edilen Grade 1 Embriyo sayısı | Biyokimyasal gebelik var (n:3) | Biyokimyasal gebelik yok (n:76) | p |
|--|--------------------------------|---------------------------------|-------|
| 0 | 0 | 4 | 0,923 |
| 1 | 3 | 62 | |
| 2 | 0 | 5 | |
| 3 | 0 | 1 | |

*p<0.05

Klinik gebeliği olanlar ile olmayan olguların transfer edilen Grade 1 embriyo sayısına göre değerlendirilmesi Tablo 4.16 'da verilmiştir.

Tablo 4.16. Klinik gebeliklerin transfer edilen Grade 1 embriyo sayısına göre değerlendirilmesi

| Transfer edilen Grade 1 Embriyo sayısı | Klinik gebelik var (n:22) | Klinik gebelik yok (n:76) | p |
|--|---------------------------|---------------------------|-------|
| 0 | 0 | 4 | 0,491 |
| 1 | 20 | 45 | |
| 2 | 2 | 3 | |
| 3 | 0 | 1 | |

*p<0.05

Gün-3 te transfer edilen grade 1 embriyolar ile biyokimyasal ve klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Biyokimyasal gebeliği olanlar ile olmayan olguların transfer edilen Grade 2 embriyo sayısına göre değerlendirilmesi Tablo 4.17.'de verilmiştir.

Tablo 4.17. Biyokimyasal gebeliklerin transfer edilen Grade 2 embriyo sayısına göre değerlendirilmesi

| Transfer edilen Grade 2 Embriyo sayısı | Biyokimyasal gebelik var (n:3) | Biyokimyasal gebelik yok (n:43) | p |
|--|--------------------------------|---------------------------------|-------|
| 0 | 0 | 1 | 0,786 |
| 1 | 3 | 37 | |
| 2 | 0 | 5 | |

*p<0.05

Klinik gebeliği olanlar ile olmayan olguların transfer edilen Grade 2 embriyo sayısına göre değerlendirilmesi Tablo 4.18.'de verilmiştir.

Tablo 4.18. Klinik gebeliklerin transfer edilen Grade 2 embrio sayısına göre değerlendirilmesi

| Transfer edilen Grade 2 Embrio sayısı | Klinik gebelik var (n:11) | Klinik gebelik yok (n:35) | p |
|---------------------------------------|---------------------------|---------------------------|-------|
| 0 | 0 | 1 | 0,826 |
| 1 | 10 | 30 | |
| 2 | 1 | 4 | |

*p<0.05

Gün-3 te transfer edilen Grade 2 embriyolar ile biyokimyasal ve klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Biyokimyasal gebeliği olan ve olmayan olguların transfer edilen embriyo sayısına göre değerlendirilmesi Tablo 4.19.'da verilmiştir.

Tablo 4.19. Biyokimyasal gebeliklerin transfer edilen embriyo sayısına göre değerlendirilmesi

| Transfer edilen Embrio sayısı | Biyokimyasal gebelik var (n:4) | Biyokimyasal gebelik yok (n:96) | p |
|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------|
| 1 | 2 | 70 | 0,566 |
| 2 | 2 | 25 | |
| 3 | 0 | 1 | |

*p<0.05

Klinik gebeliği olan ve olmayan olguların transfer edilen embriyo sayısına göre değerlendirilmesi Tablo 4.20.'de verilmiştir.

Tablo 4.20. Klinik gebeliklerin transfer edilen embrio sayısına göre değerlendirilmesi

| Transfer edilen Embrio sayısı | Klinik gebelik var (n:27) | Klinik gebelik yok (n:73) | p |
|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|-------|
| 1 | 18 | 54 | 0,587 |
| 2 | 9 | 18 | |
| 3 | 0 | 1 | |

*p<0.05

Gün-3 te transfer edilen embriyo sayısı ile biyokimyasal ve klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Biyokimyasal gebeliği olan ve olmayan olguların TAS,TOS,OSI parametrelerine göre değerlendirilmesi Tablo 4.21.'de verilmiştir.

Tablo 4.21. Biyokimyasal gebeliklerin TAS,TOS ,OSI parametrelerine göre değerlendirilmesi

| | Biyokimyasal gebelik | | p |
|-------|----------------------|--------------|--------|
| A.TAS | Var (n:4) | 1,44 ± 0,35 | 0,859 |
| | Yok (n:96) | 1,46 ± 0,29 | |
| A.TOS | Var (n:4) | 24,08 ± 0,33 | 0,032* |
| | Yok (n:96) | 66,9 ± 0,53 | |
| A.OSI | Var (n:4) | 15,75 ± 0,20 | 0,039* |
| | Yok (n:96) | 45,30 ± 0,35 | |
| B.TAS | Var (n:4) | 1,48 ± 0,48 | 0,231 |
| | Yok (n:96) | 1,26 ± 0,22 | |
| B.TOS | Var (n:4) | 33,53 ± 0,43 | 0,343 |
| | Yok (n:96) | 30,56 ± 0,52 | |
| B.OSI | Var (n:4) | 21,7 ± 0,27 | 0,418 |
| | Yok (n:96) | 23,9 ± 0,40 | |
| C.TAS | Var (n:4) | 1,23 ± 0,36 | 0,142 |
| | Yok (n:96) | 1,55 ± 0,37 | |
| C.TOS | Var (n:4) | 15,6 ± 0,23 | 0,806 |
| | Yok (n:96) | 48,78 ± 0,57 | |
| C.OSI | Var (n:4) | 12,3 ± 0,14 | 0,819 |
| | Yok (n:96) | 26,9 ± 0,28 | |
| D.TAS | Var (n:4) | 1,40 ± 0,35 | 0,899 |
| | Yok (n:96) | 1,22 ± 0,51 | |
| D.TOS | Var (n:4) | 23,18 ± 0,30 | 0,966 |
| | Yok (n:96) | 15,22 ± 0,14 | |
| D.OSI | Var (n:4) | 16,22 ± 0,20 | 0,767 |
| | Yok (n:96) | 12, 5 ± 0,85 | |

*p<0.05 (A: Gün 2 de alınan serumda çalışılan örnek B: OPU esnasında alınan serumda çalışılan örnek C:OPU esnasında toplanan follüküler sıvıda çalışılan örnek D:Embriyo transferi esnasında alınan serumda çalışılan örnek)

Biyokimyasal gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında Gün 2 de alınan TOS değeri ve Gün 2 de hesaplanan OSI değeri arasında anlamlı sonuç bulundu.

Klinik gebeliği olan ve olmayan olguların TAS,TOS,OSI parametrelerine göre değerlendirilmesi Tablo 4.22.'de verilmiştir.

Tablo 4.22.Klinik gebeliklerin TAS,TOS ,OSI parametrelerine göre değerlendirilmesi

| | Klinik gebelik | | p |
|-------|----------------|--------------|-------|
| A.TAS | Var (n:27) | 1,46 ± 0,35 | 0,745 |
| | Yok (n:73) | 1,460± 0,34 | |
| A.TOS | Var (n:27) | 24,2 ± 0,36 | 0,588 |
| | Yok (n:73) | 29,9 ± 0,32 | |
| A.OSI | Var (n:27) | 15,61 ± 0,20 | 0,647 |
| | Yok (n:73) | 20,53 ± 0,24 | |
| B.TAS | Var (n:27) | 1,51± 0,53 | 0,762 |
| | Yok (n:73) | 1,26 ± 0,25 | |
| B.TOS | Var (n:27) | 36,5 ± 0,46 | 0,720 |
| | Yok (n:73) | 24,9 ± 0,30 | |
| B.OSI | Var (n:27) | 23,1 ± 0,28 | 0,723 |
| | Yok (n:73) | 18,3 ± 0,24 | |
| C.TAS | Var (n:27) | 1,25 ± 0,39 | 0,966 |
| | Yok (n:73) | 1,22 ± 0,32 | |
| C.TOS | Var (n:27) | 11,17 ± 0,26 | 0,535 |
| | Yok (n:73) | 16,5 ± 0,24 | |
| C.OSI | Var (n:27) | 12,7 ± 0,14 | 0,689 |
| | Yok (n:73) | 13,5 ± 0,17 | |
| D.TAS | Var (n:27) | 1,41 ± 0,38 | 0,839 |
| | Yok (n:73) | 1,34 ± 0,30 | |
| D.TOS | Var (n:27) | 20,55 ± 0,30 | 0,580 |
| | Yok (n:73) | 29,11 ± 030 | |
| D.OSI | Var (n:27) | 13,8 ± 0,17 | 0,666 |
| | Yok (n:73) | 22,08 ± 0,25 | |

*p<0.05

A: Gün 2 de alınan serumda çalışılan örnek B: OPU esnasında alınan serumda çalışılan örnek C:OPU esnasında toplanan folliküler sıvıda çalışılan örnek D:Embrio transferi esnasında alınan serumda çalışılan örnek

Klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında Gün 2 de alınan serumda çalışılan TAS,TOS ve OSI değerleri,OPU esnasında alınan serumda çalışılan TAS,TOS ve OSI değerleri,foliküler sıvıda çalışılan TAS,TOS ve OSI değerleri ile embriyo transferi esnasında alınan serumda çalışılan TAS,TOS ve OSI değerleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı.

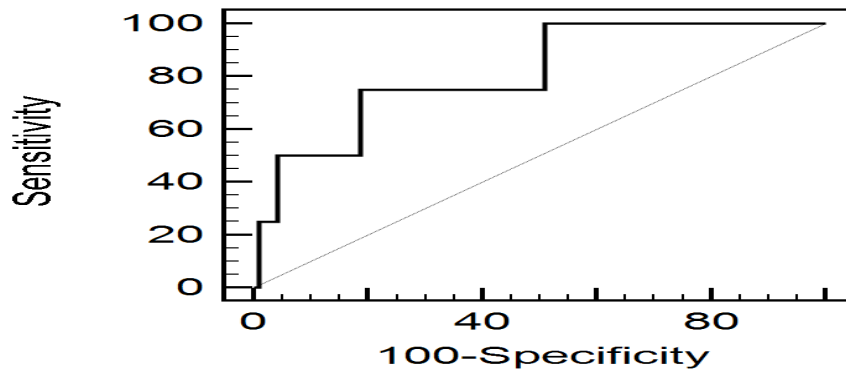
Biyokimyasal gebeliği olan ve olmayan olguların TAS,TOS ve OSI değerlerinin ROC analizine göre değerlendirilmesi Tablo 4.23.'te verilmiştir.

Tablo 4.23. Biyokimyasal gebelikte TAS,TOS VE OSI değerinin ROC analizine göre değerlendirilmesi

| Biyokimyasal Gebelikte | AUC | SE ^a | 95% CI ^b |
|------------------------|--------|-----------------|---------------------|
| A.OSI | 0,802* | 0,135 | 0,710 to 0,875 |
| A.TAS | 0,529 | 0,145 | 0,426 to 0,629 |
| A.TOS | 0,812* | 0,132 | 0,722 to 0,884 |

A: Gün 2 de alınan serumda çalışılan örnek

Biyokimyasal gebeliği öngörmede % 80 ve üzerinde güce sahip olanın gün 2 de alınan serum çalışmalarındaki TOS ve OSI parametrelerinin olduğu saptandı.Diğer TAS,TOS ve OSI değerlerinin biyokimyasal gebeliği öngörmedeki gücü zayıf olarak tespit edildi.



Şekil 4.3. Gün 2 de çalışılan serum örneklerindeki TOS değerinin sensitivite ve spesifite durumu

Biyokimyasal gebeliği olan olguların Gün-2 de serumda çalışılan TOS değerine göre değerlendirilmesi Tablo 4.24.'te verilmiştir.

Tablo 4.24. Gün 2 de alınan serumda çalışılan örnekteki TOS değerinin biyokimyasal gebelik için anlamlılık kriteri

| Criterion | Sensitivity | 95% CI | Specificity | 95% CI | +LR | 95% CI | - LR | 95% CI |
|-----------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------|-------------|------|------------|
| ≥0,46 | 100,00 | 39,8 - 100,0 | 0,00 | 0,0 - 3,8 | 1,00 | | | |
| >10,7 | 100,00 | 39,8 - 100,0 | 48,96 | 38,6 - 59,4 | 1,96 | 1,6 - 2,4 | 0,00 | |
| >10,92 | 75,00 | 19,4 - 99,4 | 48,96 | 38,6 - 59,4 | 1,47 | 0,8 - 2,7 | 0,51 | 0,09 - 2,8 |
| >31 * | 75,00 | 19,4 - 99,4 | 81,25 | 72,0 - 88,5 | 4,00 | 2,3 - 7,1 | 0,31 | 0,05 - 1,8 |
| >31,9 | 50,00 | 6,8 - 93,2 | 81,25 | 72,0 - 88,5 | 2,67 | 1,0 - 7,1 | 0,62 | 0,2 - 1,8 |
| >101,48 | 50,00 | 6,8 - 93,2 | 95,83 | 89,7 - 98,9 | 12,00 | 4,5 - 32,0 | 0,52 | 0,1 - 2,1 |
| >102,28 | 25,00 | 0,6 - 80,6 | 95,83 | 89,7 - 98,9 | 6,00 | 1,1 - 32,8 | 0,78 | 0,3 - 2,4 |
| >110,98 | 25,00 | 0,6 - 80,6 | 98,96 | 94,3 - 100,0 | 24,00 | 4,4 - 131,1 | 0,76 | 0,10 - 5,8 |
| >122,83 | 0,00 | 0,0 - 60,2 | 98,96 | 94,3 - 100,0 | 0,00 | | 1,01 | 0,1 - 7,1 |
| >205,34 | 0,00 | 0,0 - 60,2 | 100,00 | 96,2 - 100,0 | | | 1,00 | |

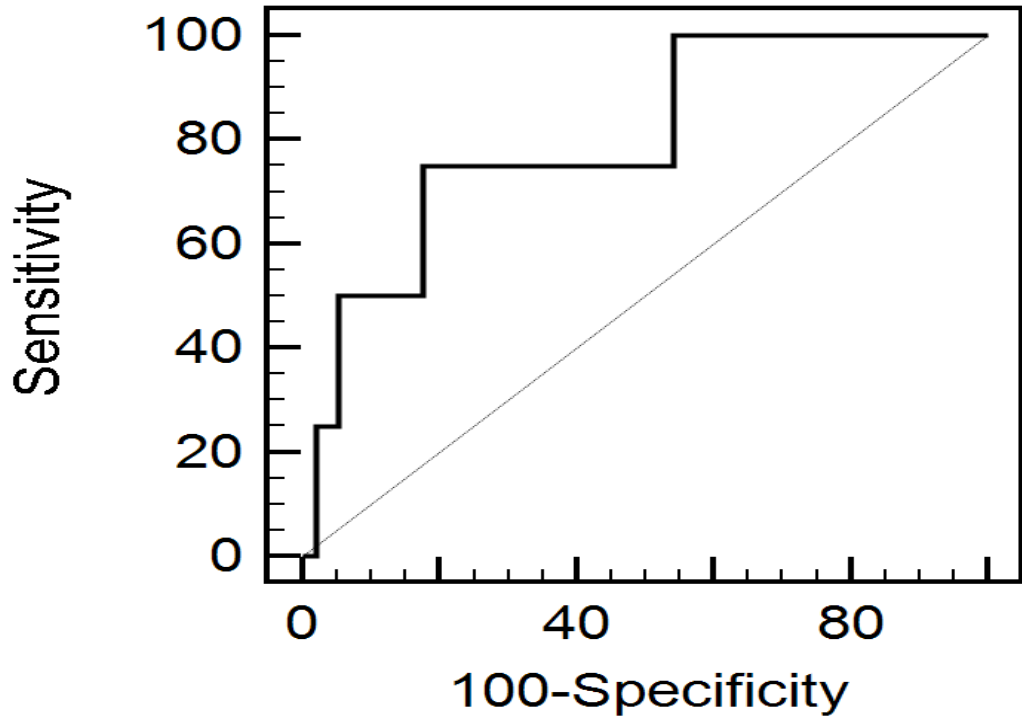
Gün 2 de alınan serumda çalışılan örnekteki TOS değerinin biyokimyasal gebelik için anlamlı olduğu değerin TOS değerinin >31 ve üzerinde çıkan değerler olduğu saptandı.

Biyokimyasal gebeliği olan olguların Gün-2 de serumda çalışılan OSI değerine göre değerlendirilmesi Tablo 4.25.'te verilmiştir.

Tablo 4.25. Gün 2 de alınan serumda çalışılan örnekteki OSI değerinin biyokimyasal gebelik için anlamlılık kriteri

| Criterion | Sensitivity | 95% CI | Specificity | 95% CI | +LR | 95% CI | -LR | 95% CI |
|-----------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------|------------|------|------------|
| ≥1,63 | 100,00 | 39,8 - 100,0 | 0,00 | 0,0 - 3,8 | 1,00 | | | |
| >7,54 | 100,00 | 39,8 - 100,0 | 45,83 | 35,6 - 56,3 | 1,85 | 1,5 - 2,3 | 0,00 | |
| >7,58 | 75,00 | 19,4 - 99,4 | 45,83 | 35,6 - 56,3 | 1,38 | 0,8 - 2,5 | 0,55 | 0,10 - 3,0 |
| >21,72* | 75,00 | 19,4 - 99,4 | 82,29 | 73,2 - 89,3 | 4,24 | 2,4 - 7,5 | 0,30 | 0,05 - 1,8 |
| >23,8 | 50,00 | 6,8 - 93,2 | 82,29 | 73,2 - 89,3 | 2,82 | 1,1 - 7,6 | 0,61 | 0,2 - 1,8 |
| >56,88 | 50,00 | 6,8 - 93,2 | 94,79 | 88,3 - 98,3 | 9,60 | 3,6 - 25,6 | 0,53 | 0,1 - 1,9 |
| >65,33 | 25,00 | 0,6 - 80,6 | 94,79 | 88,3 - 98,3 | 4,80 | 0,9 - 26,2 | 0,79 | 0,3 - 2,2 |
| >83,2 | 25,00 | 0,6 - 80,6 | 97,92 | 92,7 - 99,7 | 12,00 | 2,2 - 65,5 | 0,77 | 0,2 - 3,4 |
| >84,52 | 0,00 | 0,0 - 60,2 | 97,92 | 92,7 - 99,7 | 0,00 | | 1,02 | 0,3 - 4,0 |
| >89,15 | 0,00 | 0,0 - 60,2 | 100,00 | 96,2 - 100,0 | | | 1,00 | |

Gün 2 de alınan serumda çalışılan örnekteki OSI değerinin biyokimyasal gebelik için anlamlı olduğu değer OSI değerinin >21,72 ve üzerinde çıkan değerler olduğu saptandı.



Şekil 4.4. Gün 2 de çalışılan serum örneklerindeki OSI değerinin sensitivite ve spesifite durumu

Klinik gebeliği olan hastaların ROC curve analizlerinde TAS,TOS VE OSI değerlerinin hiçbirinde anlamlı bir fark saptanmadı.

5. TARTIŞMA

Bizim çalışmamızda erkek faktörü nedenli IVF yapılan hastalardan 22 sinden 7 sinde , endometriozis nedenli IVF yapılan 4 hastadan 1 inde ,açıklanamayan infertilite nedenli IVF yapılan hastalardan 28 inden 10 unda, tubal faktör nedenli IVF yapılan 5 hastadan 1 inde ,poor responder nedenli IVF yapılan 8 hastadan 4 ünde,PCOS nedenli IVF yapılan 6 hastadan 4 ünde klinik gebelik gerçekleşmiştir.(hCG pozitifleşmiş ve fetal kalp hareketi gözlenmiştir). Çalışmamızda Aralık 2014 ile Haziran 2015 tarihleri arasında yapılan IVF denemelerindeki klinik gebelik oranı %27 olarak saptanmıştır. Baker VL ve arkadaşlarının 2009 yılında yayınladıkları IVF denemelerindeki başarı oranlarını açıkladıkları makalelerinde ise klinik gebelik oranları ABD'nde % 43.4, Avrupa'da ise % 29.7 olarak verildi (256). Türkiye'de 2010 yılında yapılan bir çalışmada genel olarak IVF denemelerinde klinik gebelik oranı % 30 olarak hesaplandı (257).

Tablo 4.4.'te belirttiğimiz üzere çalışmamızda klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında yaş,VKİ,evlilik süresi,infertilite süresi,sperm hacmi,progresif ileri motil sperm sayısı,bazal FSH ,LH,E2 seviyesi,AMH düzeyi,ultrasonografide endometrium kalınlığı,total gonadotropin dozu, toplam indüksiyon gün sayısı,OCCC,M2 oosit ,HCG günü endometrium kalınlığı arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).Klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında GV ve Gün 14 te HCG seviyesi açısından anlamlı farklılık saptandı. ($p< 0,05$) Işıkçı ve arkadaşlarının yapmış olduğu IVF çalışmasına göre klinik gebeliği olanlar ile olmayan olgular arasında ortalama yaş, BMI, FSH, LH, E₂, AMH, İnhibin B, antral follikül sayıları,adetin 2-5.günleri arasında ve hCG günü endometrium kalınlıkları, gonadotropin dozu, toplanan oosit sayısı, matür oosit sayısı ve transfer edilen embriyo sayısı açısından yapılan karşılaştırmada anlamlı bir fark saptanmamış olup bizim çalışmamız ile benzer sonuçlar bulunmuştur.

Tablo 4.14.'te belirttiğimiz üzere çalışmamızda Gün-3' te elde edilen embriyo sayısı ile klinik gebelik olup olmaması arasında anlamlı fark saptandı.($p:0,020$) Işıkçı ve arkadaşlarının yapmış olduğu IVF çalışmasında embriyo sayısı açısından belirgin anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.01$)(258).İki çalışma arasında elde edilen embriyo sayısı açısından benzer sonuçlar bulunmuştur.

Tablo 4.5 ve 4.6 belirttiğimiz üzere çalışmamızda infertilite nedenleri ile (poor responder, PCOS, erkek faktör, endometriozis, açıklanamayan infertilite, tubal faktör) biyokimyasal ve klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Szczepanska ve ark. yaptıkları çalışmada infertilite sebebi endometriozis ve açıklanamayan infertilite olan kadınların peritoneal sıvıları ile sağlıklı kontrol grubunun peritoneal sıvılarındaki TAS düzeylerini karşılaştırmışlar, endometriozisli kadınlarda kontrol grubuna göre TAS düzeylerinin çok düşük olduğunu bildirmişlerdir. Buna karşılık, açıklanamayan infertilite grubunda yüksek TAS düzeyleri bildirilmiştir. Bu sonuca bağlı olarak açıklanamayan infertilite grubunda yüksek antioksidan potansiyelin önemli bir faktör olmadığını, endometriozisli kadınlarda peritoneal sıvıdaki düşük TAK düzeylerinin ve düşük antioksidan enzim aktivitesinin kadınların fertilitesi üzerine etkisi olmadığını, fakat bu faktörlerin hastalığın gelişimde önemli bir rolü olabileceğini bildirmişlerdir (259). Bizim çalışmamızda ise serum ve folliküler sıvılarda TAS ,TOS ve OSI parametreleri bakılmış olup çalışma metodları arasında belirgin farklılık nedeniyle iki çalışma arasında korelasyon saptanamamıştır. Chattopadhyay ve ark. yaptıkları çalışmada infertilite sebebi PKOS olan 35 kadının foliküler sıvısıyla, tubal faktör olan 32 kadının foliküler sıvısını ROS ve TAK düzeyleri açısından karşılaştırmışlardır (260). PKOS grubunun TAK düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulduklarını bildirmişlerdir. Bu sonuca bağlı olarak PKOS'lu kadınların foliküler sıvılarında bozulmuş antioksidan savunma mekanizmasının olabilebileceğini ifade etmişlerdir .Bizim çalışmamızda ise infertilite grupları arasında anlamlı fark bulunamamış olup subgruplarımızdaki olgu sayılarının az oluşunun sonuçların güvenilirliğini azaltmış olabileceğinin kanısındayız. Daha yüksek katılımcı sayısı ile çalışmamızın tekrarlanmasını önermekteyiz. As Agarwal ve arkadaşları, prooksidanlar ile antioksidanlar arasındaki bir dengesizliğin endometriozis, PCOS, açıklanamayan infertilite gibi patolojilere ve düşük ve preeklampsi gibi obstetrik komplikasyonlara sebep olabileceğini not ettiler (261). Oksidatif stresin oosit gelişimini ve embriyoların gelişimini etkilemesini muhtemel olarak belirttiler(262). Bizim çalışmamızda infertilite nedenleri arasında anlamlı fark bulunamayıp, klinik gebeliği olan hastaların abortus ,preeklampsi açısından takibi yapılmamıştır. Oyawoye ve arkadaşları, total

antioksidan kapasitesinin infertilite etyolojisine bağlı olduğunu gösterdi (263). Foliküler total antioksidan kapasitesi açıklanmayan infertilite ve tubal faktör infertilitesi olan hastalarda daha yüksekken polikistik overleri olan hastalarda total antioksidan kapasitesi fertilizasyon yetersizliği ile ilişkiliydi. Oyawoye ve arkadaşları; 63 hasta ve 303 follikül sıvısında ferric-reducing antioxidant power assay (FRAP) yöntemi ile TAS seviyelerini değerlendirmiş olup fertilizasyon sonrası follikül sıvılarındaki TAS'ı tekrar değerlendirme fırsatı bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise follikül sıvılarında tek ölçüm yapılmış olup fertilize olmuş oositlerde tekrar ölçüm yapılamamıştır. Çalışma dizaynındaki farklılık nedeni iki çalışma arasında net değerlendirme yapılamamıştır.

Tablo 4.10.'da belirttiğimiz üzere çalışmamızda sigara kullanım öyküsünün klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında değerlendirildiğinde anlamlı bir fark saptanmadı. Tükürük stress biyomarkerları (kortizol ve a-amilaz) ile yapılan bir çalışmada, fertillerdeki stresin gebe kalma ihtimalini düşürdüğü gösterildi (264). Bu çalışmanın sonuçları, benzer infertilite etyolojisi, sigara içme durumu ve yaşı olan çiftlerde OPU ve ET öncesi ve sonrasındaki yüksek TAS seviyelerinin hamilelik şansını arttırdığını öne sürdü. Bu sebeple, ART döngüleri sırasında kadınlardaki stres miktarı ve buna bağlı olarak pro-oksidanlar ile anti-oksidanlar arasındaki imbalansın spontan hamilelik oluşması üzerinde etkisi vardır sonucuna varıldı. Çalışmalarında stres markerları ölçülemedi ancak çalışma popülasyonunun homojenitesinden ötürü hamilelik oranlarını ve TAS/TOS seviyelerini etkileyen en muhtemel faktörün stres olduğuna inandıklarını belirtmişlerdir. Stres kaynaklı oluşan oksidan antioksidan imbalansına bağlı olarak klinik hamilelik gelişimi etkilenmiştir yorumu yapılmıştır. Bizim çalışmamızda ise sigara kullanım sayısının 1 adet/gün olan olgu ile 30-40 adet/gün tüketen olgu varlığı arasında çok geniş spektrumlu bir dağılıma sahip olması, kullanım sürelerinin grupta ciddi heterojeniteye sahip olması, hastalara stresleri hakkında herhangi bir test ve/veya skala yapılamamış olması nedeni çalışma sonuçlarının tartışılabilir olduğunu saptadık.

Tablo 4.12.'de belirttiğimiz üzere çalışmamızda kullanılan IVF protokolleri ile (antagonist protokol, long lucrin protokol, E2 antagonist protokol, hipogonadotropik hipogonadizm protokol) klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Literatürde bizim çalışmamız kadar kapsamlı

,hem serum hem folliküler sıvıda değerlendirme yapan başka bir çalışmaya rastlamadık.Olgu sayısının daha fazla olduğu çalışmalarda tedavi protokolleri ile ilgili daha detaylı bilgiler elde edilebileceğini savunmaktayız.

Tablo 4.14.'te belirttiğimiz üzere çalışmaya katılan olguların tanısı konulmuş hastalık öyküleri ile klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.Bunu olgu grubunun heterojen olmasına, subgrupların fazla sayıda olmasına bağlamaktayız.

Tablo 4.16 ve Tablo 4.18'de belirttiğimiz üzere çalışmamızda transfer edilen embriyo gradeleri arasında klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Klinik gebelik elde edebilmek için oosit geri kazanımı, fertilizasyon ve embriyo gelişimi ve ETyi takiben oluşan endometrial implantasyon oldukça önemlidir(265).Das ve arkadaşları kemoluminisens metoduyla ölçülen foliküler sıvıdaki reaktif oksijen türlerinin seviyesinin embriyoların gelişimi ve kalitesi üzerinde etkisi olduğunu buldu (266). Çalışmamızda ise yeni bir otomatize kolorimetrik ölçüm metodu kullanılarak örneklerdeki TAS,TOS ve OSI değerleri ölçüldü. Bu metoda göre; fenton reaksiyonu sonrası oluşan hidroksil radikali, renksiz o-dianisidine substratı ile reaksiyona girerek parlak sarımsı kahverengi dianisyl radikalini oluşturmuştur.Ölçüm teknikleri arasında farklılık mevcuttur.Oksidatif stresin erkek infertiltesi üzerine etkisi olmasına karşın, kadın infertilitesindeki araştırmaların sayıları son dönemlerde arttı(267,268) Bir hayvan model çalışmasında, Duleba ve arkadaşları oksidatif stresin teka-interstisiyel hücrelerin gelişimini negatif olarak etkilediklerini gösterdi(269).Oksidanların follikülogenezis, foliküler olgunlaşma ve ovülasyonda rol oynadıkları gösterildi (270,271). As Agarwal ve arkadaşları, prooksidanlar ile antioksidanlar arasındaki bir dengesizliğin oksidatif stresin oosit gelişimini ve embriyoların gelişimini etkilemesini muhtemel olarak belirttiler(262).Çalışmamızda As Agarwal ve arkadaşlarından farklı olarak prooksidan grup değerlendirilmemiş olup enzimatik ve non-enzimatik antioksidan sistemlere bakılmamıştır.Total oksidan ve total antioksidan parametrelere tek kit üzerinden bakılmıştır. Çalışmalar arasında metodolojik farklılık önplandadır.

Çalışmamızda ilaç kullanım öyküsü (multivitamin,mineral,kür amaçlı ilcalar) ile klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında yapılan değerlendirmede anlamlı bir fark saptanmadı.Ozkaya ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada da IVF

olgularında multivitamin kullanımında klinik gebelik açısından anlamlı bir fark saptanmamış olup çalışmamız ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Günümüzde, infertil hastalarda trend antioksidan defans mekanizmasını güçlendirmek amacıyla multivitamin ve mineral desteği verilmesidir (273). Ancak infertil hastaları antioksidan ilaçlarla desteklemek yerine oksidanlar ile antioksidanlar arasında bir denge yakalamamız gerektiği oldukça açık görülmektedir.

Tablo 4.21.'de belirttiğimiz üzere çalışmamızda biyokimyasal gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında Gün-2 de alınan TOS değeri ve Gün-2 de hesaplanan OSI değeri arasında anlamlı sonuç bulundu. ($p < 0,05$) Literatür taramasında bu konuda herhangi bir incelemeye rastlanılmamıştır. Çalışmamız klinik gebeliklerin yanında biyokimyasal gebeliklerin varlığı ve etkileyen farklı parametreler değerlendirilmiş olup olgu sayısının azlığı nedeniyle sonucun güvenilirliği kısıtlanmıştır. Çalışmamızda Gün-2 de alınan serumda çalışılan örnekteki TOS değerinin biyokimsal gebelik için anlamlı olduğu değerin TOS değerinin >31 ve üzerinde çıkan değerler olduğu saptandı. Bu konudaki kaynak bilgilerinde biyokimyasal gebelik üzerine çalışma olmaması nedeni bizim çalışmamız ile mukayese edilemedi. Gün-2 de alınan serumda çalışılan örnekteki OSI değerinin biyokimsal gebelik için anlamlı olduğu değerin OSI değerinin $>21,72$ ve üzerinde çıkan değerler olduğu saptandı. Literatür araştırmamızda biyokimyasal gebelik ile ilgili değerlendirmeye rastlamadık.

Tablo 4.22.'de belirttiğimiz üzere çalışmamızda klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında Gün-2 de alınan serumda çalışılan TAS, TOS ve OSI değerleri, OPU esnasında alınan serumda çalışılan TAS, TOS ve OSI değerleri, follüküler sıvıda çalışılan TAS, TOS ve OSI değerleri ile embriyo transferi esnasında alınan serumda çalışılan TAS, TOS ve OSI değerleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı. Aydın ve Ark. larının yapmış olduğu çalışmada ;ART-ICSI döngüsünün içindeki muhtemelen en önemli faz olan OPU (pre ve post) ve ET (pre ve post) sırasındaki kan TAS seviyesinin klinik gebelik açısından negatif prediktif değeri olduğu gösterilmiştir (264). Bu önemli fazlar öncesinde ve sonrasında tüm ölçümlerden elde edilen sonuçlarda, TAS seviyesinin klinik gebelik gelişen hastalarda önemli miktarda daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Klinik olarak gebe olan gruptaki tüm ölçüm zamanlarında görülen yüksek TAS seviyelerine ek olarak,

klinik gebeliği olan hastalarda OPU'dan sonra ve ET'den önce ayrıca TOS seviyeleri de yüksek saptanmıştır. Ancak OSI değerleri açısından değerlendirilince, sadece OPU'dan önceki OSI düşüklüğü klinik gebelik açısından anlamlı bulunmuştur. OPU öncesindeki OSI değerinin klinik hamileliğin en önemli belirleyicilerinden biri olduğunu ve bu sebeple oksidan antioksidan dengesinin, antioksidan konsantrasyonu kadar önemli olduğunu belirtmişlerdir(264). Aydın ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada sadece erkek faktörü nedeni IVF yapılan olguların serumlarında TAS, TOS ve OSI değerleri pre-OPU, post-OPU, pre-ET ve post-ET kriterlerine göre çalışılmış olup çalışmanın homojen bir gruba hitap ettiği düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda ise olguların IVF endikasyonları oldukça heterojen olup gün-2 ,pre-OPU ve pre -ET serumlarında ve OPU 'da alınan follikül sıvılarında çalışılmıştır. Çalışmalar; dizaynları açısından farklılık taşımaktadır. Oyawoye ve arkadaşları, bazal total antioksidan kapasitesi (TAC) ve bir ferric-reducing antioxidant power assay (FRAP) ile 63 çiftin foliküler aspiratındaki ve 303 folikül aspirasyonundaki TAC düşüşlerini hesaplamışlardır (263). Oositler fertilize olduğunda TAC'nin yüksek olması ve embriyo viyabilitesi ile ilişkili olarak yüksek olmasını not etmenin ilginç olmasına karşın reaktif oksijen ürünlerinin embriyo gelişiminin farklı aşamalarında farklı etkiler gösterebilir olarak bulmuşlardır. Oyawoye ve ark. larının yapmış olduğu çalışmada hem bazal TAC seviyesi hem de antioksidan tüketimi açısından (ikili assay) foliküler antioksidan aktivitesi ve foliküler sıvıda oositlerin bulunması arasında bir ilişki olduğuna dair kanıt bulunamamıştır. Oositlerin foliküllerden geri kazanılamamasından sorumlu olan faktörler net değildir ancak muhtemelen düşük HCG seviyelerine, altta yatan bir ovulatuvar bozukluğa veya prematür oosit atrezisine sekonder olarak bunun oosit immatüritesi ile ilişkili olduğuna dair bazı kanıtlar vardır (274). Bu sebeple, oksijen radikallerinin oositler ve embriyo üzerine etkisine karşı enzimatik olmayan temel savunması sistemi olduğu düşünülen (Takahashi et al., 1993; Gardiner et al., 1998) glutasyon seviyeleri ilgi alanına girmektedir ve hamster oositlerinde kıyaslandığında matür oositlerde daha yüksek immatür oositlerde daha düşüktür (Gwatkin and Haidri, 1974; Perreault et al., 1988). Düşük TAC seviyelerinin azalmış fertilizasyon potansiyelinin bir öngöstergesi olduğunu bulmuşlardır. Daha önce tartışıldığı üzere, bu durum Paszkowski ve arkadaşlarının düşük SeGPx seviyelerinin insanlarda

fertilizasyonun başarısız olması ile ilişkili olduğunu gösteren bulguları ile uyumludur(259). Ancak bu bulgular, Sabatini ve arkadaşlarının çalışmalarının sonucunda ortaya çıkan oositleri fertilize olmayanların foliküler sıvılarında oositleri fertilize olanların foliküler sıvılarına kıyasla daha yüksek SOD aktivitesi olduğu bulgusu ile çelişmektedir (275). Bu uyumsuzluk metodolojik farklılıkları yansıtır olabilir; Sabatini tek bir antioksidan enzim üzerinde çalışırken Oyawoye ve ark. ları TAC'ni ölçmüştür (263). Bizim çalışmamızda ise enzimik veya non-enzimatik antioksidan savunma sistemlerinden herhangi biri çalışılmamış olup sadece TAS,TOS ,OSI değerleri çalışılmıştır,örnek gösterilen çalışmalar arasında teknik farklılıklar içermektedir.Ayrıca Sabati ve arkadaşları düşük TAC seviyelerinin transfer zamanına kadar artmış embriyo viabilitesi ile ilişkili olduğunu da bulmuşlardır(275). Bu sonuçlarda ayrıca, artmış ROS aktivitesinin bozulmuş embriyo gelişimi ile ilişkili olduğunu bulan Paszkowski ve Clarke'in Yang'in sonuçları ile çatışmaktadır (276,277).Bizim çalışmamızda ise anlamlı bir sonuç bulunamamıştır. Bu uyumsuzluğun sebepleri net değildir.Konunun aydınlatılabilmesi daha fazla sayıda çalışmanın yapılması önerilmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızın sonuçları;

- 1) 100 hastanın genel özellikleri incelendiğinde yaş ortalamaları 30.3 ± 0.5 (yıl) , BMI ortalamaları 24.9 ± 0.43 (kg/m^2), infertilite sürelerinin ortalamaları 5.7 ± 0.4 (yıl) idi.
- 2) Çalışmaya katılan hastaların tanısı konulmuş hastalık öyküleri ile biyokimyasal ve klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.
- 3) Sigara kullanımına göre biyokimyasal ve klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.
- 4) Biyokimyasal gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında yaş,VKİ,evlilik süresi,infertilite süresi,sperm hacmi,progresif ileri motil sperm sayısı,bazal FSH ,LH, E2 seviyesi,AMH düzeyi,ultrasonografide endometrium kalınlığı,total gonadotropin dozu, toplam indüksiyon gün sayısı,OCCC,M2 oosit ,HCG günü endometrium kalınlığı arasında anlamlı fark saptanmadı.
- 5) Biyokimyasal gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında sperm sayısı, GV ve Gün 14 te HCG seviyesi açısından anlamlı fark saptandı. ($p < 0,05$)
- 6) Klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında yaş,VKİ,evlilik süresi,infertilite süresi,sperm hacmi,progresif ileri motil sperm sayısı,bazal FSH ,LH,E2 seviyesi,AMH düzeyi,ultrasonografide endometrium kalınlığı,total gonadotropin dozu, toplam indüksiyon gün sayısı,OCCC,M2 oosit ,HCG günü endometrium kalınlığı arasında anlamlı fark saptanmadı.
- 7) Klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında GV ve Gün 14 te HCG seviyesi açısından anlamlı farklılık saptandı. ($p < 0,05$)
- 8) Infertilite nedenleri ile (erkek faktör,endometriozis,açıklanamayan infertilite,tubal faktör,poor responder,PCOS) biyokimyasal ve klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.
- 9) Kullanılan IVF protokolleri ile (antagonist protokol,long lucrin protokol,E2 antagonist protokol, hipogonadotropik hipogonadizm protokol) biyokimyasal ve klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

- 10)Gün-3 te elde edilmiş embriyo sayısı ile biyokimyasal gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.
- 11)Gün-3 te elde edilmiş embriyo sayısı ile klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı fark saptandı.(p:0,020)
- 12)Gün-3 te transfer edilen embriyo sayısı ile biyokimyasal ve klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.
- 13)Biyokimyasal gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında Gün 2 de alınan TOS değeri ve Gün-2 de hesaplanan OSI değeri arasında anlamlı sonuç bulundu. (p< 0,05)
- 14)Klinik gebeliği olanlar ile olmayanlar arasında Gün-2 de alınan serumda çalışılan TAS,TOS ve OSI değerleri,OPU esnasında alınan serumda çalışılan TAS,TOS ve OSI değerleri,foliküler sıvıda çalışılan TAS,TOS ve OSI değerleri ile embriyo transferi esnasında alınan serumda çalışılan TAS,TOS ve OSI değerleri arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı.
- 15)Biyokimyasal gebeliği öngörmede % 80 ve üzerinde güce sahip olanın Gün-2 de alınan serum çalışmalarındaki TOS ve OSI parametrelerinin olduğu saptandı.Diğer TAS,TOS ve OSI değerlerinin biyokimyasal gebeliği öngörmedeki gücü zayıf olarak tespit edildi.
- 16)Gün-2 de alınan serumda çalışılan örnekteki TOS değerinin biyokimsal gebelik için anlamlı olduğu değerin TOS değerinin >31 ve üzerinde çıkan değerler olduğu saptandı.
- 17)Gün-2 de alınan serumda çalışılan örnekteki OSI değerinin biyokimsal gebelik için anlamlı olduğu değerin OSI değerinin >21,72 ve üzerinde çıkan değerler olduğu saptandı.
- 18)Klinik gebeliği olan hastaların ROC curve analizlerinde TAS,TOS VE OSI değerlerinin hiçbirinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Çalışmamızda olduğu gibi oksidan ve antioksidan kapasite belirteçlerinin fertilizasyon,embriyogenezis ve klinik gebeliği artırıcı etkisinin araştırılmasına yol gösterici olacağını düşünerek IVF olgularında biyokimyasal ve klinik gebeliği olanlarda serum ve folliküler sıvılarında TAS,TOS ve osı değerlerini değerlendirmeyi uygun gördük.

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

Çalışmamızda bulduğumuz verileri gebelik sonuçları ile karşılaştırdık. Ancak başarıyı predikte edebilecek bir veriye rastlamadık. Literatür çalışmalarında da kesin bir değere ulaşamamış olduğunu saptadık.

ART tedavilerindeki oksidan faktörlerin ve antioksidanların rolü üzerine yapılan çalışmaların bir çoğunda klinik gebelik yerine oosit geri kazanımı ve/veya fertilizasyon ve/veya embriyo gelişimi hedef nokta olarak düşünülmektedir. Dahası, bazı çalışmalarda oksidan kapasiteyi belirlemek için izole stres markerları kullanılmış olmasına karşın diğerlerinde toplam TOS ölçümleri kullanılmıştır (263,264,265). TAS seviyelerine ilişkin, bazı çalışmalarda izole antioksidanlar ölçülmüşken diğerlerinde toplam TAS seviyesi ölçülmüştür(260,262,263). Ek olarak, ölçümler için farklı metotlar da kullanılmıştır. Farklı yöntemler kullanılarak farklı bölgelerdeki farklı maddeler ölçülmüş olduğundan kaynaklı, bu faktörler TAS ve TOS seviyelerinin klinik gebeliği nasıl etkilediği konusunda yorum yapmayı zorlaştırmaktadır. Net değerlerin ortaya konamamasının çalışma dizaynlarından kaynaklanabileceği, hastaların sahip olmuş olduğu hastalıklar ile sonuçların etkilenebileceği, kullanılan vitamin ve/veya organik desteklerin parametreler üzerinde değiştirici role sahip olabileceği önyargısına vardık.

Reaktif oksijen türlerinin insan üremesindeki rolünün net olmaması sürmektedir. Bu kafa karışıklıkları, kullanılan materyallerin (foliküler sıvı, embriyolar ve kültür ortamı), assay metotlarının (TAC, antioksidanlar ve antioksidan enzimler) ve sonlanım noktalarının (bir oosit varlığı, fertilizasyon, embriyo viabilitesi ve gebelik) farklılık göstermesinden kaynaklanmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin ve oksijen radikallerinin ovülasyon öncesindeki rollerinin fertilizasyon veya embriyo viabilitesi ile ilişkili olanlardan farklılık gösterdiği görülmektedir. İnsanlardaki fertilizasyon regülasyonu açısından yeni stratejiler geliştirilmesine yol açabilecekleri için fizyolojik ve patolojik rollerini ve kadınların üremesiyle olan ilişkilerini aydınlatmak için daha kapsamlı hipotezler kurulmalıdır. Sonuçlar yeni

Çalışmaların önünü açmakla birlikte daha fazla sayıda hasta popülasyonu ile yapılmasını önermek daha doğru olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Benyamini Y, Gozlan M, Kokia E. Variability in the difficulties experienced by women undergoing infertility treatments. *Fertil Steril* 2005; 83:275–283.
2. The Practise Committee of the American Society of Reproductive Medicine. Optimal evaluation of the infertile female. *Fertil Steril* 2004; 82 (Suppl. 1): S169-S172.
3. Speroff L, Glass RH, Kase NG. Assisted reproduction. In: Speroff L, Glass RH, Kase NG, eds. *Clinical gynecologic endocrinology and infertility*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:643-724.
4. Alles A, Alley K, Barrett JC, et al. Apoptosis a General Comment, *FASEB J*; 1991 May;5(8):2127-8.
5. Vaskivuo TE, Anttonen M, Herva R, et al. Survival of human ovarian follicles from fetal to adult life: apoptosis, apoptosis-related proteins and transcription factor GATA-4. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3421–9.
6. Ueno T, Toi M, Tominaga T. Circulating soluble Fas concentration in breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 1999;5:3529–33.
7. Sarandakou A, Malamitsi-Puchner A, Baka S, Rizos D, Hassiakos D, Creatsas G. Apoptosis and proliferation factors in serum and follicular fluid from women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2003;79:634–6.
8. Malamitsi-Puchner A, Sarandakou A, Baka S, et al. Concentrations of angiogenic factors in follicular fluid and oocyte-cumulus complex culture medium from women undergoing in vitro fertilization. Association with oocyte maturity and fertilization. *Fertil Steril* 2001;76:98–101.
9. Onalan G, Selam B, Baran Y, et al. Serum and follicular fluid levels of soluble Fas, soluble Fas ligand and apoptosis of luteinized granulosa cells in PCOS patients undergoing IVF. *Hum Reprod* 2005;20(9):2391–5.

10. Jose de los Santos M, Anderson DJ, Racowsky C, Hill JA. Presence of Fas–Fas ligand system and bcl-2 gene products in cells and fluids from gonadotropin-stimulated human ovaries. *Biol Reprod* 2000;63:1811–6.
11. Lue Y, Amiya P, et al. Testicular Heat Exposure Enhances the suppression of Spermatogenesis by Testosterone in Rats: The "Two-Hit" Approach to Male Contraceptive Development. *Endocrinology*. 2000; 141(4): 1414-1424.
12. Vasconcelos EMA, Degasperi GR. Reactive oxygen species generation in peripheral blood monocytes and oxidized LDL are increased in hyperlipidemic patients. *Clinical Biochemistry* 2009; 42: 1222–1227.
13. Donne ID , Aldini G. Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 2007;10 (2): 389-406.
14. Sarban S, Kocyigit A. Plasma total antioxidant capacity, lipid peroxidation, and erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Clinical Biochemistry* 2005;38(11):981-986.
15. Guerin P, El Moutassim S, Menezo Y. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embriyo and its surroundings. *Hum Reprod Update* 2001;7:175-89.
16. Speroff L, Fritz MA, İnfertilite. İç: Erk A, Günalp S, editörler; *Klinik Jinekolojik Endokrinoloji Ve İnfertilite*. Ankara-İstanbul: Güneş Tıp Kitapevleri; 2007.s.1013-1274.
17. Ayhan, Durukan, Günalp, Gürkan, Önderoğlu, Yaralı, Yüce. İnfertilite. İç: Ayhan ve ark. editörler; *Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*. 2.basım. Ankara-İstanbul: Güneş Tıp Kitabevleri; 2008.s.1453-1753.
18. Miller JH, Weinberg RK, Canino NL, Klein NA, Solues MR. The pattern of infertility diagnoses in women of advanced reproductive age. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181(4):952-7.
19. Hoff JD, Quigley ME, Yen SS. Hormonal dynamics at midcycle: a reevaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;57(4):792-6.

20. Berek JS. Infertility. In: JS Berek, editör. Berek and Novak's Gynecology, 14th ed., Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.2007. p. 1185–1275.
21. Çiçek MN, Mollamahmutoğlu L, A'dan Z'ye Yardımcı Üreme Teknikleri, Ankara: Palme Yayıncılık; 2009.s.121-125.
22. Hassa H. İnfertil Olgulara Klinik Yaklaşım Ve IVF Laboratuvar Uygulamaları. Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi Basımevi;2003.
23. Stein IF, Leventhal ML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. Am J Obstet Gynecol.1935;29:181-90.
24. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). Hum Reprod.2004;19(1):41-7.
25. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group.Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. Fertil Steril.2004;81(1):19-25.
26. Attar E, Ata B, Polikistik Over Sendromu. İç: Attar E, Ata B, ed. Gomel'in Jinekolojisi. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri;2007.s.293-304.
27. Blacker CM, Diamond MP. Pelvic adhesions and infertility. In: Infertility: A comprehensive text. Seibel MM (ed). 2. Baskı, Appleton & Lange, Connecticut, ABD, 1997;655-68.
28. Zeyneloğlu HB, Arici A, Olive DL. Adverse effects of hydrosalpinx on pregnancy rates after in vitro fertilization-embryo transfer.Fertil Steril. 1998;70(3):492-9.

29. Marana R, Catalano GF, Muzii L, Caruana P, Margutti F, Mancuso S. The prognostic role of salpingoscopy in laparoscopic tubal surgery. *Hum Reprod.* 1999;14(12):2991-5.
30. Sperof L, Glass R.H, Kase N.G, eds. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility.* 6 th edition. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins,1999:487-522 and 1013-1132.
31. Burges S and Spanish Collaborative Group on Female Hypogonadotropic Hypogonadizm *Human Reprod*, 2001, 16: 2525-32.
32. Homburg R, Howles C.M. Low dose FSH treatment in unovulatory infertility with PCOS: Objectives, Results. Effects and Specifications. *Hum Reprod Upd* 1999;5: 493- 499.
33. White DM, Polson DW, Kiddy D, et al Induction of ovulation with low-dose gonadotropins in polycystic ovary syndrome: an analysis of 109 pregnancies in 225 women. *Clin Endocrinol Metab* 1996;81:3821-3824.
34. Lobo RA, Gysler M, March CM, Goebelsmann U, Mishell DR, Jr. Clinical and labarotory predictors of clomiphene response, *Fertil Steril* 1982;37:168.
35. Clark JH, Markaverich BM, The agonistic-antagonistic properties of clomiphene: a rewiev, *Pharmacol Ther* 1982;15:467.
36. Gorlitsky GA, Kase NG, Speroff L, Ovulation induction rates with clomiphene citrate, *Obstet Gynecol* 1978;51:261.
37. Dodge ST, Strickler RC, Keller DW, Ovulation induction with low dose of clomiphene citrate, *Obstet Gynecol* 1986;67:638.
38. *European practice in Gynaecology and Obstetrics, Ovulation induction, 2002.*

39. Fatemi HM, Kolibianakis E, Tournaye H, Camus M, Van Steirteghem AC, Devroey P. Clomiphene citrate versus letrozole for ovarian stimulation : a pilot study. *Reprod Biomed Online* 2003;7(5):543-6.
40. Femara patient prescribing information. www.usfemara.com/info/page/prescribing.
41. Kashyap S, Wells GA, Rosenwaks Z. Insulin sensitizing agents as primary therapy for patients with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod* 2004 ;19(11):2474-83.
42. Ben-Rafael Z, Levy T, Schoemaker J. Pharmacokinetics of follicle-stimulating hormone: clinical significance. *Fertil Steril* 1998; 69: 40-49.
43. Boime I, Ben-Menahem D, and Olijve W. Studies of recombinant gonadotropins: intersection of basic science and therapeutics. in: Fauser P, CJM, Rutherford AJ, Strauss JF, Van Steirteghem A. *Molecular Biology in Reproductive Medicine*. Parthenon Publishing, London 1999, pp 147-164.
44. Van Santbrink EJP, Fauser BCJM. Urinary Follicle Stimulating Hormone for Normogonadotropic Clomiphene-Resistant Anovulatory Infertility: Prospective, Randomized Comparison between Low Dose Step-Up and Step-Down Dose Regimens. *Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3597-3601.
45. Loumaye E, Campbell R, Salat-Boroux J. Human follicle-stimulating hormone produced by recombinant DNA technology: a review for clinicians. *Hum reprod.* 1995;1: 188-199.
46. Özgüven T. Üreme Fizyolojisi. Çiçek M. N, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A. *Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*. 2. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi;; 2006. s.101-10.
47. Sengoku K, Tamate K, Takaoka Y, et al. The clinical efficacy of low-dose step up follicle stimulating hormone administration for treatment of unexplained

- infertility. *Hum Reprod* 1999; 14:349-353.
48. Whelan III JG, Vlahos NK: The ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 2000; 73: 883-896.
 49. Andoh K, Mizunuma H, Liu X, et al. A comparative study of fixed-dose, stepdown, and low dose step-up regimens of human menopausal gonadotropin for patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1998; 70: 840-846.
 50. Sagle MA, Hamilton-Fairley D, Kiddy DS, Franks S. A Comparative, randomized study of low-dose human menopausal gonadotropin and follicle stimulating hormone in woman with polycystic ovarian syndrome. *Fertil Steril* 1991; 55: 56-60.
 51. Hamilton-Fairley D, Kiddy D, Watson H, Saale M, and Franks S. Low-dosegonadotrophin therapy for induction of ovulation in 100 women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 1991; 6:1095-1099.
 52. Polson DW, Mason HD, Saldahna MBY, and Franks S. Ovulation of a single dominant follicle during treatment with low-dose pulsatile follicle stimulating hormone in women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol* 1987; 26: 205-212.
 53. Polson DW, Mason HD, Kiddy DS. Low-dose follicle-stimulating hormone in the treatment of polycystic ovary syndrome: a comparison of pulsatile subcutaneous with daily intramuscular therapy. *Br J Obstet Gynaecol* 1989; 96: 746-748.
 54. Buvat J, Buvat-Herbaut M, Marcolin G. et al. Purified follicle-stimulating hormone in polycystic ovary syndrome: slow administration is safer and more effective. *Fertil Steril* 1989;52:553-559.
 55. Mizunuma H, Takagi T, Yamada K, et al. Ovulation induction by step-down

administration of purified urinary follicle-stimulating hormone in patients with polycystic ovarian syndrome. *Fertil Steril* 1991; 55: 1195-1196.

56. Schipper I, Hop WCJ, Fauser BCJM. The follicle-stimulating hormone (FSH) threshold-window concept examined by different interventions with exogenous FSH during the follicular phase of the normal menstrual cycle duration rather than magnitude of FSH increase affects follicle development. *Clin Endocrinol Metab* 1997; 83:1292- 1298.
57. Cuellar FG. Bromocriptine mesylate (Parlodel) in the management of amenorrhea/galactorrhea associated with hyperprolactinemia. *Obstet Gynecol* 55:278;1980.
58. Knochenhauer ES, Key TJ, Kahsar-Miller M, et al. Prevalence of polycystic ovary syndrome in unselected black and white women of the southeastern United States: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998;83:3078-3082.
59. Michelmore KF, Balen AH, Dunger DB, et al. Polycystic ovaries and associated clinical and biochemical features in young women. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1999;51:779-786.
60. Stein IF, Leventhal NL. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol*, 1935;29:181-191.
61. Franks S, Mason H, Willis D. Follicular dynamics in the polycystic ovary syndrome. *Mol Cell Endocrinol*, 2000;163, 49-52.
62. Aziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004;89:2745- 2749.
63. Balen AH, Conway GS, Kaltsas G, Techatrasak K et al. Polycystic ovary

- syndrome: the spectrum of the disorder in 1741 patients. *Hum Reprod*, 1995;10:2107-2111.
64. Maheshwari A, Hamilton M, BhatTAKharya S. Effect of female age on the diagnostic categories of infertility. *Hum Reprod*, 2008; 23(3):538-542.
65. Guzick D, Sullivan MW, Adamson GD, Cedars MI, Falk RJ, Peterson EP, Steinkampf MP. Efficiency of treatment for unexplained infertility. *Fertil Steril*, 1998;70(2):207-213.
66. Brandes M, Hmlilton CJ, van der Steen JO, de Bruin JP, Bots RS, Nelen WL, Kremer JA. Unexplained infertility: overall ongoing pregnancy rate and mode of conception. *Hum Reprod*, 2011;26(2):360-368.
67. Pauerstein CJ, Eddy CA. The role of the oviduct in reproduction; our knowledge and our ignorance. *J Reprod Fertil*. 1979 Jan;55(1):223-14.
68. Croxatto HB, Ortiz ME, Diaz S, Hess R, Balmececa J, Croxatto HD. Studies on the duration of egg transport by the human oviduct. II. Ovum location at various intervals following luteinizing hormone peak. *Am J Obstet Gynecol*. 1978 Nov 15;132(6):629-34.
69. Farquar CM, Extracts from the 'clinical evidence'. *Endometriosis*. *Br Med J* 2000;320:1449-52.
70. Hughes EG, Fedorkow DM, Collins JA. A quantitative overview of controlled trials in endometriosis associated infertility. *Fertil Steril*, 1993;59: 963-970.
71. Jansen RP. Minimal endometriosis and reduced fecundability: prospective

- evidence from an artificial insemination by donor program. *Fertil Steril*, 1986; 46:141-143.
72. Matorras R, Corcostegui B, Esteban J, et al. Fertility in women with minimal endometriosis compared with normal women was assessed by means of a donor insemination program in unstimulated cycles. *Am J Obstet Gynecol*. 2010;Oct;203(4):345.e1-6.
73. Rodriguez –Escudero FJ, Neyro JL, Corcostegui B, et al. Does minimal endometriosis reduce fecundity? *Fertil Steril*, 1998;50:522- 524.
74. Al-Fadhi R, Kelly SM, Tulandi T, et al.. Effects of different stages of endometriosis on the outcome of in vitro fertilization. *J Obstet Gynaecol*. 2006 Oct;28(10):888-891.
75. Barnhart K, Dunsmoor-Su R, Coutifaris C.. Effect of endometriosis on in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 2002;77:1148-55.
76. Kuivasaari P, Hippelainen M, Anttila M, et al. Effect of endometriosis on IVF/ICSI outcome: stage III/IV endometriosis worsens cumulative pregnancy and liveborn rates. *Hum Reprod*. 2005 Nov;20(11):3130-5.
77. Dechaud H, Dechanet C, Brunet C, et al. Endometriosis and in vitro fertilization: a review. *Gynecol Endocrinol*. 2009 Nov;25(11):717- 721.
78. Glatstein IZ, Best CL, Palumbo A, Sleeper LA, Friedman AJ, Hornstein MD. The reproducibility of the postcoital test: a prospective study. *Obstet Gynecol*. 1995;85(3):396-400.
79. Forti G, Krausz C. Evaluation and treatment of the infertile couple. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1998;83(129):4177-88.

80. Hassa H. İnfertil Olgulara Klinik Yaklaşım Ve IVF Laboratuvar Uygulamaları. Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi Basımevi;2003.
81. The American Fertility Society. The American Fertility Society classifications of adnexal adhesions, distal tubal occlusion, tubal occlusion secondary to tubal ligation, tubal pregnancies, müllerian anomalies and intrauterine adhesions. *Fertil Steril*.1988;49(6):944-55.
82. Homer HA, Li TC, Cooke ID. The septate uterus: review of management and reproductive outcome. *Fertil Steril*.2000;73(1):1-14.
83. Kaufman RH, Adam E, Binder GL, Gerthoffer E. Upper genital tract changes and pregnancy outcome in offspring exposed in utero to diethylstilbestrol. *Am J Obstet Gynecol*.1980;137(3):299-308.
84. Pal L, Shifren JL, Isaacson KB, Chang Y, Marean M, Leykin L, Toth TL. Outcome of IVF in DES-exposed daughters: experience in the 90s. *J Assist Reprod Genet*. 1997;14(9):513-7.
85. Donnez J, Jadoul P. What are the implications of myomas on fertility? A need for a debate? *Hum Reprod*. 2002 Jun;17(6):1424-30.
86. Shalev J, Meizner I, Bar-Hava I, Dicker D, Mashiach R, Ben-Rafael Z. Predictive value of transvaginal sonography performed before routine diagnostic hysteroscopy for evaluation of infertility. *Fertil Steril*. 2000;73(2):412-7.
87. Ismajovich B, Lidor A, Confino E, David MP. Treatment of minimal and moderate intrauterine adhesions (Asherman's syndrome). *J Reprod Med*. 1985;30(10):769-72.
88. De los Santos MJ, Mercader A, Galan A, Albert C, Romero JL, Pellicer A. Implantation rates after two, three or five days of embryo culture. *Placenta*.

2003;24(Suppl B):13-9.

89. Bernard Jegou, Charles Pineau, Jorna Toppari. Spermatogenesis in vitro in mammals. In Assisted Reproductive Technology. Jonge CD, Barrat CLR, eds. ,Cambridge University Pres: Cambridge. 2002;3-25.
90. World Health Organization: WHO manual for the standarized investigation and diagnosis of the infertil couple. P:7, Cambridge University Pres 1993, Cambridge.
91. Anthony V Hirsh. The investigation and therapeutic options for infertile men presenting in assisted reproduction: the Bourn Hall guide the clinical and laboratory practice. Second ed, Brinsden PR, ED. New York: Parthenon Publishing. 1999; 27-52.
92. Acosta A, Khalifa E, Oehninger S. Pure human follicle stimulating hormone has a role in the treatment of severe male infertility by assisted reproduction. Norfolk's total experil 1992.
93. Huang H, Hansen KR, Factor-Litvak P, Carson SA, Guzick DS, Santoro N, Diamond MP, Eisenberg E, Zhang H. Predictors of pregnancy and live birth after insemination in couples with unexplained or male-factor infertility. Fertil Steril. 2012;97(4):959-67.
94. Pandian Z, Gibreel A, Bhattacharya S. In vitro fertilisation for unexplained subfertility. Cochrane Database Syst Rev. 2012 Apr 18;4:CD003357.
95. Fishel S, Aslam I, Lisi F, Rinaldi L, Timson J, Jacoboson M, Gobetz L, Green S, Campbell A, Lisi R. Should ICSI be the treatment of choice for all cases of in vitro conception. Hum Reprod 2000;15(6):1278-83.
96. Çiçek MN, Mollamahmutoğlu L, A'dan Z'ye Yardımcı Üreme Teknikleri, Ankara: Palme Yayıncılık; 2009.s.121-125.

97. Alexander Quaas, MD, PhD, Anuja Dokras, MD, PhD, Diagnosis and Treatment of Unexplained Infertility ; Rev Obstet Gynecol. 2008;1(2):69-76.
98. Scott RT, Toner JP, Muasher SJ, Oehninger S, Robinson S, Rosenwaks Z. Follicle-stimulating hormone levels on cycle day 3 are predictive of in vitro fertilization outcome. Fertil Steril.1989;51(4):651-4.
99. Smotrich DB, Widra EA, Gindoff PR, Levy MJ, Hall JL, Stillman RJ. Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome. Fertil Steril. 1995;64(6):1136-40.
100. Balasch J. Investigation of the infertile couple, Human Reproduction. 2000;15(11):2251-7.
101. Günalp S, Aktan E, Yücel A (eds). WHO laboratuvar el kitabı: insan semeni ve sperm servikal mukus etkileşimi değerlendirilmesi. Ankara: Tıp Teknik Yayınevi; 4.baskı, 2002.s. 6-7-60-61.
102. Işık AZ, Vicdan K. In Vitro Fertilizasyon ve Mikromanüplasyon Uygulamalarında Laboratuvar,1999;79:129-151.
103. Anthony V Hirsh. The investigation and therapeutic options for infertile men presenting in assisted reproduction: the Bourn Hall quide the clinical and laboratory practice. Second ed, Brinsden PR, ED. New York:Parthenon Publishing.1999; 27-52.
104. Van Steirteghem A, Liu J, Nagy Z, Joris H, Tournaye H, Liebaers I, Devroey P. Use of assisted fertilization. Hum Reprod.1993;8(11):1784-5.
105. Sigman M. Assisted reproductive techniques and male infertility.Urol Clin North Am.1994;21(3):505-15.

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

- Testicular spermextraction with intracytoplasmic sperm injection for nonobstructive azoospermia: testicular histology can predict success of sperm retrieval. *J Urol*.1999;161(1):112-116.
- 116.Djahanbakhch O, Ezzati M, Zosmer A. Reproductive ageing in women. *J Pathol*. 2007;211(2):219-31.
- 117.Maheshwari A, Hamilton M, Bhattacharya S. Effect of female age on the diagnostic categories of infertility.*Hum Reprod*.2008;23(3):538-42.
- 118.George K, Kamath MS. Fertility and age. *J Hum Reprod Sci*.2010;3(3):121-3.
- 119.Roudebush WE, Kivens WJ, Mattke JM. Biomarkers of Ovarian Reserve. *Biomark Insights*.2008;3:259-268.
- 120.La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Artenisio AC, Stabile G, Volpe A. Anti-Mullerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Hum Reprod Update*.2010;16:113-130.
- 121.Chien LW, Lee WS, Au HK, Tzeng CR. Assessment of changes in utero-ovarian arterial impedance during the peri-implantation period by Doppler sonography in women undergoing assisted reproduction.*Ultrasound Obstet Gynecol*. 2004;23:496-500.
- 122.Cevrioğlu AS, Ovarian fizyoloji,Ovaryan rezerv testleri. İç: Çiçek MN,editör. *Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*. İkinci basım, Ankara:Güneş Tıp Kitapevi; 2006.s.1413-1432.
- 123.Muasher SJ, Abdallah RT, Hubayter ZR. Optimal stimulation protocols for in vitro fertilization.*Fertil Steril*.2006;86(2):267-73.
- 124.Gleicher N, Weghofer A, Barad DH. Discordances between follicle stimulating

- hormone (FSH) and anti-Müllerian hormone (AMH) in female infertility. *Reprod Biol Endocrinol.*2010;8:64.
125. Bukman A, Heineman MJ. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility. *Hum Reprod Update.*2001;7(6):581-90.
126. Loumaye E, Billion JM, Mine JM, Psalti I, Pensis M, Thomas K. Prediction of individual response to controlled ovarian hyperstimulation by means of a clomiphene citrate challenge test. *Fertil Steril.*1990;53(2):295-301.
127. Jee BC, Ku SY, Suh CS, Kim KC, Lee WD, Kim SH. Seoul National University College of Medicine Assisted Reproductive Technology (SMART) Study Group. Serum anti-Müllerian hormone and inhibin B levels at ovulation triggering day can predict the number of immature oocytes retrieved in in vitro fertilization cycles. *J Korean Med Sci.*2008;23(4):657-61.
128. Seifer DB, Scott RT Jr, Bergh PA, Abrogast LK, Friedman CI, Mack CK, Danforth DR. Women with declining ovarian reserve may demonstrate a decrease in day 3 serum inhibin B before a rise in day 3 follicle-stimulating hormone. *Fertil Steril.* 1999;72(1):63-5.
129. Flaws JA, Langenberg P, Babus JK, Hirshfield AN, Sharara FI. Ovarian volume and antral follicle counts as indicators of menopausal status. *Menopause* 2001;8(3):175-80.
130. Lass A, Silye R, Abrams DC, Krausz T, Hovatta O, Margara R, Winston RM. Follicular density in ovarian biopsy of infertile women: a novel method to assess ovarian reserve. *Hum Reprod* 1997;12(5):1028-31.
131. Picon P. Action of the fetal testis on the development in vitro at müllerian duct in the rat. *Arc Anat Micrise Morphol Exp.*1983;58(1):19.

132. Teixeira J, Maheswaran S, Donahoe PK. Müllerian inhibiting substance, an instructive developmental hormone with diagnostic and possible therapeutic applications. *Endoc Rev.* 2001;22(5):657-74.
133. Matzuk MM, Burns KH, Viverios MM, Eppig JJ. Intercellular communication in the mammalian ovary: oocytes carry the conversation. *Science* 2002;296(5576):2178-80.
134. Knight PG, Glister C. TGF- β super family members and ovarian follicle development. *Reproduction* 2006;132:191-206.
135. Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, Cranfield M, Groome NP, Visser JA, Kramer P, Fauser BC, Themmen AP. Anti-müllerian Hormone expression pattern in the human ovary, potential implications for initial and acyclic follicle recruitment. *Mol human Reprod* 2004;10(2):77-83.
136. Van Rooij IA, Broekmans FJ, te Velde ER, Fauser BC, Bancsi LF, de Jong FH, Themmen AP. Serum Anti-müllerian Hormone levels. a novel measure of ovarian reserve. *Hum Reprod* 2002;17:3065-71.
137. Velde ER, Van Leusden HA. Hormonal treatment for the climacteric: alleviation of symptoms and prevention of past menopausal disease. *Lancet.* 1994; 343:654-58.
138. Durlinger ALL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Kumar TR, Matzuk MM, Rose UM, de Jong FH, Uilenbroek JT, Grootegoed JA, Themmen AP. Anti-müllerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology.* 2001;142(11):4891-99.
139. Durlinger ALL, Visser JA, Themmen APN. Regulation of ovarian function; The role of Anti-Müllerian Hormone. *Reproduction.* 2002;124:601-9.
140. Ledger WL: Clinical utility of measurement of anti-müllerian hormone in

reproductive endocrinology. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:5144-54.

141. Teixeira J, Maheswaran S, Donahoe PK. Mullerian inhibiting substance: An instructive developmental hormone with diagnostic and possible therapeutic applications. *Endocr Rev.* 2001;22(5):657-74.
142. Picon R. Action of the fetal testis on the development in vitro of the Mullerian ducts in the rat. *Arch Anat Microse Morphol Exp.* 1969;58(1):1-19.
143. Paulson RJ, Sauer MV, Francis MM, Macaso TM, Lobo RA, IN vitro fertilization in unstimulated cycles; the University of Southern California experience, *Fertil Steril* 57: 290,1992.
144. Claman P, Domingo M, Garner P, Leader A, Spence JEH, Natural cycle in vitro fertilization-embryo transfer at the University of Ottawa: an inefficient therapy for tubal infertility, *Fertil Steril* 60: 298,1993.
145. Fahy UM, Cahill DJ, Wardle PG, Hull MG, In-vitro fertilization in completely natural cycles *Hum Reprod*10:572,1995.
146. Ng EH, Chui DK, Tang OS, Lau EY, Yeung WS, Chung HP, In vitro fertilization and embryo transfer during natural cycles, *J Reprod Med* 46:95,2001.
147. Ingerslev HJ, Hojgaard A, Hindkjaer J, Kesmodel U, A randomized study comparing IVF In the unstimulated cycle with IVF following clomiphene citrate, *Hum Reprod* 16:696,2001.
148. Diamond MP, Hill GA, Webster BW, Herbert CM, Rogers BJ, Osteen KG, Maxson WS, Vaughn WK, Wentz AC, Comparison of human menopausal gonadotropin, clomiphene citrate, and combined human menopausal gonadotropin-clomiphene citrate stimulation protocols for in vitro fertilization, *Fertil Steril* 46: 1108, 1986.

149. Corfman RS, Mila MS, Bellavance TL, Ory SC, Erickson LD, Ball GD, A novel ovarian stimulation protocol for use for assisted reproductive technologies, *Fertil Steril* 60:864,1993.
150. Dor J, Ben Shlomo, Levran D, Rudak E, Yunish M, Mashiach S, The relative success of gonadotropin-releasing hormone analogue, clomiphene citrate, and gonadotropin in 1099 cycles of in vitro fertilization, *Fertil Steril* 58:986,1992.
151. Meldrum D, GnRH agonists as adjuncts for in vitro fertilization, *Obstet Gynecol* 44:314,1989.
152. Edwards RG, Lobo R, Bouchard P, Time to revolutionize ovarian stimulation, *Hum Reprod* 11: 917, 1996.
153. Janssens RM, Lambalk CB, Vermeiden JP, Schats R, Bernards JM, Rekers-Mombarg LT, Schoemaker J, Dose-finding study of triptorelin acetate for prevention of a premature LH surge in IVF: a prospective randomized, double blind, placebo-controlled study, *Hum Reprod* 15: 2333,2000.
154. Hughes EG, Federkow DM, Daya S, Sagle MA, Van de Koppel P, Collins JA, The routine use of gonadotropin-releasing hormone agonists prior to in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer: meta-analysis of randomised controlled trial, *Fertil Steril* 58:888,1992.
155. Daya S, Gonadotropin releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitization in in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer cycles, *Cochrane Database Syst Rev* CD001299,2000.
156. Meldrum DR, Wisot A, Hamilton F, Gutlay AL, Huynh D, Kempton W, Timing of initiation and dose schedule of leuprolide influence the time course of ovarian suppression, *Fertil Steril* 50: 400, 1988.

157. Urbancsek J, Witthaus E, Midluteal buserelin is superior to early follicular phase buserelin in combined gonadotropin-releasing hormone analog and gonadotropin stimulation in in vitro fertilization, *Fertil Steril* 65: 966, 1996.
158. Ron-El R, Hermann A, Golan A, Nachum H, Soffer Y, Caspi E, Gonadotropins and combined gonadotropin-releasing hormone agonist—gonadotropins protocols in a randomized prospective study, *Fertil Steril* 55:574,1991.
159. Thatcher SS, Jones EE, Decherney AH, ovarian cysts decrease the success of controlled ovarian stimulation and in vitro fertilization, *Fertil Steril* 52: 812, 1989.
160. Keltz MD, Jones EE, Duleba AJ, Polcz T, Kennedy K, Olive DL, Baseline cyst formation after luteal phase gonadotropin-releasing hormone agonist administration is linked to poor in vitro fertilization outcome, *Fertil Steril* ,64: 568, 1995.
161. Segal S, Shifren JL, Isaacson KB, Leykin L, Chang Y, Pal L, Toth TL, Effect of a baseline cyst on the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer, *Fertil Steril* 71:274,1999.
162. Zeyneloğlu HB, Işık AZ, Kara S, Senoz S, Ozcan U, Gokmen U, Impact of baseline cysts at the time of administration of gonadotropin-releasing hormone analogue for in vitro fertilization, *Int J Fertil Womens Med* 43:300,1998.
163. Penzias AS, Jones EE, Seifer DB, Grifo JA, Thatcher SS, DeCherney AH, Baseline ovarian cysts do not affect clinical response to controlled ovarian hypostimulation for in vitro fertilization, *Fertil Steril* 57:1017,1992.
164. Goldberg JM, Miller FA, Friedman CI, Dodds WG, Kim MH, effect of baseline ovarian cysts on in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer cycles, *Fertil Steril* 55:319,1991.

165. Hornstein MD, Barbieri RL, Ravnikar VA, McShane PM, The effects of baseline ovarian cysts on the clinical response to controlled ovarian hyperstimulation in an in vitro fertilization program, *Fertil Steril* 52:437,1989.
166. Karande VC, Scott RT, Jones GS, Muasher SJ, Non-functional ovarian cysts do not affect ipsilateral or contralateral ovarian performance during in vitro fertilization, *Hum Reprod*, 5:431,1990.
167. Rizk B, Tan SL, Kingsland C, Steer C, Mason BA, Campbell S, Ovarian cyst aspiration and the outcome of in vitro fertilization, *Fertil Steril*,54:661,1990.
168. Balasch J, Vidal E, Penarrubia J, Casamitjana R, Carmona F, Creus M, Fabregues F, Vanrell JA, Suppression of LH during ovarian stimulation; analysing threshold values and effects ovarian response and the outcome of assisted reproduction in down-regulated women stimulated with recombinant FSH, *Hum Reprod* 16:1636,2001.
169. Ueno J, Oehninger S, Bryzski KT, Acosta AA, Philput B, Muasher SJ, Ultrasonographic appearance of the endometrium in natural and stimulated in vitro fertilization cycles and its correlation with outcome, *Hum Reprod* 6:901,1991.
170. Bergh C, Hillensjo T, Nilsson L, Sonographic evaluation of the endometrium in in vitro fertilization IVF cycles. A way to predict pregnancy ? *Acta Obstet Gynecol Scand* 71:624,1992.
171. Oliveira JB, Baruffi RL, Mauri AL, Petersen CG, Borges MC, Frango JG, Jr., Endometrial ultrasonography as a predictor of pregnancy in an in vitro fertilization programme after ovarian stimulation and gonadotropin- releasing hormone and gonadotrophins, *Hum Reprod* 12: 2515, 1997.
172. Noyes N, Liu HC, Sultan K, Schattman G, Rosenwaks Z, Endometrial thickness

appears to be a significant factor in embryo implantation in in vitro fertilization, Hum Reprod 10: 919; 1995.

173. Gruijters MJ, Visser JA, Durlinger AL, Themmen AP. Anti-Mullerian hormone and its role in ovarian function. Mol Cell Endocrinol.2003;211(1-2):85-90.
174. Asimakopoulos B, Nikolettos N, Papachristou DN, Simopoulou M, Al-Hasani S, Diedrich K. Follicular fluid levels of vascular endothelial growth factor and leptin are associated with pregnancy outcome of normal women participating in intracytoplasmic sperm injection cycles. Physiol Res. 2005;54(3):263-70.
175. Adashi EY. Clomiphene citrate-initiated ovulation: a clinical update. Semin Reprod Endocrinol.1986;4:255-76.
176. Kessel B, Hsueh AJ. Clomiphene citrate augments follicle-stimulating hormone-induced luteinizing hormone receptor content in cultured rat granulosa cells. Fertil Steril.1987;47(2):334-40.
177. Eden JA, Place J, Carter GD, Jones J, Alagband-Zadeh J, Pawson ME. The effect of clomiphene citrate on follicular phase increase in endometrial thickness and uterine volume. Obstet Gynecol.1989;73(2):187-90.
178. Weinstein D, Shenker JG. Ovarian hyperstimulation syndrome. A current survey. Fertil Steril.1978;30(3):225-268.
179. Kettel LM, Rosef SH, Berga SL, Mortola JF. Hypothalamic-pituitary-ovarian response to clomiphene citrate in women with polycystic ovarian syndrome Fertil Steril.1993;59(3):532-8.
180. Suchanek E, Simunic V, Juretic D, Grizelj V. Follicular fluid contents of hyaluronic acid, follicle-stimulating hormone and steroids relative to the success of in vitro fertilization of human oocytes. Fertil Steril.1994;62(2):347-52.

181. Hammond MG. Induction of ovulation with clomiphene citrate. In Sciarra JJ, Speroff L, Simpson JL. ed, *Gynecology and Obstetrics*. Philadelphia: Harper-Row, 1987: s5.
182. Porcile A, Gallardo E, Venagas E. Normprolactinemic anovulation nonresponsive to clomiphene citrate: ovulation induction with bromocriptine. *Fertil Steril*. 1990;53(1):50-5.
183. Ron-El R, Herman A, Golon A. The comparison of early follicular and midluteal administration of long acting gonadotropin releasing hormone agonist. *Fertil Steril*. 1990;54(2):233.
184. Dor J, Itzkowic DH, Mashiach S, Lunenfeld B, Serr DM. Cumulative conception rates following gonadotropin therapy. *Am J Obstet Gynecol*. 1980;136(1):102-5.
185. Kistner RW. Sequential use of clomiphene citrate and human menopausal gonadotropin in ovulation induction. *Fertil Steril*. 1976;27(1):72-82.
186. Lu PY, Lee SH, Chen ALJ, Erickson LD, Atkinson EJ, Ory SJ. Minimal stimulation achieves pregnancy rates comparable to human menopausal gonadotropins in the treatment of fertility. *Fertil Steril*. 1996;65(3):583-7.
187. Lunenfeld B, Insler V. Human gonadotropins. In Wallach EE, Zacur AH. Ed. *Reproductive medicine and surgery*. St Louise, Mosby; 1995; s. 611.
188. Freour T, Masson D, Dessolle L, Allaoua D, Dejoie T, Mirallie S, Jean M, Barriere P. Ovarian reserve and in vitro fertilization cycles outcome according to women smoking status and stimulation regimen. *Arch Gynecol Obstet*. 2012;285(4):1177-82.
189. Kelly AC, Jewelewicz R. Alternate regimens for ovulation induction in polycystic

- ovarian disease. *Fertil Steril*.1990;54(2):195-202.
- 190.March CM, Tredway DR, Mishell DR. Effect of pretreatment with clomiphene citrate upon human menopausal gonadotropin therapy for anovulation. *Am J Obstet Gynecol*.1976;125(5):699-704.
- 191.Chetkowski RJ, Druse LR, Nass TE. Improved pregnancy outcome with the addition of leuprolide acetate to gonadotropins for in vitro fertilization. *Fertil Steril*.1989;52(2):250-5.
- 192.Kettel LM, Rosef SH, Berga SL, Mortola JF. Hypotalamic-pituitary-ovarian response to clomiphene citrate in women with polycystic ovarian syndrome *Fertil Steril*.1993;59(3):532-8.
- 193.Houmard BS, Juang MP, Soules MR, Fujimoto VY. Factors influencing pregnancy rates with a combined clomiphene citrate/gonadotropin protocol for non-assisted reproductive technology fertility treatment. *Fertil Steril*. 2002;77(2):384-6.
- 194.Hughes E, Collins J, Vandekerckhove P. Clomiphene citrate for ovulation induction in women with oligo-amenorrhoea. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; 2:CD000056.
- 195.Blacker CM. Ovulation stimulation and induction. In: Moghissi KS. Ed, *Endocrinology and metabolism clinics of north America:Reproductive Endocrinology*. WB Saunders,1992.
- 196.Hughes SM, Huang ZH, Morris ID, Matson PL, Buck P, Lieberman BA. A double blind, crossover, controlled study to evaluate the effect of human biosynthetic growth hormone on ovarian stimulation in previous poor responders to in vitro fertilization. *Hum Reprod*.1994;9(1):3-8.
- 197.Ibrahim ZH, Matson PL, Buck P, Lieberman BA. The use of biosynthetic human

- growth hormone to augment ovulation induction in with busarelin acetate/human menopausal gonadotropin in women with a poor ovarian response. *Fertil Steril*.1991;55(1):202-4.
- 198.Kemmann E, Jones JR. Sequential clomiphene citrate-menotropin therapy for induction or enhancement of ovulation. *Fertil Steril*.1983; 39(6):772-9.
- 199.Kessel B, Hsueh AJ. Clomiphene citrate augments follicle-stimulating hormone-induced luteinizing hormone receptor content in cultured rat granulosa cells. *Fertil Steril*.1987;47(2):334-40.
- 200.Klinge CM. Estrogen receptor interaction with co-activators and co-repressors. *Steroids*.2000;65(5):227-51.
- 201.Haris SE, Picton HM. Metabolism of follicles and oocytes during growth and maturation. In: Tan SL, Chian RC, Buckett WM editors. *In-Vitro Maturation of Human Oocytes, Basic Science to Clinical Application*, 1st ed. Montreal, Informa Health Care press.2007; p:15–36.
- 202.Hugues JN. Ovarian stimulation for assisted reproductive technologies. In Vayana E, Rowe PS, Griffin PD (eds), *Current practices and controversies in assisted reproduction: report of a WHO meeting*. Geneva: WHO, 2002, pp 102-125.
- 203.The European Recombinant Human Chorionic Gonadotrophin Study Group. Induction of final follicular maturation and early luteinization in women undergoing ovulation induction for assisted reproduction treatment-recombinant HCG versus urinary HCG. *Human Reproduction*. 2000;15(7):1446-51.
- 204.Driscoll GL, Tyler JP, Hangan JT, Fisher PR, Birdsall MA, Knight DC. A prospective, randomized, controlled, double-blind, double-dummy comparison of recombinant and urinary HCG for inducing oocyte maturation and follicular luteinization in ovarian stimulation. *Hum Reprod*. 2000;15(6):1305-10.

205. Itskovitz-Eldor J, Kol S, Mannaerts B. Use of a single bolus of GnRH agonist triptorelin to trigger ovulation after GnRH antagonist ganirelix treatment in women undergoing ovarian stimulation for assisted reproduction, with special reference to the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: preliminary report: short communication. *Hum Reprod.* 2000;15(9):1965-8.
206. Pritts EA, Atwood AK. Luteal phase support in infertility treatment: a meta-analysis of the randomized trials. *Human Reproduction.* 2002;17(9):2287-2299.
207. Phelps JY, Levine AS, Hickman TN, Zacur HA, Wallach EE, Hinton EL. Day 4 estradiol levels predict pregnancy success in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for IVF. *Fertility and Sterility.* 1998;69(6):1015-19.
208. Dietterich C, Check JH, Choe JK, Nazari A, Lurie D. Increased endometrial thickness on the day of human chorionic gonadotropin injection does not adversely affect pregnancy or implantation rates following in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril.* 2002;77(4):781-6.
209. Al-Ghamdi A, Coskun S, Al-Hassan S, Al-Rejjal R, Awartani K. The correlation between endometrial thickness and outcome of in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) outcome. *Reprod Biol Endocrinol.* 2008;6:37.
210. Buyru F. In vitro Fertilizasyonda Ultrasonografi: Sedaroglu H, çeviri editörü. In vitro Fertilization Pratik Yaklaşım, İstanbul: Doğan Tıp Kitabevi; 2009.s.91-116.
211. Lass A, Skull J, McVeigh E, Margara R, Winston RM. Measurement of ovarian volume by transvaginal sonography before ovulation induction with human menopausal gonadotrophin for in-vitro fertilization can predict poor response. *Hum Reprod.* 1997;12(2):294-7.
212. Durmusoglu F, Elter K, Yoruk P, Erenus M. Combining cycle day 7 follicle count

- with the basal antral follicle count improves the prediction of ovarian response
Fertil Steril. 2004;81(4):1073-8.
- 213.Hendriks DJ, Mol BW, Bancsi LF, Te Velde ER, Broekmans FJ. Antral follicle count in the prediction of poor ovarian response and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level. *Fertil Steril.* 2005;83(2):291-301.
- 214.Vladimirov IK, Tacheva DM, Kalinov KB, Ivanova AV, Blagoeva VD. Prognostic value of some ovarian reserve tests in poor responders. *Arch Gynecol. Obstet* 2005;272(1):74-9.
- 215.Erdem M, Erdem A, Gursoy R, Biberoglu K. Comparison of basal and clomiphene citrate induced FSH and inhibin B, ovarian volume and antral follicle counts as ovarian reserve tests and predictors of poor ovarian response in IVF. *J Assist Reprod Genet.* 2004;21(2):37-45.
- 216.Syrop CH, Dawson JD, Husman KJ, Sparks AE, Van Voorhis BJ. Ovarian volume may predict assisted reproductive outcomes better than follicle stimulating hormone concentration on day 3. *Hum Reprod.* 1999;14(7):1752-6.
- 217.Wallace WH, Kelsey TW. Ovarian reserve and reproductive age may be determined from measurement of ovarian volume by transvaginal sonography. *Hum Reprod.* 2004;19(7):1612-7.
- 218.Cohen J, Debache C, Pez JP, Junca AM, Cohen-Bacrie P. Transvaginal sonographically controlled ovarian puncture for oocyte retrieval for in vitro fertilization. *J In Vitro Fert Embryo Transf.* 1986;3(5):309-13.
- 219.Gembruch U, Diedrich K, Welker B, Wahode J, van der Ven H, Al-Hasani S, Krebs D. Transvaginal sonographically guided oocyte retrieval for in-vitro fertilization. *Hum Reprod.*1988;3(Suppl 2):59-63.

- 220.Schulman JD, Dorfmann AD, Jones SL, Pitt CC, Joyce B, Patton LA. Outpatient in vitro fertilization using transvaginal ultrasound-guided oocyte retrieval. *Obstet Gynecol.*1987;69(4):665-8.
- 221.Wiseman DA, Short WB, Pattinson HA, Taylor PJ, Nicholson SF, Elliott PD, Fleetham JA, Mortimer ST. Oocyte retrieval in an in vitro fertilization-embryo transfer program: comparison of four methods. *Radiology.*1989;173(1):99-102.
- 222.Noyes N, Liu HC, Sultan K, Schattman G, Rosenwaks Z. Endometrial thickness appears to be a significant factor in embryo implantation in in-vitro fertilization. *Hum Reprod.*1995;10(4):919-22.
- 223.Dietterich C, Check JH, Choe JK, Nazari A, Lurie D. Increased endometrial thickness on the day of human chorionic gonadotropin injection does not adversely affect pregnancy or implantation rates following in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril.* 2002;77(4):781-6.
- 224.Al-Ghamdi A, Coskun S, Al-Hassan S, Al-Rejjal R, Awartani K. The correlation between endometrial thickness and outcome of in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) outcome. *Reprod Biol Endocrinol.* 2008;6:37.
- 225.Stepto PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet.*1978;2(8085):366.
- 226.Swain EJ, Smith; Mechanism of oocyte maturation . In: Tan SL, Chian RC, Buckett WM editors. *In-Vitro Maturation of Human Oocytes, Basic Science to Clinical Application*, 1st ed. Montreal, Informa Health Care press.2007; p:83–101.
- 227.Özcan C. Embriyoner Gelişim. Delilbaşı L. editör. *İn Vitro Fertilizasyon (IVF) Laboratuvar Yöntemleri (Yeni Uygulamalar Ve Güncel Yaklaşımlar)*,1.baskı.2008;s:117–125.

228. Jurisicova A, Varmuza S, Casper RF. Programmed cell death and human embryo fragmentation. *Mol Hum Reprod* 1996;2:93-8.
229. Giorgetti C, Terriou P, Auquier P, Hans E, Spach JL, Salzmann J, Roulier R. Embryo score to predict implantation after in-vitro fertilization: based on 957 single embryo transfers. *Hum Reprod*.1995;10(9):2427–31.
230. Antczak M, Van Blerkom J. Temporal and spatial aspects of fragmentation in early human embryos: possible effects on developmental competence and association with the differential elimination of regulatory proteins from polarized domains. *Hum Reprod*.1999;2:429–47.
231. Haris SE, Picton HM. Metabolism of follicles and oocytes during growth and maturation. In: Tan SL, Chian RC, Buckett WM editors. *In-Vitro Maturation of Human Oocytes, Basic Science to Clinical Application*, 1st ed. Montreal, Informa Health Care press.2007; p:15–36.
232. Tilly JL, Kowalski KI, Johnson AL, Hsueh AJ. Involvement of apoptosis in ovarian follicular atresia and postovulatory regression. *Endocrinology* 1991;5:2799-801.
233. Greenwald GS, Moor RM. Isolation and preliminary characterization of pig primordial follicles. *J Reprod Fert* 1989;87:561-71.
234. Lambert-Messerlian G, Taylor A, Leykin L, Isaacson K, Toth T, Chang Y, et al. Characterization of intrafollicular steroid hormones, inhibin and follistatin in women with and without polycystic ovarian syndrome following gonadotropin hyperstimulation. *Biol Reprod* 1997;57:1211-6.
235. Abdollahi M, Bahreini-Moghadam A, Emami B, Fooladian F, Zafari K. Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium- induced oxidative

- stress in rat submandibular saliva. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2003 Jul;135C(3):331-6.
236. Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A. Pesticides and oxidative stress: a review. *Med Sci Monit*. 2004 Jun;10(6):RA141-7. Epub 2004 Jun 1. Review.
237. Hsi RA, Rosenthal DI, Glatstein E. Photodynamic therapy in the treatment of cancer: current state of the art. *Drugs*. 1999 May;57(5):725-34. Review.
238. Kopáni M, Celec P, Danisovic L, Michalka P, Biró C. Oxidative stress and electron spin resonance. *Clin Chim Acta*. 2006 Feb;364(1-2):61-6. Review.
239. Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci P. Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radic Biol Med*. 2005 Oct 1;39(7):841-52. Review.
240. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*. 2001 Mar;54(3):176-86. Review.
241. Akkuş İ Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, 1. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya.1995. Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med*. 1992 Jun;119(6):598-620. Review.
242. Mustakich D, Powis G. Thioredoxin reductase. *Biochem J*. 2000 Feb 15;346 Pt 1:1-8. Review.
243. Li C, Jackson RM. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2002 Feb;282(2):C227-41. Review.
244. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the

- degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993 Sep 1;90(17):7915-22. Review.
245. Florence TM. The role of free radicals in disease. *Aust N Z J Ophthalmol*. 1995 Feb;23(1):3-7. Review .
246. Di Mascio P, Murphy ME, Sies H. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am J Clin Nutr*. 1991 Jan;53(1 Suppl):194S-200S. Review.
247. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*. 1995 Dec;41(12 Pt 2):1819-28. Review.
248. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull*. 1993 Jul;49(3):481-93. Review.
249. Kavas G.Ö. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri*. 1989;9 (1): 1-8.
250. Gutteridge JMC and Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends. Biochem. Sci*. 1990; 15:129-35.
251. İşlekel H, Uğurlu B, Hazan E, Saydam N, Saydam O, Oto Ö, Güner G. Evaluation of lipid peroxidation and antioxidant status in myocardial tissue and coronary sinus blood of patients undergoing cardiopulmonary bypass. *Türk Biyokimya Dergisi* 1999;24(4):5-13.
252. Halliwell B. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. *Biochem Pharmacol*. 1995 May 17;49(10):1341-8. Review.
253. Cochrane CG. Cellular injury by oxidants. *Am J Med*. 1991 Sep 30;91(3C):23S-30S. Review.

254. Taysi S, Polat F, Gul M, Sari RA, Bakan E. Lipid peroxidation, some extracellular antioxidants, and antioxidant enzymes in serum of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2002 Mar;21(5):200-4.
255. Taysi S, Gul M, Sari RA, Akçay F, Bakan N. Oxidant/antioxidant status in serum of patients with systematic lupus erythematosus. *Clin Chem Lab Med* 2002;40:684-688.
256. Gürsoy Ş. Düzenli Spor Yapan Öğrenci Gruplarında Egzersizin Total antioksidan Kapasite ve Serum Lipit Profilleri Üzerine Etkisi. Doktora Tezi. Malatya: İnönü Üniversitesi, 2008.
257. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol.* 2001 Mar;54(3):176-86. Review.
258. Follicular phase serum and follicular fluid glycodelin measurements in gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-antagonist assisted reproduction cycles: A prospective cohort study. Işıkcı T. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2015;42(3):367-71.
259. Szczepańska M, Koźlik J, Skrzypczak J, Mikołajczyk M. Oxidative stress may be a piece in the endometriosis puzzle. *Fertil Steril.* 2003 Jun;79(6):1288-93.
260. Chattopadhyay R, Ganesh A, Samanta J, Jana SK, Chakravarty BN, Chaudhury K. Effect of follicular fluid oxidative stress on meiotic spindle formation in infertile women with polycystic ovarian syndrome. *Gynecol Obstet Invest.* 2010;69(3):197-202
261. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol* 2005;3:28.
262. Al-Gubory KH, Fowler PA, Garrel C: The roles of cellular reactive oxygen

- species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *Int J Biochem Cell Biol* 2010, 42:1634-1650.
263. Oyawoye OA, Abdel-Gadir A, Garner A, Leonard AJ, Perrett C, Hardiman P. The interaction between follicular fluid total antioxidant capacity, infertility and early reproductive outcomes during in vitro fertilization. *Redox Rep.* 2009;14:205–13.
264. Relationship between oxidative stress and clinical pregnancy in assisted reproductive technology treatment cycles. *J Assist Reprod Genet.* 2013 Jun;30(6):765-72. doi: 10.1007/s10815-013-0005-2. Epub 2013 May 11.
265. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993 Sep 1;90(17):7915-22. Review.
266. Das S, Chattopadhyay R, Ghosh S, Ghosh S, Goswami SK, Chakravarty BN, et al. Reactive oxygen species level in follicular fluid—embryo quality marker in IVF? *Hum Reprod.* 2006;21:2403–7.
267. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol.* 2001 Mar;54(3):176-86. Review.
268. Akkuş İ Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, 1. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya.1995. Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med.* 1992 Jun;119(6):598-620. Review.
269. Du B, Takahashi K, Ishida GM, Nakahara K, Saito H, Kurachi H. Usefulness of intraovarian artery pulsatility and resistance indice measurement on the day of follicle aspiration for the assessment of oocyte quality.
270. *Fertil Steril* 2006;85(2):366-70. Jozwik M, Wolczynski S, Szamatowicz M.

- Oxidative stress markers in preovulatory follicular fluid in humans. *Mol Hum Reprod.* 1999;5:409–13.
271. Sugino N, Takiguchi S, Ono M, Tamura H, Shimamura K, Nakamura Y, et al. Nitric oxide concentrations in the follicular fluid and apoptosis of granulosa cells in human follicles. *Hum Reprod.* 1996;11:2484–7.
272. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 1995 Dec;41(12 Pt 2):1819-28. Review.
273. Ozkaya MO, Nazıroğlu M. Multivitamin and mineral supplementation modulates oxidative stress and antioxidant vitamin levels in serum and follicular fluid of women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2010;94:2465–6.
274. Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci P. Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radic Biol Med.* 2005 Oct 1;39(7):841-52. Review.
275. Antioxidant status in patients with uncomplicated insulin-dependent and non-insulin dependent diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest* 1997; 27: 484-90.
276. Ochi T. Mechanism for the change in levels of glutathione upon exposure of cultured mammalian cells to Tertiary-Butylhydroperoxide and Diamine. *Toxicol Arch* 1993; 67: 401-10.
277. Vinson J, Hsu C, Possunza C, Drack A, Pane D, et al. Lipid peroxidation and diabetic complications: effect of antioxidant vitamins C and E. *Adv Exp Med Biol* 1994; 366: 430-32.

