



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

**ERKEN FOLİKÜLER FAZDA KISA SÜRELİ ORAL ESTRADİOL  
KULLANIMI İLE GNRH ANTAGONİST SİKLUSLARININ  
PROGRAMLANMASI**

**Dr. Münir Kiper ASLAN**

**BURSA - 2016**



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

**ERKEN FOLİKÜLER FAZDA KISA SÜRELİ ORAL ESTRADİOL  
KULLANIMI İLE GNRH ANTAGONİST SİKLUSLARININ  
PROGRAMLANMASI**

**Dr. Münir Kiper ASLAN**

**Danışman: Prof. Dr. Gürkan UNCU**

**BURSA – 2016**

## İÇİNDEKİLER

Özet.....	i
İngilize Özet.....	iii
Giriş.....	1
Materyal & Metod.....	5
Etik Kurul.....	5
Hasta Seçimi.....	5
KOH Protokolü.....	6
Oosit Toplama İşlemleri.....	7
Embryo Laboratuvarı.....	7
Luteal Faz Desteği.....	10
Embryo Transferi.....	10
Değerlendirme Kriterleri.....	11
İstatistiksel Analiz.....	12
Bulgular.....	13
Tartışma.....	16
Basit Modifikasyonlar.....	16
Oral Kontraseptif İlaçlar.....	18
Luteal Faz Estradiol Kullanımı.....	19
Erken Foliküler Faz Antagonist Kullanımı.....	21
Sonuç.....	23
Kaynaklar.....	27
Teşekkür.....	29
Özgeçmiş.....	30

## ÖZET

Bu çalışmada erken foliküler fazda kısa süreli oral estradiol kullanımı ile klinik sonuçları etkilemeden GnRH antagonist sikluslarını programlamayı amaçladık.

Çalışmada retrospektif olarak estradiol kullanılarak siklus programlanan 35 hasta yaş ve daha önceki başarısız siklus sayısı benzer olan 35 hastayla birebir eşleştirildi. Foliküler faz estradiol (FFE) grubunda günlük 6 mg estradiol oral yolla siklusun 2. gününden itibaren başlandı ve planlanan gonadotropin stimülasyon gününden bir önceki güne kadar verildi. Kontrol grubunda ise gonadotropin stimülasyonuna siklusun 2. ya da 3. günü başlandı. Her iki grupta gonadotropin releasing hormon (GnRH) antagonist protokolü uygulandı.

FFE grubunda hastalar ortalama 5 gün estradiol aldı. FFE grubunda stimülasyona başlanan gün endometrium kalınlığı kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha kalındı (7.4 ve 3.0 mm,  $p < 0.01$ ). Her iki grupta alınan toplam gonadotropin dozu benzer olsa da, stimülasyon süresi FFE grubunda 1 gün daha uzundu ve bir fazla GnRH antagonist enjeksiyonu uygulandı. Human chorionic gonadotropin (hCG) günü serum estradiol, progesteron ve luteinizing hormon (LH) seviyeleri her iki grupta benzerdi, endometrium kalınlığı FFE grubunda artmıştı (12 ve 10 mm,  $p=0.01$ ). Toplanan oosit sayısı, metafaz 2 oosit sayısı ve transfer edilen embryo sayıları her iki grupta benzerdi. Embryo implantasyon oranları FFE ve kontrol grubunda sırasıyla %44.8 ve %34.4 ( $p=0.30$ ) ve klinik gebelik oranları %48.6 ve %37.1 ( $p=0.33$ ) olarak sonuçlandı. FFE grubundaki tüm hastaların oosit toplama (OPU) ve embryo transferi (ET) tarihleri planlanan günlerde uygulandı. Foliküler faz estradiol kullanımı ile GnRH sikluslarını programlamanın klinik sonuçları etkilemediği gözlenmiştir. Öte yandan implantasyon ve klinik gebelik oranlarında sırasıyla % 25 ve 31 oranlarında iyileşme gözlenmiştir. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı olmasa da örneklem hacmi daha büyük randomize kontrollü çalışmalarla anlam kazanabilir.

**Anahtar Kelimeler:** GnRH antagonist, yardımcı üreme teknikleri, siklus programlanması, in vitro fertilizasyon

## SUMMARY

### SCHEDULING GnRH ANTAGONIST CYCLES BY A SHORT COURSE OF ORAL ESTRADIOL ADMINISTRATION DURING EARLY FOLLICULAR PHASE

We aimed to schedule gonadotropin releasing hormone (GnRH) antagonist cycles by a short course of oral estradiol administration during the follicular phase without impairing treatment outcome.

Retrospective, proof of principle study including 35 women in the estradiol-scheduling group and 35 controls who were individually matched according to female age and the number of prior failed cycles. Estradiol scheduling group was given 6 mg/day estradiol orally from cycle day 2 until (including) one day before the scheduled start of gonadotropin stimulation. Gonadotropins were started on cycle day 2 or 3 in the control group. Flexible GnRH antagonist protocol was employed in both groups.

Women in the estradiol-scheduling group received estradiol for a median of 5 days. Their endometriums were significantly thicker at the start of stimulation (7.4 vs. 3.0 mm,  $p < 0.01$ ). Despite similar gonadotropin dosage, stimulation took on average one day longer and one more GnRH antagonist injection was required in the estradiol-scheduling group. While serum estradiol, luteinising hormone and progesterone levels were similar on the day of human chorionic gonadotropin injection, endometrial thickness was increased in the estradiol scheduling group (12 vs. 10 mm,  $p = 0.01$ ). Number of oocytes collected, metaphase II oocytes and transferred embryos were similar between the two groups. Embryo implantation rates were %44.8 vs. %34.4 ( $p = 0.3$ ), and clinical pregnancy rates were %48.6 vs. %37.1, ( $p = 0.33$ ) in the estradiol scheduling and control groups, respectively. All women in the estradiol scheduling group had oocyte retrieval and embryo transfer within the desired period.

Apparently delaying commencement of stimulation by a short course of estradiol administration in the follicular phase does not seem to impair cycle outcome. To the contrary, there's a trend towards improved implantation and clinical pregnancy rates with relative increases of %25 and %31, respectively. Although, these differences were short of statistical significance, they can represent clinically significant improvement if maintained in a large scale randomized controlled trial.

**Key Words:** GnRH antagonist, assisted reproduction, cycle scheduling, in vitro fertilisation

## GİRİŞ

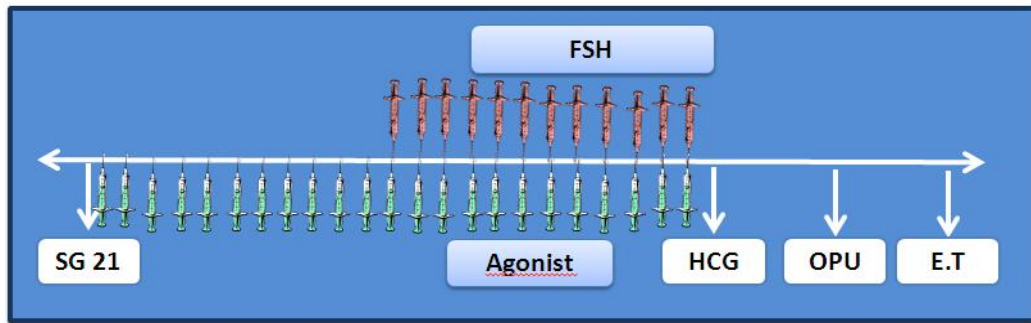
İnsanlarda in vitro fertilizasyon (IVF) ile elde edilen ilk gebelik ve canlı doğum 1978'de Edwards ve Steptoe tarafından gerçekleştirilmiştir. Bilateral tubal obstrüksiyon bulunan hastadan IVF için oosit elde etmek amacıyla hasta menstrual siklusun foliküler fazında hospitalize edilmiştir. Hastanın spontan siklusunda dominant folikülün preovulatar aşamaya geldiği zamanı tespit edebilmek için her üç saatte bir idrarda luteinizan hormon (LH) düzeyi ölçülmüş, LH artışı tespit edildikten sonra folikül laparoskopik olarak aspire edilmiştir. Foliküler sıvıdan izole edilen oosit, partnerinin spermeleriyle kültüre edildikten 2 gün sonra oluşan embryo endometriyal kaviteye transfer edilerek gebelik sağlanmıştır.(1)

İlk IVF siklusları bu şekilde doğal siklusun endokrinolojik monitorizasyonu ile yapılmış olmakla beraber, kısa bir süre sonra gonadotropin enjeksiyonlarıyla multifoliküler gelişim sağlanması ve birden fazla oosit toplanmasının gebelik elde etme olasılığını artırdığı gözlenmiştir. Ancak multifoliküler gelişim sağlanan hastaların önemli bir kısmında foliküller matürasyona ulaşmadan endojen LH pikinin tetiklendiği ve foliküllerin aspirasyon yapılmadan önce rüptüre olabildiği fark edilmiştir. Bu sebeple endojen LH salınımını önlemek için gonadotropin releasing hormon (GnRH) analogları kullanılmaya başlanmıştır. GnRH analogları gonadotrop hücrelerdeki GnRH reseptörleri üzerine etki ederek endojen LH pikini baskılamakta ve prematur ovulasyon böylece önlenmektedir. Eksojen GnRH analogu ve gonadotropin kullanılarak LH salınımı ve prematur ovulasyon olmadan multifoliküler gelişim sağlanmasına kontrollü ovaryan hiperstimülasyon (KOH) adı verilmiştir.

KOH için ilk kullanılan GnRH analogları agonist etkilidir. GnRH agonisti gonadotrop hücrelerdeki GnRH reseptörüne bağlandığında reseptör aktive olmasına rağmen, sürekli GnRH maruziyeti sonucu reseptörler hücreye internalize edilmekte ve yeni reseptör üretimi durmaktadır. Bu sayede bir kaç gün içerisinde gonadotrop hücreler GnRH'ya duyarsız hale

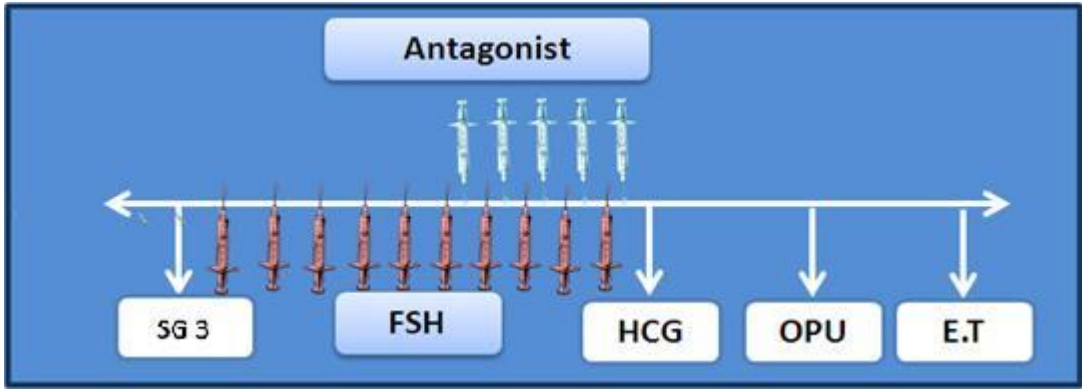


gelmekte ve böylece endojen LH piki gerçekleşmemektedir. GnRH agonistleri değişik şekillerde kullanıldıktan sonra KOH'tan önceki siklusun midluteal fazında başlanan "uzun midluteal GnRH agonist" protokolü yıllar boyunca en yaygın kullanılan protokol olmuştur. Uzun GnRH agonisti protokolünde önceki siklüsün midluteal fazında GnRHa injeksiyonu başlanır (Şekil 1). Yaklaşık 10-14 gün boyunca günlük GnRH agonist injeksiyonları ile hipofizer down regülasyon oluştuktan sonra ekzojen folikül stimulan hormon (FSH) ile follikülerin stimülasyonuna başlanır. Hipofiz down regüle olduğundan eksojen gonadotropin stimülasyonuna başlamak için menstrüel siklusun herhangi bir gününü beklemek gerekli değildir. Hipofizer down regülasyon sağlandıktan sonra overlerde follikül gelişimi durakladığından ve azalmış östrojen üretimi nedeniyle endometrium erken proliferatif fazda kaldığından ekzojen gonadotropin stimülasyonu herhangi bir gün başlanabilir. Özellikle yoğun merkezlerde oosit toplama işlemlerinin hafta sonu günlerine denk gelmesini önlemek için gonadotropin stimülasyonun Perşembe – Cumartesi günleri arasında başlanması tercih edilmektedir. Bu şekilde yapıldığında gonadotropin stimülasyonu ortalama 10 - 12 gün kadar sürdüğünden oosit toplama işlemi çoğunlukla Pazartesi – Cuma günleri arasında yapılabilmektedir. Uzun protokolde foliküler gelişim sağlandıktan sonra oosit maturasyonunu sağlamak için insan koryonik gonadotropini (hCG) verilme zamanını belirleyen kriterler de esneklerdir. Oosit toplama (OPU) gününü ayarlamak için gerekirse hCG kriterleri sağlandıktan sonra bile stimülasyon bir veya iki gün uzatıldığında hastaların gebelik elde etme şansı azalmamaktadır.(2)



**Şekil-1:** Uzun GnRH (Gonadotropin releasing hormon) agonist protokol uygulama şeması. **SG:** Siklus günü, **FSH:** folikül stimulan hormon, **HCG:** human chorionic gonadotropin, **OPU:** oocyte pick up, **ET:** embryo transferi

2000'li yıllarda GnRH antagonsitlerin üretimi ile alternatif stimülasyon protokolleri ortaya çıkmıştır. GnRH antagonistlerinin GnRH agonistlerinden farkı gonadotrop reseptörlerine bağlandıklarında reseptörü hiç aktive etmeyerek akut inhibisyon sağlamalarıdır. Böylece GnRH antagonisti kullanılan bir KOH protokolünde endojen GnRH etkisini hemen önleme kapasitesine sahiptirler. Bu hızlı etkisi nedeniyle GnRH antagonisti kullanılan KOH protokollerinde antagonist injeksiyonu beklenen spontan LH pikinden kısa bir süre önce başlanır ki bu da genellikle KOH'un 6. günü veya daha sonra olmaktadır (Şekil 2). Antagonist kullanılan KOH protokolleri hastaya yapılması gereken injeksiyon sayısını önemli ölçüde azaltmaktan dolayı "hasta dostu" protokoller diye anılırlar.



**Şekil-2** : GnRH antagonist protokol uygulama şeması. **SG**: siklus günü, **FSH**: folikül stimulan hormon, **HCG**: human chorionic gonadotropin, **OPU**: oocyte pick up, **ET**: embryo transferi

Antagonist kullanılan KOH protokolleri ile erken dönem deneyimlerde elde edilen gebelik oranlarının uzun midluteal GnRH agonist protokolü ile elde edilenden daha düşük olduğunun gözlenmesi antagonistlerin kullanımının yaygınlaşmasına engel olmuştur.(3) Ancak ilerleyen çalışmalar ve antagonist protokol kullanımında kazanılan deneyimler ile gebelik oranların her iki protokolde farklı olmadığı görülmüştür.(4) GnRH antagonistlerinin gonadotropinler üzerinde hızlı, kısa süreli ve geri dönüşümlü

supresyon yapması, tedavi sürecinin kısa sürmesini sağlayarak hasta ve doktorlar arasında popülerlik kazanmasına neden olmuştur.

Uzun GnRH agonisti protokolünde FSH enjeksiyonlarına hipofize down regülasyonu sağlandıktan sonra herhangi bir günde başlanabilmesine rağmen antagonist protokolde günlük FSH enjeksiyonlarına menstrual siklusun ikinci veya üçüncü gününde, henüz endojen FSH seviyeleri azalmaya başlamadan önce, başlanır. Foliküler gelişimden bağımsız olarak gonadotropin stimülasyonunun beşinci veya altıncı gününde GnRH antagonisti eklendiğinde buna “fixed antagonist protokol” denirken, siklus gününden bağımsız olarak en önde giden folikülün büyüklüğüne göre GnRH antagonisti başlama kararının alındığı protokole ise “flexible antagonist” protokol denir.

Antagonist protokollerde stimülasyonun başlanacağı ve dolayısıyla biteceği tarih hastanın menstrual siklusunun başlangıcına bağımlı olduğundan oosit toplama ve/veya embryo transferi işlemlerinin tarihlerini ayarlamak mümkün değildir. Ayrıca antagonist protokollerde hCG kriteri de uzun protokolde olduğu gibi esnek değildir. En büyük iki folikülün çapı 17 mm’ye ulaştıktan sonra hCG verilmesi ve oosit toplama işlemi bir günden fazla ertelendiğinde gebelik elde etme olasılığının azaldığı gösterilmiştir.(5)

Artan infertil hasta sayısı, antagonist protokol kullanan merkezlerin yaygınlığı, IVF merkezlerindeki iş yükü fazlalığı, uzun süren tedavilere hastaların kendi takvimleri nedeni ile uyum sağlayamaması ve antagonist tedavinin menstruasyon gününe bağımlı olması günümüzde yardımcı üreme teknikleri (YÜT) tedavilerini zamansal açıdan programlama ihtiyacı doğurmuştur. Bu nedenle çeşitli çalışmalar yapılmış ve antagonist protokollerde KOH başlangıç gününü ayarlayabilmek için farklı yöntemler denenmiştir. Böylece oosit toplama işlemlerinin haftanın çalışma günlerine tercihen eşit olarak ve çiftin takvimine uygun bir şekilde olması amaçlanmıştır.

Çalışmamızın amacı antagonist sikluslarının zamansal olarak planlanabilmesi için foliküler fazda östrojen kullanımının OPU işleminin zamanlaması ve klinik sonuçlara etkisini incelemektir.

## MATERYAL VE METOD

### I- Etik Kurul

Çalışmamızın protokolü Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 27 Ağustos 2013 tarihinde onaylanmış olup kayıt numarası 2013-15/24 dır.

### II- Hasta Seçimi

IVF laboratuvarı elektronik kayıtları taranarak çalışma periyodunda foliküler estradiol kullanılan ve antagonist protokol uygulanan hastalar tespit edildi. Bu hastalardan önceki başarısız IVF siklus sayısı  $\geq 3$  olan azospermi, ileri derecede düşük over rezervi (serum anti Müllarian hormon düzeyi  $< 0.01$  ng/ml) olanlar ve yaşı 40'ın üzerinde olanlar dışlanarak çalışma grubu oluşturuldu

Çalışma grubundaki her hasta yaş ve daha önceki uygulanan IVF siklus sayısı benzer olan, ejakulat spermi kullanılan antagonist protokol uygulanmış, kendisi ile en yakın tarihte IVF yapılan, bir hasta ile eşleştirilerek kontrol grubu oluşturuldu. Kontrol grubuna hasta seçilirken aynı dışlama kriterleri uygulandı.

### III- Tedavi Süreci

#### III.A. Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon Protokolü

Her iki gruptaki tüm hastalara antagonist protokol uygulandı. Çalışma grubundaki hastalara siklusun 2. ya da 3. günü yapılan transvaginal USG (SIUI, EUP V12 6.0 MHz intrakaviter prob) sonrasında, endometrial patoloji ve 15 mm'den büyük antral folikül olmadığı doğrulandıktan sonra günde 6 mg estradiol valerate oral yolla üç doza bölünerek verildi. Estradiol valerate

kullanım süresi hedeflenen OPU tarihine göre KOH başlanması gereken gün hesaplanarak belirlendi. Hastalar planlanan KOH başlangıç günü tekrar transvaginal ultrasonografi ile muayene edilerek endometrium kalınlığı, antral folikül sayısı ve boyutları değerlendirildi. En büyük antral folikül çapı 15 mm'nin üzerinde olmadığı doğrulandıktan sonra estradiol valerat kesilerek gonadotropin enjeksiyonlarına başlandı. Kontrol grubundaki hastalar spontan sikluslarının 2. veya 3. gününde transvaginal usg sonrasında, endometrial patoloji ve 15 mm'den büyük antral folikül olmadığı doğrulandıktan sonra gonadotropin enjeksiyonları başlandı.

Gonadotropin dozu her iki grupta da; hastanın yaşı, kilosu, bazal estradiol (E2) ve FSH seviyelerine, over volümüne ve varsa daha önceki ovulasyon indüksiyonu cevabına bakılarak belirlendi.

Her iki gruptaki hastaların stimülasyona yanıtı stimülasyonun 6. gününde folikül sayı ve boyutları, serum E2, progesteron ve LH düzeyleri ile değerlendirilerek gonadotropin dozu düzenlendi. En büyük folikül çapı > 14 mm veya serum E2 >300 pg olduğunda günlük GnRH antagonisti enjeksiyonlarına başlandı. Seri ultrasonografi ve serum E2-LH kontrolleri 1 – 3 gün aralar ile tekrarlanarak en az 2 folikül 17 mm çapa ulaştığında rekombinant hCG (Ovitrelle 250 µg) subkutan yolla uygulanarak final oosit matürasyonu tetiklendi. Eğer çapı >11 mm folikül sayısı 15'in üzerindeyse veya serum estradiol düzeyi 4000 pg/ml üzerindeyse ovaryan hiperstimülasyon sendromu gelişmesini önlemek amacıyla final oosit matürasyonu için rhCG yerine 20 IU leuprolide asetat kullanıldı.

### **III.B. Oosit Toplanması**

Oosit toplama işlemi rhCG enjeksiyonundan 36 saat sonra yapıldı. Hasta dorsal litotomi pozisyonuna alınarak steril örtüler örtüldü. Genel veya lokal anestezi altında steril spekulum uygulanarak vagina 37°sıcaklıktaki serum fizyolojik ile yıkandı. Prezervatif geçirilen transvaginal prob (SIUI, EUP V12 6.0 MHz intravaginal prob) rehberliğinde 17 G tek lümenli oosit aspirasyon iğnesi (Gynetics Fas NS-CS1) kullanılarak tüm folliküller aspire edildi. Aspirasyon pompası (Cook Vacuum Pump K-MAR 5200) basıncı 120

mmHg olarak sabitlendi. İşlem sonunda kanama kontrolünü takiben hastalar en az 2 saat süreyle klinikte izlendikten sonra taburcu edildiler.

### **III.C. Embryoloji Laboratuvarı İşlemleri**

Oosit aspirasyonu sonrası elde edilen follikül sıvıları embriyoloji laboratuvarına alındı. Follikül sıvısı ve beraberinde aspire edilen oosit-kumulus kompleksleri laminar hava akım kabini içerisinde stereomikroskop altında değerlendirildi. Oosit-kumulus kompleksleri (OCC) follikül sıvısından steril pipet yardımıyla ayrılarak üzeri mineral yağ ile kaplanmış Hepes tamponlu dış ortam kültür medyumuna (G-MOPS, VITROLIFE) alındı. Oosit aspirasyonu işlemi tamamlandıktan sonra, toplanan OCC'leri aynı medyum içinde yıkanarak üzeri mineral yağ ile kaplanmış fertilizasyon medyumuna (G-IVF, VITROLIFE) geçirildi ve matürasyonunu tamamlamak üzere 2-4 saat süreyle oksijen (%5) ve karbondioksit (%6) kontrollü 37°C'de inkübatörde bekletildi. Fertilizasyon medyumunda inkübasyonun ardından, OCC HEPES tamponlu dış ortam medyumuna ve 80 IU hyaluronidaz enzimi içeren karışım içinde 5-6 s pipetlendi ve üzeri mineral yağ kaplı dış ortam medyumunda yıkanarak, daralan çaplarda steril pipetlerden geçirilerek kumulus hücrelerinin oositten enzimatik ve mekanik yolla ayrılması (denudasyon) sağlandı. Kumulus ve korona radiata hücrelerinden ayrılan oositler aynı inkübatörde fertilizasyon medyumunda 1 saat inkübasyona bırakıldı.

Embriyoloji laboratuvarında oosit aspirasyonu ve oosit matürasyonunun tamamlanması sürecinde hastanın eşinden alınan semen örneğinin androloji laboratuvarında değerlendirilerek mikroenjeksiyon için hazırlanması süreci gerçekleştirildi. Hasta eşinden 2-3 günlük cinsel perhiz sonrası, oosit aspirasyonunun gerçekleştirildiği gün alınan semen örneği 37°C'de karbondioksit kontrollü inkübatörde 30dk süreyle likefaksiyonun gerçekleşmesi amacıyla bekletildi. Örnekteki sperm konsantrasyonu ve motilite oranına göre uygun sperm hazırlama tekniğine karar verildi. 10 milyon/ml konsantrasyonun üzerinde %50 motiliteye sahip semen örneklerine swim-up (yüzdürme) tekniği uygulandı. Likefiye olmuş semen örneği 10 ml'lik konik tüp içerisinde bir kez 3 ml sperm yıkama medyumuna, bir kez 3 ml

fertilizasyon medyumu ile yıkanarak 300 G'de santrifüj edildi. Her yıkama sonrası üstte kalan supernatant atıldı. Altta kalan pellet üzerine taze medyum eklendi. Son yıkama ve santrifüjün ardından oluşan pelet üzerine 0,5 ml yıkama medyumu eklenerek, inkübatör içersinde 45° açıyla 45 dk-1 saat bekletilerek, ileri progressif hareketli spermelerin medyumun üst seviyesine yüzmesi sağlandı. Medyumun üstte kalan kısmı pastör pipeti ile çekilerek, toplanan hücreler mikroenjeksiyonda kullanıldı. 5 milyon/ml konsantrasyonun altında , %50 nin altında motiliteye sahip semen örneklerine dansite-gradient tekniği uygulandı. Konik santrifüj tüpü (10 ml) içersine alta 1 ml %90, üzerine 1 ml %40'lık gradient solüsyonu birbirine karışmayacak şekilde yavaşça konuldu. Gradient solüsyonlarının üzerine 1 ml likefiye semen örneği yavaşça ilave edildi. Ardından hazırladığımız tüp 500 G'de 15 dk süreyle santrifüj edildi. Santrifüj sonrası, filtre fonksiyonu gören farklı konsantrasyonlardaki gradient solüsyonlarından geçerek konik tüpün dip kısmında toplanan hareketli ve canlı spermeleri içeren pelete dokunmadan, üstte kalan gradient solüsyonları pipetle aspire edildi. Kalan pelet bir kez 3 ml yıkama medyumu ve bir kez 3 ml fertilizasyon medyumu ile yıkanarak 300 G'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüpün dibinde kalan pelet 0.5 ml medyum içinde karıştırılarak mikroenjeksiyonda kullanılmak üzere ayrıldı.

Embriyoloji laboratuvarında denudasyon ve oosit matürasyon sürecinin tamamlanmasının ardından, toplanan oositlerin matürasyon aşamaları inverted mikroskopta değerlendirildi. Değerlendirmede I. kutup cisimciği görülen, I. mayoz bölünmesini tamamlamış, II. mayozun metafaz II aşamasındaki sekonder oositlere fertilizasyonun gerçekleşmesi amacıyla intasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) yapıldı. Mikroenjeksiyon inverted mikroskopta eşliğinde manuel mikromanüplatör ile gerçekleştirildi. Mikroenjeksiyon (ICSI) kapları oositlerin konulacağı dış ortam medyum dropları, sperm drobu ve sperm motilitesini yavaşlatıcı medyum drobunu (PVP-polyvinlypyrrolidone) içerecek şekilde hazırlanarak, bütün dropların üzeri mineral yağ ile kaplandı. Tutucu ve injeksiyon (ICSI) pipetleri takıldıktan sonra joy sticklerle uygun pozisyon almaları sağlandı. Metafaz II oosit kutup cisimciği saat 6 ya da 12 hizasında olacak şekilde pozisyon verilerek, tutucu

pipet aracılığı ile sabit hale getirildi. Mikroenjeksiyon pipeti aracılığı ile sperm drobundan alınan ileri progressif hareketli sperm, hareketini yavaşlatmak amacıyla PVP drobuna alındı. PVP drobunda motilitesi yavaşlayan sperm mikroenjeksiyon pipeti yardımıyla kuyruk kırma işlemi gerçekleştirildi. Sperm ooplazma içinde hareket ederek dejenerasyona sebep olmasını engellemek ve sperm hücre membranı harabiyetini oluşturarak oositin sitoplazmik aktivasyonunu gerçekleştirmek amacıyla yapılan sperm kuyruk kırma işleminin ardından, sperm mikroenjeksiyon pipeti içine çekilerek, sabitlenen oositin saat 3 seviyesinden mikroenjeksiyon işlemi gerçekleştirildi. Mikroenjeksiyon işleminde sperm pipetin en ucuna kadar ilerletildi, oosit içine girilerek bir miktar ooplazma aspire edildi. Ardından aspire edilen ooplazma ile birlikte sperm oosit içine enjekte edildi. Mikroenjeksiyon sonrası oositler erken dönem embriyo kültür medyumuna (GI, VITROLIFE) alınarak inkübatöre alındı. ICSI sonrası 16-18. saatlerde fertilizasyonun değerlendirilmesi amacıyla oositleri içeren kültür kapları inverted mikroskopta incelendi. Dişi ve erkek pronükleuslarının gözlemlendiği zigotlar fertilizasyon pozitif olarak kaydedildi. Fertilizasyon sonrası embriyo gelişim sürecinde 8 blastomerli evreye kadar embriyolar erken dönem kültür medyumunda inkübe edildi. Blastokist transferi yapılacak olgularda embriyolar transfer gününe kadar geç dönem embriyo kültür medyumunda (GII, VITROLIFE) bekletildi.

#### **III.D. Luteal Faz Desteği**

Luteal faz desteği olarak mikronize progesteron OPU yapılan günün akşamından başlanarak 200 mg 8 saatte bir vaginal yolla verilmişti. Luteal faz desteği embryo transferinden sonraki 10 – 12. günde yapılan gebelik testine kadar devam edildi. Gebelik elde edilen hastalarda luteal faz desteği gebeliğin 6-8. haftasında kadar fetal kardiyak aktivite tespit edilene kadar devam edildi.

#### **III.E. Embriyo Transferi**

Embryo transferi (ET) gelişen embriyo sayı ve kalitesine göre intra sitoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI) sonrası 2., 3. veya 5. gün yapıldı. Transfer edilecek embriyo sayısı ülkemizdeki yönetmeliklere uygun şekilde belirlendi. Otuzbeş yaş altındaki hastaların ilk iki embriyo transferinde sadece



bir embryo, otuzbeş yaş üzeri veya  $\geq 3$ . denemesi olan hastalara çoğul gebelik açısından başka bir kontrendikasyon yoksa 2 embryo transfer edildi. Hastalar mesaneleri dolu olarak dorsolitotomi pozisyonunda hazırlandı ve steril örtülerle örtüldü. Uygun büyüklükteki bir spekulum vaginaya yerleştirilerek serviks ortaya çıkarıldı. Daha sonra vajen 37° steril serum fizyolojik ile yıkandı ve gaz tampon ile temizlendi. Embryo transfer kateterinin (Labotect) dış kılıfı transabdominal ultrasonografi rehberliğinde internal oşa kadar ilerletildikten sonra transfer edilecek embryoların yüklendiği iç kateter endometriyal kaviteye ilerletildi ve fundusa yaklaşık 1 cm mesafede embriyolar kaviteye bırakıldı. Kateter geri çekilip embriyoloğa teslim edilerek embriyo retansiyonu olup olmadığı kontrol edildi. Hastalar transfer sonrası hemen mobilize edildi.

### **III.F. Gebelik Testi**

Embriyo transferinden 10-12 gün sonra serum  $\beta$ -hCG bakıldı.

## **IV. Değerlendirme Kriterleri**

### **IV.A. Demografik özellikler**

- Yaş
- Vücut kitle indeksi
- İnfertilite Etiyolojisi
- İnfertilite Süresi
- Gravida
- Bazal Hormon Düzeyleri ( FSH, LH, E2 ,AMH)

### **IV.B. Tedavi Süreci**

- Estradiol valerate kullanılan dozu ve gün sayısı ( FFE Grubu )
- Estradiol tedavisi başlanan gün endometriyum kalınlığı ( FFE Grubu )
- Gonadotropin başlanan gün endometrium kalınlığı
- Gonadotropin başlanan gün 2 - 10 mm çaplı antral folikül sayısı.
- Gonadotropin çeşidi ve dozu
- Antagonist tedavi süresi
- Hcg günü endometrial kalınlık

- Hcg günü hormon profili

#### **IV.C. Embryoloji laboratuvar parametreleri**

- Toplanan kumulus-oosit kompleksi sayısı
- Mikroinjeksiyon yapılan metafaz II oosit sayısı
- 2 pronukleus normal fertilizasyon oranı
- Embryo transfer günü
- Transfer edilen embriyo sayısı ve kalitesi
- Dondurulmuş embryo sayısı
- Luteal faz desteği türü

#### **IV.D. Gebelik Süreci**

- $\beta$ -hCG pozitifliği  
( 10-12. gün sonra,  $\beta$ -hCG değeri  $\geq 10$  IU/L pozitif kabul edildi.)
- Gebelik kesesi ve fetal nod sayısı
- Fetal kalp atımı varlığı
- 12 hafta üzeri devam eden gebelik

#### **V. İstatistiksel Analiz**

Çalışma retrospektif bir pilot çalışma olduğundan a priori örneklem hacmi hesaplaması yapılmadı. Çalışma periyodunda katılım kriterlerine uyan tüm hastalar çalışmaya dahil edildi.

Tüm değişkenlerin dağılımı histogramlar yapılarak görsel olarak değerlendirildi. Sürekli değişkenlerden normal dağılım gösterenler ortalama ve standart sapma ile normal dağılım göstermeyenler medyan ve 25. – 75. persantil değerleriyle tanımlandı. Kategorik değişkenler oransal olarak tanımlandı. Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda sürekli değişkenler için dağılım özelliklerine göre bağımsız örnekler için t – test (normal dağılım) veya Mann Whitney U test (normal dağılım olmayanlar) yapıldı. Kategorik değişkenler için ki-kare testi ve türevleri uygulandı. Çift yönlü p değeri  $<0.05$  olduğunda gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışma periyodu süresince estradiol priming yapılan ve dahil edilme kriterlerine uyan 35 hasta vardı. Yaş ve önceki IVF siklus sayısı birebir eşleştirilen 35 kontrol hastası seçildi. Demografik özellikler, IVF endikasyonları ve over rezervi parametreleri açısından iki grup arasında anlamlı fark yoktu. ( Tablo-1 )

**Tablo-1:** Demografik Özellikler

		FFE* Grubu	Kontrol Grubu	P
Demografik Veriler	Yaş	31.0 (4.1)	31.4 (4.2)	0.69
	VKI*	24.6 (3.1)	24.8 (4.0)	0.84
	Gravida	0 (0 – 1)	0 (0 – 0)	0.23
	Parite	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0.55
Over Rezervi	FSH* (IU/dl)	5.8 (1.4)	5.4 (1.7)	0.23
	Estradiol** (IU/dl)	41 (32 – 58)	45 (33 – 63)	0.60
	Antral Folikül Sayısı	12 (10 – 24)	12 (9 – 24)	0.81
İnfertilite Etiyoloji	İnfertilite Süresi (yıl)	5 (3 – 9)	6 (3 – 8)	0,56
	Ovulatuvar	4 (11.4)	3 (8.6)	0,87
	Endometriozis	2 (5.7)	1 (2.9)	
	Tubal Faktör	1 (2.9)	3 (8.6)	
	Erkek Faktörü	11 (31.4)	10 (28.6)	
	Açıklanamayan	17 (48.6)	18 (51.4)	

\*FFE: folikuler faz estradiol, FSH: folikül stimulan hormon, VKI: vücut kitle indeksi

\*\*E2 değerleri FFE grubunda 4, kontrol grubunda 3 hastada gözlenmemiştir.

FFE grubunda medyan (25. – 75. persantil) estradiol kullanma süresi 5 (4-7) gündü. Stimulasyona başlanan gün ölçülen endometrium kalınlığı çalışma grubunda kontrol grubundan anlamlı düzeyde daha fazlaydı (sırasıyla 7.4 (6.0 – 8.5) mm ve 3.0 (3.0 – 3.6) mm, p <0.01)(Tablo-2) Hastalara stimulasyon için rekombinant FSH (rFSH), highly purified FSH

(hpFSH), human menopausal gonadotropin (HMG) olarak üç çeşit gonadotropin verilmiş olup gruplar arasında kullanılan gonadotropin çeşidi açısından anlamlı fark bulunmadı(Tablo-2). Başlangıç gonadotropin dozu her iki grupta benzerdi. Stimulasyon süresi çalışma grubunda kontrol grubundan anlamlı düzeyde daha uzundu (sırasıyla  $10.1 \pm 1.8$  ve  $9.2 \pm 1.6$  gün,  $p = 0.03$ ) . Toplam gonadotropin dozu her iki grupta benzerdi. GnRH antagonist tedavisinin başlandığı gün her iki grupta benzer olmasına karşın antagonist kullanılan gün sayısı çalışma grubunda anlamlı olarak daha fazlaydı. Hastalara hCG uygulanan gün serum E2 ve progesteron düzeyleri her iki grupta benzer, endometrial kalınlık çalışma grubunda kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksekti (sırasıyla  $11,6 \pm 2.22$  ve  $10,2 \pm 1,8$  mm,  $p <0,01$ ). (Tablo-2)

**Tablo-2: Tedavi Parametreleri**

	<b>FFE* Grubu</b>	<b>Kontrol Grubu</b>	<b>P</b>
<b>Estradiol kullanılan gün sayısı</b>	5 (4 – 7)	-	-
<b>Gonadotropin türü (%)</b>	<b>rFSH*</b>	18 (51.4)	21 (60.0)
	<b>hpFSH*</b>	10 (28.6)	4 (11.4)
	<b>HMG*</b>	7 (20.0)	10 (28.6)
<b>Gonadotropin başlangıç Dozu (IU/gün)</b>	225 (150 – 225)	225 (150 – 300)	0.78
<b>Stimülasyon başlangıcı endometrial kalınlık (mm)</b>	7.4 (6.0 – 8.5)	3 (3 – 3.6)	<0.01
<b>Stimülasyon süresi (gün)</b>	10.1 (1.8)	9.2 (1.6)	0.03
<b>Total gonadotropin Dozu (IU)</b>	2085.2 (631.9)	1976 (760.6)	0.52
<b>GnRH* antagonist başlangıç günü</b>	6 (6 – 7)	6 (5 – 7)	0.24
<b>GnRH antagonist kullanılan gün sayısı</b>	4 (4 – 5)	4 (3 – 4)	0.01
<b>hCG* günü Estradiol</b>	952 (763 – 1590)	864 (472 – 1790)	0.30
<b>hCG günü Progesteron</b>	0.4 (0.3 – 0.8)	0.41 (0.3 – 0.7)	0.74
<b>hCG günü endometrial kalınlık</b>	11.6 (2.22)	10.2 (1.8)	<0.01

\***FFE**: folikuler faz estradiol, **rFSH**: recombinant folikül stimulan hormon, **hpFSH**: highly purified folikül stimulan hormon, **HMG**: human menopausal gonadotropin, **GnRH**: gonadotropin releasing hormon, **hCG**: human chorionic gonadotropin

Toplanan kumulus – oosit kompleksi sayıları, MII oosit sayıları ve in vivo maturasyon ve 2PN fertilizasyon oranları her iki grupta benzerdi. Embryo transferi yapılamayan hasta oranları ve transfer edilen embryo sayısı iki grupta benzerdi. Çalışma grubunda daha çok hastaya blastokist aşamasında embryo transferi yapılabildiği (sırasıyla %79,3 ve %51,6, p = 0,03). Embryoloji laboratuvarı verileri Tablo 3'te sunulmuştur.

**Tablo-3:** Embryoloji Laboratuvarı Verileri

	<b>FFE* Grubu</b>	<b>Kontrol Grubu</b>	<b>P</b>
<b>Toplam Oosit Sayısı</b>	10 (7 – 16)	10 (6 – 15)	0.72
<b>MII Oosit Sayısı</b>	7 (4 – 10)	6 (4 – 12)	0.82
<b>In vivo maturasyon oranı</b>	0.71 (0.48 – 0.83)	0.70 (0.55 – 0.80)	0.89
<b>2PN /MII *</b>	0.75 (0.58 – 0.89)	0.75 (0.60 – 0.94)	0.48
<b>Transfer yapılmayan hasta sayısı</b>	6 (17.1)	4 (11.4)	0.50
<b>Embryo Transfer Sayısı</b>	1 (1 – 2)	1 (1 – 2)	0.45
<b>Embryo Transfer Günü</b>	<b>2 -3</b>	6 (20.7)	15 (48.4)
	<b>5.</b>	23 (79.3)	16 (51.6)
			0.03

\*FFE: folikuler faz estradiol, PN:pronukleus, M: metafaz

Çalışma grubunda 19 (%54,3) hastada, kontrol grubunda 18 (%51,4) hastada gebelik testi pozitif sonuçlanmış olup gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. Klinik gebelik ve embryo implantasyon oranları çalışma grubunda daha yüksek olmakla beraber aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Gebelik sonuçları Tablo 4'te sunulmuştur.

**Tablo -4:** Gebelik Oranları

	<b>Çalışma Grubu</b>	<b>Kontrol Grubu</b>	<b>p</b>
<b>Pozitif <math>\beta</math>-hCG (%)</b>	19/35 (54.3)	18/35 (51.4)	0.81
<b>Klinik Gebelik (%)</b>	17/35 (48.6)	13/35 (37.1)	0.33
<b>İmplantasyon Oranı**</b>	44.8 (43.0)	34.4 (44.8)	0.30

\*  $\beta$ -hCG: B-human chorionic gonadotropin \*\*rakamlar ortalama (standart sapma) olarak sunulmuştur.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda; foliküler faz estradiol (FFE) grubunda kontrol grubuna göre stimülasyon süresinin sadece bir gün uzun sürmesine ve bir fazla doz antagonist gereksinimi olmasına rağmen multifoliküler gelişim için gereken total gonadotropin miktarı artmadı. Hcg uygulanan gün endometriyal kalınlık FFE grubunda arttı. Laboratuvar parametrelerinde bir değişiklik olmadı ancak FFE grubunda daha fazla hastaya blastokist transferi yapılabildi. İmplantasyon ve klinik gebelik oranları olumsuz etkilenmediği gibi FFE grubunda bu oranlar daha yüksekti ancak aradaki fark anlamlı değildi. FFE grubundaki tüm hastalara önceden planlanan tarihlerde OPU ve ET yapılabildi.

GnRH antagonist sikluslarının programlanabilmesi için daha önceden kullanılan yöntemler; gonadotropin başlangıç gününü ve/veya hcg uygulama gününü bir gün öne almak ya da bir gün ertelemek gibi basit modifikasyonlar, stimülasyondan önceki siklusta oral kontraseptif kullanarak gonadotropin başlangıç gününü belirlemek, stimülasyondan önceki siklusun luteal fazından itibaren oral östrojen kullanımı ve stimülasyon siklusunun başında GnRH antagonisti kullanarak stimülasyonun başlangıç tarihini ertelemektir. Bu yöntemlerin hasta açısından uygulama kolaylığı, tedavi maliyeti ve gebelik oranına etkileri açısından avantaj ve dezavantajları aşağıda tartışılmıştır.

### I. Basit Modifikasyonlar

Stimülasyona başlanan ya da hCG uygulanan gün bir gün ötelenerek ya da geri çekilerek, OPU tarihi maksimum iki günlük bir periyotta değiştirilebilir, böylece hafta sonuna denk gelebilecek OPU işlemlerinden kaçınılabileceği gibi hafta içerisinde de iş yükünün dengeli bir şekilde dağıtılması sağlanabilir. Gonadotropin stimülasyonuna siklusun 2. ya da 3. günü başlanabilir, yapılan çalışmalarda stimülasyonun ikinci gün yerine üçüncü gün başlanmasının devam eden gebelik oranlarını etkilemediği

gözlenmiştir.(6) Leader ve ark. yapmış olduğu randomize kontrollü prospektif bir çalışmada 1428 hastaya rFSH veya collitropin-alfa ile stimulyasyon uygulanmış ve 696 hastaya siklusun 2. gününde, 732 hastaya siklusun 3. gününde stimulyasyon başlanmıştır. Siklusun 2. veya 3. günü stimulyasyona başlanıp rFSH kullanılan grupta devam eden gebelik oranları sırasıyla %35.1- %43.1 , collitropin-alfa kullanılan grupta ise %37.9 -%43.5 olarak saptanmış ve sonuçlar istatistiksel olarak benzer bulunmuştur. Benzer şekilde stimulyasyonun sonunda hCG günü bir gün öne veya ileri alındığında klinik sonuçları etkilemediğini düşündüren çalışmalar vardır. Tremellen ve ark. yapmış olduğu GnRH antagonist protokol uygulanan 1642 hastanın değerlendirildiği retrospektif bir çalışmada; literatürde kabul görmüş folikülometride aynı anda 17 mm boyuta ulaşan 3 folikül gözleendiğinde hCG uygulanması kriterinin aksine, hCG uygulanan günün bir gün erkene alınması (16 mm den büyük 3 folikül) ya da bir gün ertelenmesinin klinik sonuçlara olumsuz etki oluşturmadığı ve canlı doğum oranlarında azalmaya neden olmadığı gösterilmiştir.(5) Kyrou ve ark. Tarafından yapılan prospektif bir çalışmada antagonist protokol uygulanan 120 hastada Tremellen ve arkadaşlarının çalışmasına benzer olarak hCG bir gün erken ya da geç uygulandığında pozitif  $\beta$ -hCG oranları erken ve geç uygulanan grupta benzer bulunmuştur. (%46.2 vs. %50) (7)

İki strateji bir araya getirildiğinde OPU ve ET işlemlerinin bir veya iki gün ileri ya da geri alınmasının klinik sonuçları etkilemediği düşünülebilir. Hem doktor hem de hasta açısından kolaylıkla uygulanabilecek bu yöntemlerde toplam gonadotropin ve antagonist kullanımının bir günlük ihtiyaç kadar artacağı ve bu nedenle tedavi maliyetini önemli miktarda değiştirmeyeceği düşünülebilir fakat sadece iki günlük bir esneklik sağlanabiliyor olması her koşulda yeterli olmayabilir. Ayrıca bu yöntemin bir dezavantajı da yine menstrual kanamanın başlangıç tarihine bağımlı olması ve tedavinin ilerlideki bir menstrual siklusta yapılması planlandığında olası OPU-ET tarihlerinin öngörülememesidir.

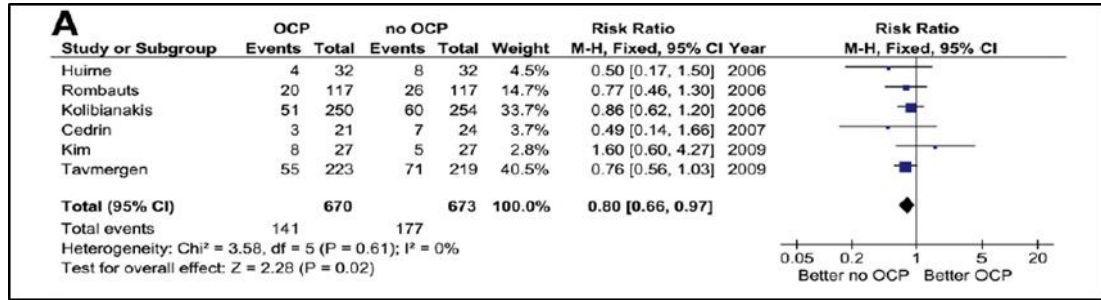


## II- Oral Kontraseptif İlaçlar

Stimulasyon başlangıç tarihini ayarlayabilmek için önceki siklusta oral kontraseptif hap kullanımı alternatif bir yöntem olarak değerlendirilmiştir. Bu yöntemde stimulasyondan önceki siklusun başından itibaren hastaya 14-28 gün süreyle kombine oral kontraseptif hap verilerek son hap kullanımından 2-5 gün sonra gonadotropin enjeksiyonları başlatılmaktadır. Oral kontraseptif kullanımının amacı endojen gonadotropin düzeyini baskılayarak foliküler gelişimi duraklatmak ve istenilen tarihte stimulasyona başlanmasını sağlamaktır. Oral kontraseptif kullanılan gün sayısı planlanan stimulasyon tarihine göre belirlenmektedir. Bu şekilde stimulasyon başlanacağı tarih ön görülebilir. Literatüde bu yöntemin etkinliğini değerlendiren 6 randomize kontrollü çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda 0.03 mg ethinyl estradiol ve 0.15 mg levonorgestrel/desogestrel içeren monofazik kombine oral kontraseptif haplar kullanılmıştır. Son hap kullanımı ile stimulasyon başlangıcı arasındaki süre 2-5 gün arasında değişmiştir. Tüm çalışmalarda stimulasyon için sadece rFSH kullanılmıştır. Toplam 1343 hastanın değerlendirildiği bu 6 çalışmayı biraraya getiren metaanalizde oral kontraseptif hap ile programlanan siklularda stimulasyon süresinin yaklaşık 1.3 gün uzamasına ve toplam gonadotropin ihtiyacının yaklaşık 360 IU artmasına rağmen devam eden gebelik elde etme olasılığı için rölatif risk (RR) 0.78 ( 0.66-0.97, p=0.02 ) olduğu hesaplanmıştır. Yani tedavi süresinin ve maliyetinin artmasına rağmen gebelik elde etme olasılığı anlamlı olarak azalmaktadır.(8) (Şekil – 3) .

Oral kontraseptif hap ile programlama sonrası devam eden gebelik oranındaki azalmanın olası sebeplerinin (i) endojen LH düzeyindeki azalmanın oosit kalitesini ve/veya (ii) oral kontraseptif ilacın içerisindeki progestinin endometrial reseptiviteyi olumsuz yönde etkilemesi olduğu düşünülmektedir.(9) Son tablet ile stimulasyon başlangıcı arasındaki periyodun minimum 5 gün olacak şekilde uzatılmasının veya farklı bir progestin içeren oral kontraseptif hap kullanılmasının bu olumsuzlukları giderip gideremeyeceğini görmek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca

baskılanan LH seviyelerinin olumsuz etkilerini engellemek amacıyla stimülasyon sırasında HMG veya rLH formlarında LH aktivitesinin de eklenmesinin etkisi de değerlendirilmelidir. Hali hazırda bu yöntem kullanım kolaylığı ve önemli bir maliyet getirmemesine karşın gebelik oranını azalttığı için tercih edilmemektedir.

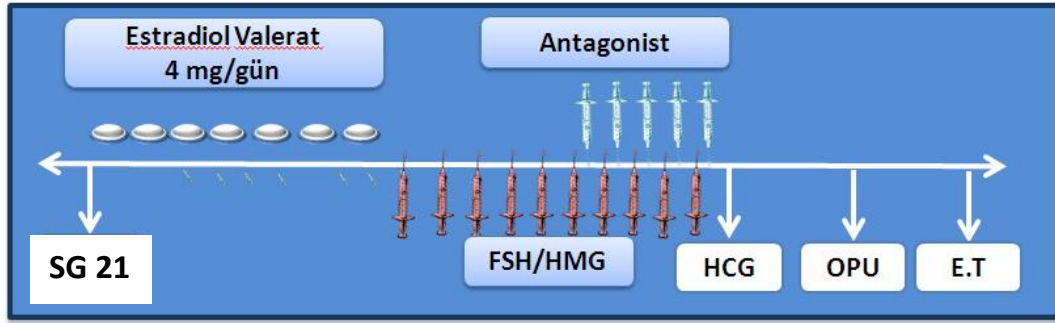


**Şekil-3:** OCP ile programlanan sikluslarda devam eden gebelik oranları.  
**OCP:** Oral Contraseptive Pills ( CI : %95 ) (Fertil Steril 2010;94:2382–4.)

### III. Luteal Faz Estradiol (LFE) Kullanımı

Antagonist sikluslarını programlamak için bir diğer alternatif yöntem stimülasyondan önceki siklusun luteal fazından itibaren estradiol vererek stimülasyon başlangıç tarihini planlamaktır. Bu yöntemde önceki siklusun midluteal fazında hastalara günlük 4 mg oral estradiol valerate günde iki doza bölünerek başlanmaktadır. (Şekil-4) Menstruasyon tarihi göz önüne alınmaksızın estradiol uygulanması devam edilerek planlanan gün gonadotropin başlanmaktadır.(10) Estradiol uygulanmasına midluteal fazda başlanmasının amacı luteofoliküler geçişteki endojen FSH artışını baskılamak ve FSH'ya duyarlı antral foliküllerin gelişimini foliküller henüz FSH'ya bağımlı aşamaya gelmeden duraklatmaktır. Böylece gonadotropin ile stimülasyona başlayana kadar foliküler atrezinin engellenmesi amaçlanmaktadır. Bu yöntemin hafta sonu OPU işlemlerini azaltmaktaki etkinliği iki randomize kontrollü çalışmada değerlendirilmiştir.(11,12) Blockeel ve arkadaşları 86 kadına önceki siklusun 25. gününden itibaren menstruasyondan bağımsız olarak 6-10 gün süreyle günlük 4 mg estradiol valerate tableti iki dozda oral vererek stimülasyonun ilk gününü Cuma- Pazar

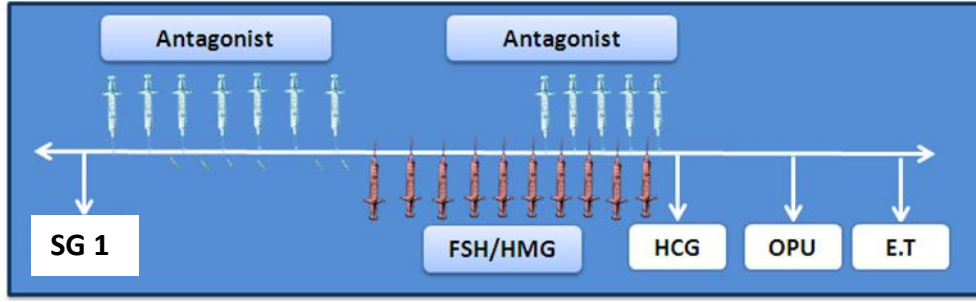
günleri arasına denk gelecek şekilde ayarlamışlardır. Kontrol grubunda ise stimülasyona siklusun 2. günü başlanmıştır. Çalışma ve kontrol gruplarına fixed antagonist tedavi uygulanmıştır. LFE grubunda %2.7 hastada, kontrol grubunda %20.5 hastada işlemler hafta sonuna denk gelmiştir. LFE grubunda stimülasyon süresi ve kullanılan gonadotropin dozu anlamlı olarak artış göstermiştir. Cedrin ve arkadaşlarının çalışmasında ise 472 kadın randomize edilmiş ve LFE grubunda beklenen menstürasyondan 7 gün önce günlük 4 mg estradiol valerate oral yolla günlük 2 doza bölünerek başlanmıştır. Estradiol kullanımı menstürasyon başladıktan sonraki ilk perşembe gününe (Perşembe günü de dahil) kadar devam edilmiştir. LFE grubunda gonadotropin stimülasyonu cuma günü başlanırken kontrol grubunda stimülasyona siklusun 2. günü başlanmıştır. Her iki grupta da fixed antagonist protokol uygulanmıştır. LFE grubunda kullanılan gonadotropin miktarı ve stimülasyon süresi artış göstermiş ancak klinik sonuçlarda anlamlı farklılık gözlenmemiştir. LFE grubundaki hastaların %4 ünde OPU ve ET işlemleri haftasonuna denk gelmiştir. Bu iki çalışmanın sonuçları bir araya getirildiğinde LFE grubunda stimülasyon süresi yaklaşık 1 gün (%95 CI: 0.58 – 1.09, p <0.01) ve total gonadotropin dozu ortalama 174 IU (%95 CI: 113.5 – 235.3, p <0.01) artmasına rağmen klinik gebelik oranı değişmemiştir (RR: 0.95, %95 CI: 0.75 – 1.19, p=0.64). Önceki siklusta oral kontraseptif kullanımından farklı olarak gebelik oranlarını azaltmayan bu yöntem ile total gonadotropin ihtiyacı anlamlı olarak artmış olmasına rağmen ortalama 160 IU olan bu artış klinik olarak önemli sayılmayabilir ve önemli bir maliyet artışı getirmemektedir. Ancak bu çalışmalara sadece iyi prognozlu, normal over yanıtı hastaların katılmış olması sonuçların genellenebilirliğini sınırlamaktadır. Ek olarak estradiol kullanımına midluteal fazda başlanması oligomenoreik hastalarda zor olabilir.



**Şekil-4:** Luteal faz estradiol kullanımı şeması. **SG:** Siklus günü, **FSH:** folikül stimulan hormon, **HMG:** human menopausal gonadotropin, **HCG:** human chorionic gonadotropin, **OPU:** oocyte pick up, **ET:** embryo transferi

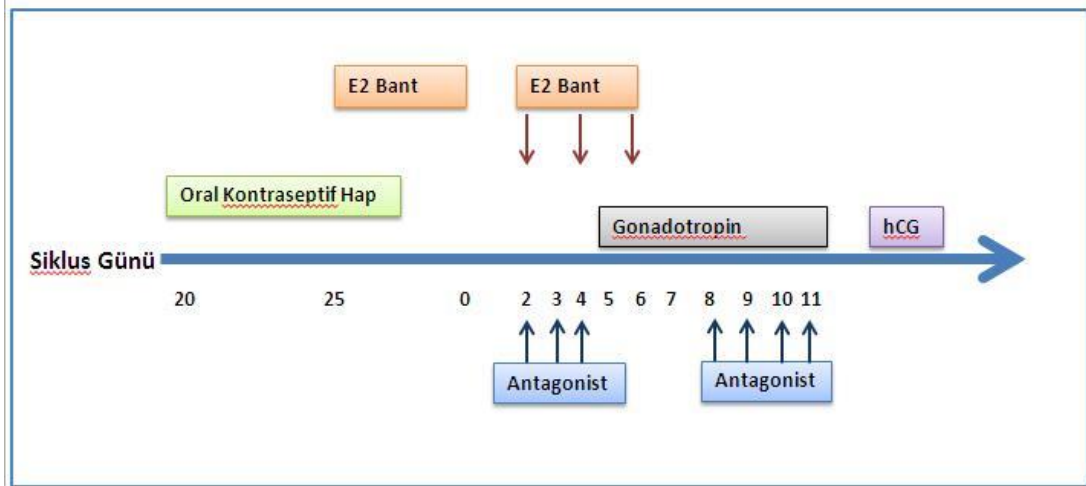
#### IV. Erken Folikuler Faz Antagonist (FFA) Kullanımı

Erken folikuler fazda GnRH antagonisti kullanarak folikül gelişiminin planlanan stimülasyon tarihine kadar duraklatılması bir diğer alternatiftir. Younis ve arkadaşları randomize kontrollü bir çalışmada spontan siklusün başından itibaren üç gün süreyle sadece GnRH antagonisti uygulayarak stimülasyona 4.günde başlamanın klinik sonuçlara etkisini değerlendirmişlerdir. Kontrol grubundaki hastalarda stimülasyona siklusun 2. günü başlanmış her iki grupta da flexible GnRH antagonist protokol uygulanmıştır. (Şekil-5) Her iki grupta 25'er hasta içeren bu küçük ölçekli randomize kontrollü çalışmada FFA grubunda stimülasyon süresi ve total gonadotropin dozu anlamlı olarak artmış, in vivo oosit maturasyonu ve fertilizasyon oranları da anlamlı olarak yüksek bulunmasına rağmen klinik gebelik oranlarında gözlenen artış istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamıştır. (%23 ve % 17) . Araştırmacılar artan in vivo matürasyon ve fertilizasyon oranlarını FFA kullanımı ile folikuler kohortun senkronize olmasına ve oosit kalitesinin artmasına bağlı olabileceğini öne sürmüşlerdir. Primer amacı OPU tarihin planlamak olmayan bu çalışmanın sonuçları folikuler fazda endojen FSH'nın baskılanarak stimülasyon başlangıç tarihinin ertelenmesinin klinik sonuçları olumsuz etkilemediğini düşündüren bir kanıt olarak değerlendirilebilir.(13)



**Şekil-5:** Erken foliküler faz antagonist kullanım şeması **SG:** Siklus günü, **FSH:** folikül stimulan hormon, **HMG:** human menopausal gonadotropin, **HCG:** human chorionic gonadotropin, **OPU:** oocyte pick up, **ET:** embryo transferi

Benzer bir yöntem Reichman ve ark. tarafından kullanılmıştır.(14) Merkezlerine başvuran ortodoks Musevi hastalar cinsel birleşme ve ejakülasyonun dinen yasak olduğu “Niddah” periyodu bitene kadar OPU olmasını istemediğinden, OPU belirli bir günden sonra olacak şekilde planlama yapılması ihtiyacı doğmuştur. Niddah menstrual kanama ile başlamakta ve kanamanın son gününden 7 gün sonra bitmekte ve “Mikveh” adı verilen bir banyo ritüeli sonrası cinsel aktiviteye izin verilmektedir. Menstruel kanama ortalama 3 – 5 gün sürdüğünden OPU’nun siklusun 13. gününden sonra olması istenmektedir. Bu ihtiyacı karşılamak için Reichman ve ark. Siklusun 2.-4. günlerinde 0.25 mg/gün GnRH antagonisti ve siklusun 2 – 4 ve 6. günlerinde 0.1 mg/gün estradiol salımlı bant kullanarak stimülasyon başlangıcını siklusun 5. gününe ertelemişlerdir. Hastaların bir kısmı önceki siklusta OKS veya LFE alırken bir kısmı önceki siklusta herhangi bir ilaç kullanmamıştır. Gonadotropin stimülasyonu başladıktan sonra flexible GnRH antagonist protokolü uygulanmıştır. (Şekil-6) “Mikveh” protokolü adı verilen bu yöntem ile tedavi edilen 42 hasta retrospektif olarak herhangi bir modifikasyon kullanılmayan flexible antagonist tedavi uygulanan 42 hastayla karşılaştırılmıştır. Hastalar yaş, önceki siklus sayısı, maksimum estradiol düzeyleri, toplanan oosit sayısı, transfer edilen embryo sayısı ve



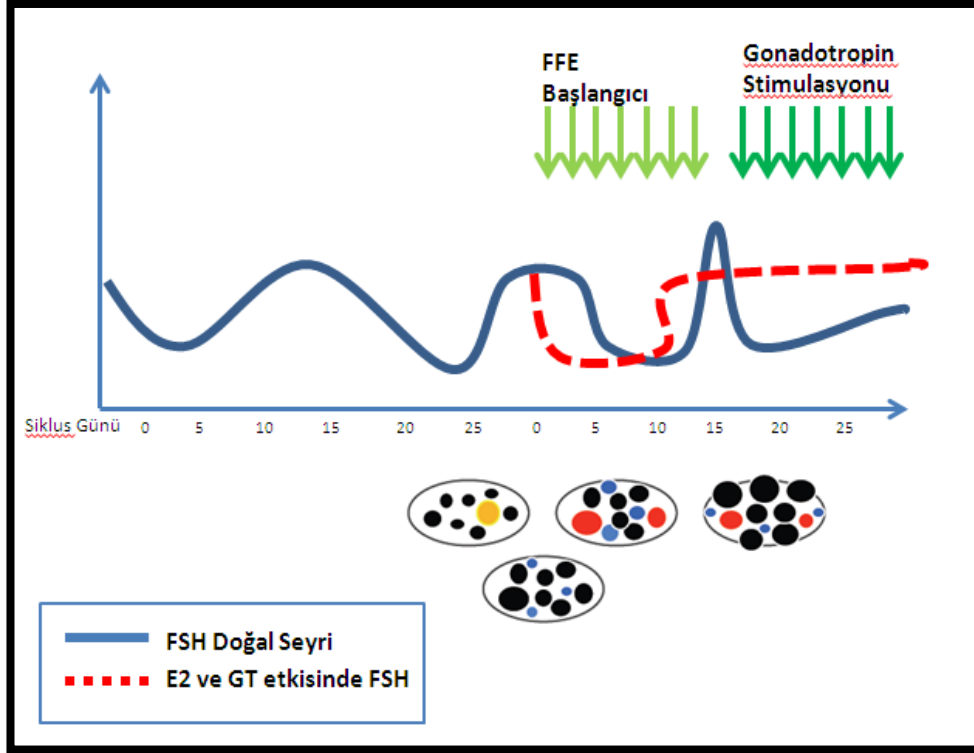
**Şekil-6:** Mikveh Antagonist Protokol. **E2:** estradiol, **hCG:** human chorionic gonadotropin

transfer günü için eşleştirilmiştir. Mikveh protokolü grubunda endometrial kalınlık (12.2 ve 11.2 mm,  $p = 0.03$ ), total gonadotropin dozu (2445 vs 1971 IU,  $p=0.05$ ) ve stimülasyon süresi artış göstermiş olup klinik sonuçlar benzer bulunmuştur.

Bu çalışmada Mikveh protokol grubundaki hastalara önceki siklusa uygulanan ilaçlar hakkında detaylı bilgi verilmemesi ve daha önemlisi Mikveh protokolü ve kontrol grubundaki hastaların maksimum östrojen dozu, toplanan oosit sayısı ve transfer edilen embryo sayısı için birebir eşleştirilmiş olması klinik sonuçların geçerliliğini sorgulanır kılmasına rağmen Younis ve arkadaşlarının çalışması gibi erken foliküler faz FSH supresyonunun klinik sonuçları olumsuz etkilemediğini düşündürebilir. Ancak hem FFA için kullanılan antagonist injeksiyonları hem de total gonadotropin dozunun yaklaşık 500 IU civarında artması nedeniyle tedavi maliyetini önemli oranda yükseltmesi Mikveh protokolünün en belirgin dezavantajı olarak görünmektedir. Ayrıca artan injeksiyon sayısı hasta konforunu azaltan bir faktör olacaktır.

Yukarıda anlatılan tüm yöntemler ele alındığında OPU işleminin istenilen günde yapılabilmesi için uygulanacak ideal yöntem; stimülasyon ile aynı siklusa başlanmalı, hasta konforunu bozmadan kolaylıkla uygulanabilmeli, laboratuvar sonuçlarını ve gebelik oranlarını etkilememeli,

tedavi maliyetini artırmamalıdır. Biz bu nedenle çalışmamızda kullanımı kolay olan, tedavi maliyetini artırmayan, stimülasyon ile aynı siklusta uygulanan, ovaryan yanıtı ve gebelik oranlarını değiştirmeyen bir yöntem olarak hastalara erken folikuler fazda estradiol verdik ve OPU işlemlerini uygun tarihlerde yapabilmeyi planladık. Younis ve Reichman'ın (13,14) yaptığı çalışmalarda gibi erken folikuler fazda FSH supresyonu uygulayarak FSH duyarlı ancak FSH bağımlı olmayan foliküllerin maturasyonunu durdurarak gonadotropin stimülasyonunu istediğimiz gün başlayabilmeyi planladık. Yapılan çalışmalarda istirahat halinde primordial folikül havuzundan antral folikül havuzuna geçişin sürekli ve FSH'dan bağımsız olduğu gösterilmiştir.(15,16) Bu sebeple çalışmamızda folikuler fazda estradiol kullanarak henüz FSH'ya duyarlı olmayan ancak gelişmekte olan diğer folikülleri etkilemeyerek sadece FSH duyarlı folikülleri baskılamış olduk. Bu sayede gonadotropin başladığında yanıt verebilecek antral foliküller kohortun büyüklüğüne olumsuz etkide bulunmayacağımızı düşündük. Verilen estradiol nedeniyle luteofoliküler geçiş sırasında FSH'ya bağımlı hale gelmiş foliküller atreziye gitmiş olsalar bile istirahat halindeki primordial havuzdan antral folikül havuzuna sürekli folikuler geçiş olacağından stimülasyon sırasında folikül yanıtında bir değişiklik olmayacağını düşündük. (Şekil- 8) Bizim çalışmamızda diğer yöntemlere kıyasla; önceki siklusta oral kontraseptif kullanımının aksine progestin maruziyeti olmadığı için endometrial reseptivite etkilenmemektedir. Ayrıca Remohi ve ark. yapmış olduğu çalışmada oosit donasyon sikluslarında alıcılara embryo transferine kadar 6 hafta estradiol verilmiş implantasyonu olumsuz etkilenmediği ve gebelik sonuçlarında değişiklik olmadığı gösterilmiştir.(17) Önceki siklusta oral kontraseptif kullanılan yöntemlere göre hap alınan gün sayısı LFE grubunda daha kısadır. LFE grubunda kısa süreli FSH supresyonu stimülasyon sırasında yeterli folikuler gelişim için oral kontraseptif kullanılan yöntemlere göre daha az gonadotropin tüketimi sağlamaktadır ve bu da tedavi maliyetini olumlu yönde etkilemektedir.



**Şekil-7:** FFE (folikuler faz estradiol) etkisi altında FSH ve oosit seyri. **FSH:** foliul stimulan hormon, **E2:** estradiol, **GT:** gonadotropin

Çalışmamızın retrospektif olması sonuçlar açısından kısıtlılık yaratsa da, hastaların belirli yaş aralığında seçilmiş, düşük over rezervi ve şiddetli OAT tanılı hastaların dışlanmış, yapılan tüm işlemlerin aynı ekipmanlarla ve aynı ekip tarafından uygulanmış olması sonuçların güvenilirliğini artırmaktadır. Örneklem hacminin küçük olması çalışmamızın gücünü azaltmıştır. Retrospektif bir istatistiksel güç analizi yapıldığında örneklemimizin FFE grubu ve kontrol grubunda %48.6 ve %37.1 devam eden gebelik oranları arasındaki fark %5 düzeyde istatistiksel olarak anlamlı gösterebilme olasılığı %16 olarak hesaplanmıştır. (P: %16) Daha büyük örneklemelerde bu mutlak farkın kapanması halinde istatistiksel anlamlılığa ulaşılabileceği gibi fark daha da büyüyebilir.

Çalışma grubunda gebelik oranlarının yüksek gözlenmesinin muhtemel nedeni transfer edilen embriyoların büyük çoğunluğunun blastokist aşamasında olması olarak kabul edilebilir. Seçilen embriyolar her iki grupta da aynı kriterlere göre belirlenmiş olup gruplar arasında embryo sayısı ve kalitesi açısından değerlendirilerek karar verilmiştir. FFE grubunda daha fazla



blastokist transferi yapılmasının FFE protokolünün olumlu bir etkisi olabilir, örneğin Younis ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmadaki gibi erken folikuler fazda FSH supresyonu belki de oosit kalitesini artırarak çalışma grubumuzdaki gebelik oranlarının artmasına neden olmuş olabilir.

Sonuç olarak bu pilot çalışmada hastalara folikuler fazda oral estradiol vererek kolaylıkla O.P.U. ve E.T takviminin belirli zaman aralığında klinik sonuçları etkilemeden, tedavi maliyetini ve süresini artırmadan ayarlamının mümkün olabileceği gösterilmiştir. Bu sonucun daha büyük kapsamlı prospektif çalışmalarla değerlendirilmesi uygun olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Steptoe PC and Edwards RG Birth after the reimplantation of a human embryo, *Lancet* 1978. 2(8085): p. 366.
2. Morley L, Tang T, Yasmin E, Hamzeh R, Rutherford AJ, Balen AH. Timing of human chorionic gonadotrophin (hCG) hormone administration in IVF protocols using GnRH antagonists: a randomized controlled trial. *Hum Fertil (Camb)*, 2012.15(3): p.134-9.
3. Al-Inany HG, AM Abou-Setta and M Aboulghar, Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception. *Cochrane Database Syst Rev*, 2006(3): p. CD001750.
4. Al-Inany HG, Youssef MA, Aboulghar M, Broekmans F, Sterrenburg M, Smit J, Abou-Setta AM. GnRH antagonists are safer than agonists: an update of a Cochrane review. *Hum Reprod Update*, 2011. 17(4): p. 435.
5. Kyrou D, Kolibianakis EM, Fatemi HM, Tarlatzis BC, Tournaye H, Devroey P. Is earlier administration of human chorionic gonadotropin (hCG) associated with the probability of pregnancy in cycles stimulated with recombinant follicle-stimulating hormone and gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonists? A prospective randomized trial. *Fertil Steril*, 2011. 96(5): p. 1112
6. Leader A, Devroey P, Witjes H, Gordon K. Corifollitropin alfa or rFSH treatment flexibility options for controlled ovarian stimulation: a post hoc analysis of the engage trial. *Reprod Biol Endocrinol*, 2013. 11(1): p. 52.
7. Tremellen KP and M Lane. Avoidance of weekend oocyte retrievals during GnRH antagonist treatment by simple advancement or delay of hCG administration does not adversely affect IVF live birth outcomes. *Hum Reprod*, 2010. 25(5): p. 1219-24.
8. Griesinger G, Kolibianakis EM, Venetis C, Diedrich K, Tarlatzis B. Oral contraceptive pretreatment significantly reduces ongoing pregnancy likelihood in gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles: an updated meta-analysis. *Fertil Steril*, 2010. 94(6):p.2382-4.
9. Kolibianakis EM, Zikopoulos K, Smits J, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem AC, Devroey P. Elevated progesterone at initiation of stimulation is associated with a lower ongoing pregnancy rate after IVF using GnRH antagonists. *Hum Reprod*, 2004. 19(7): p. 1525-9.
10. Cédric-Durnerin I, Bständig B, Parneix I, Bied-Damon V, Avril C, Decanter C, Hugues JN. Effects of oral contraceptive, synthetic progestogen or natural estrogen pre-treatments on the hormonal profile and the antral follicle cohort before GnRH antagonist protocol. *Hum Reprod*, 2007. 22(1): p. 109-16.
11. Cédric-Durnerin I, Guivarc'h-Levêque A, Hugues JN. Pretreatment with estrogen does not affect IVF-ICSI cycle outcome compared with no pretreatment in GnRH antagonist protocol: a prospective randomized trial. *Fertil Steril*, 2012. 97(6): p. 1359-64 e1.
12. Blockeel C, Engels S, De Vos M, Haentjens P, Polyzos NP, Stoop D, Camus M, Devroey P. Oestradiol valerate pretreatment in GnRH-

- antagonist cycles: a randomized controlled trial. *Reprod Biomed Online*, 2012. 24(3): p. 272-80.
13. Younis JS, Soltsman S, Izhaki I, Radin O, Bar-Ami S, Ben-Ami M. Early and short follicular gonadotropin-releasing hormone antagonist supplementation improves the meiotic status and competence of retrieved oocytes in in vitro fertilization-embryo transfer cycles. *Fertil Steril*, 2010. 94(4): p. 1350-5.
  14. Reichman DE, Brauer AA, Goldschlag D, Schattman G, Rosenwaks Z. In vitro fertilization for Orthodox Jewish couples: antagonist cycle modifications allowing for mikveh attendance before oocyte retrieval. *Fertil Steril*, 2013. 99(5): p. 1408-12.
  15. Bentov Y, Esfandiari N, Gokturk A, Burstein E, Fainaru O, Casper RF. An ongoing pregnancy from two waves of follicles developing during a long follicular phase of the same cycle. *Fertil Steril*, 2010. 94(1): p. 350 e8-11.
  16. Guigon CJ, Mazaud S, Forest MG, Brailly-Tabard S, Magre S. Role of the first waves of growing follicles in rat ovarian maturation. *Ann Endocrinol (Paris)*, 2003. 64(2): p. 85.
  17. Soares SR, Velasco JA, Fernandez M, Bosch E, Remohí J, Pellicer A, Simón C. Clinical factors affecting endometrial receptiveness in oocyte donation cycles. *Fertil Steril*, 2008. 89(3): p. 491-501.

## TEŞEKKÜR

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na 2011 yılı Eylül TUS sınavını kazanarak kendi isteğimle girdim. Bölümde çalışmaya başladığım ilk günden itibaren aldığım eğitimden hiçbir zaman şüphe duymadım. Gerek akademik gerekse cerrahi olarak en güncel bilgilerle, en son tekniklerle kanıta dayalı tıp perspektifinde eğitildim. Bu eğitim süreci boyunca üzerimizden hiçbir zaman desteklerini, sevgilerini, bilgilerini ve ilgilerini benden esirgemeyen tüm bölüm hocalarıma ; Prof. Dr. Şakir Küçükkömürcü, Prof. Dr. Mehpere Tüfekçi, Prof. Dr. Ahmet Esmer, Prof. Dr. Gürkan Uncu, Prof. Dr. Hakan Ozan, Doç. Dr. Kemal Özerkan, Yrd. Doç. Dr. Mehmet Aral Atalay, Yrd. Doç. Dr. Bilge Çetinkaya Demir, Uzm. Dr. Adnan Orhan ve Uzm. Dr. Işıl Kasapoğlu'na, tüm asistan arkadaşlarıma, başhemşire Pervin Mutlu ve sorumlu ebe Gökçen Aladağ'a, tüm hemşire ve ebelere, tüm personele teşekkürü bir borç bilirim.

Uzmanlık eğitimim boyunca yaptığım çalışmalarda özellikle katkıları bulunan değerli hocalarıma; Prof. Dr. Gürkan Uncu, Doç. Dr. Kemal Özerkan, Yrd. Doç. Dr. Bilge Çetinkaya Demir, Yrd. Doç. Dr. Mehmet Aral Atalay'a ilgi ve alakalarından dolayı, yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Tezimi hazırlamamda ve hekimlik hayatımda olumlu anlamda sayısız katkıları olan, her zaman gerek insani olarak gerek hekim olarak örnek aldığım çok değerli hocalarıma Prof. Dr. Gürkan Uncu ve Doç. Dr. Barış Ata'ya ayrıca teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük katkı ve emeği sağlayan ve her zaman yanımda olan değerli aileme ve bana uzmanlık eğitimimin en büyük hediyesi olan değerli eşim Dr. Elif Külahçı Aslan'a her daim yanımda olduğu için teşekkür ederim.

## ÖZGEÇMİŞ

İlköğrenimimi Bursa Kükürtlü Ticaret ve Sanayi Odası İlköğretim Okulu'nda tamamladıktan sonra Bursa Anadolu Lisesi'nde Ortaöğretimimi bitirdim. 2005 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 6 yılın sonunda tıp hekimi eğitimimi tamamladım. Giresun Şebinkarahisar Devlet Hastanesi'nde mecburi hizmetimi yaptım. 2011 Eylül TUS sınavında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nı kazanarak uzmanlık eğitimime başladım. Uzmanlık eğitimim boyunca ulusal ve uluslararası kongrelere katıldım. Kongrelerde hem oral hem de poster sunumu olarak bildirilerde bulundum. Ulusal ve uluslararası çalışmalara katıldım.