

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM
ANABİLİM DALI

**GONADOTROPİN İLE KOMBİNE İNTRAUTERİN İNSEMİNASYON
SİKLUSLARINDA OVULASYONU TETİKLEMEDE KLİNİK GEBELİK
SONUÇLARI AÇISINDAN STANDART hCG UYGULAMASI İLE BİRLİKTE GnRH
ANALOĞU UYGULAMASININ, STANDART hCG UYGULAMASI İLE
RETROSPEKTİF OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. ONUR YAVUZ

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ: PROF. DR. BÜLENT GÜLEKLİ

İZMİR 2018

ÖNSÖZ	i
TABLO LİSTESİ.....	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iii
KISALTMALAR	iv
ÖZET	1
SUMMARY	4
1. GİRİŞ	7
2. GENEL BİLGİLER.....	10
2.1. Tanım.....	10
2.2. İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi	11
2.2.1. Kadın İnfertilitesinde Değerlendirme	11
2.2.2. Erkek İnfertilitesinde Değerlendirme.....	13
2.3. İnfertilite Nedenleri	14
2.3.1. Kadın İnfertilitesinin Nedenleri	14
2.3.2. Erkek İnfertilitesinin Nedenleri.....	23
2.3.3. Açıklanamayan İnfertilite.....	26
2.4. İntrauterin İnseminasyon (İÜİ).....	28
2.4.1. Semen Analizi	30
2.4.2. İntrauterin İnseminasyonu İşlemi İçin Sperm Hazırlanması.....	44
2.4.3. İntrauterin İnseminasyonun Zamanlaması	45
2.4.4. İntrauterin İnseminasyonun Tekniği	47
2.4.5. İntrauterin İnseminasyonu Sonrası İzlem.....	47
2.4.6. İntrauterin İnseminasyonunun Komplikasyonları.....	48
2.5. Menstrüel Siklus ve Ovulasyonun Fizyolojisi	57
2.6. Ovulasyon İndüksiyonu	60
2.6.1. Klomifen sitrat ile ovulasyon indüksiyonu	64
2.6.2. Aromataz inhibitörleri ile ovulasyon indüksiyonu.....	67
2.6.3. Gonadotropin stimüle edici hormon (GnRH) ile ovulasyon indüksiyonu	71
2.6.4. Dopamin agonistleri ile ovulasyon indüksiyonu.....	73
2.6.5. Ekzojen gonadotropinler ile ovulasyon indüksiyonu.....	74
3. MATERYAL VE METHOD	82
3.1. Serum Biyokimyasal Değerlendirme Yöntemleri ve Görüntüleme Tekniği.....	85
3.2. İstatistiksel Analiz	85
4. BULGULAR.....	86
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	92
6. KAYNAKÇA.....	98

ÖNSÖZ

Kadın Hastalıkları ve Doğum alanındaki uzmanlık eğitimim süresince, değerli bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, bu uzmanlık alanını sevmemde ve yetişmemde büyük katkıları olan Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı öğretim üyeleri, sayın hocalarım: Prof. Dr. Berrin Acar, Prof. Dr. Turhan Uslu, Prof. Dr. Bülent Gülekli, Prof. Dr. Cemal Posacı, Prof. Dr. Yakup Erata, Prof. Dr. Murat Celiloğlu, Prof. Dr. Uğur Saygılı, Prof. Dr. Sabahattin Altunyurt, Prof. Dr. Ömer Erbil Doğan, Doç. Dr. Hasan Bahadır Saatlı, Doç. Dr. Recep Emre Okyay, Yrd. Doç. Dr. Sefa Kurt, Yrd. Doç. Dr. Erkan Çağlıyan ve birlikte çalıştığım, uzmanlık eğitim sürecinin zorluluklarını paylaştığım başta Dr. Hüseyin Aytuğ Avşar ve Dr. Hikmet Tunç Timur olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma, hemşirelerimize ve personellerimize derinden teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı başta sayın hocam Prof. Dr. Bülent Gülekli olmak üzere, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Hülya Ellidokuz'a ve Prof. Dr. Pembe Keskinoglu'na teşekkür ederim.

Hiçbir zaman bana olan desteğini esirgemeyen ve beni bugünlere getiren çok değerli anneme ve babama sonsuz teşekkürler...

Dr. Onur Yavuz

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Semen analizi için en düşük referans değerleri

Tablo 2. Açıklanamayan infertilite tedavisinde siklus başına tahmini gebelik oranı

Tablo 3. Klinik ve biyokimyasal bulgulara göre OHSS sınıflandırılması

Tablo 4. GnRH salınım paterni

Tablo 5. Grupların demografik özellikleri

Tablo 6. Bazal serum hormon değerlerinin karşılaştırılması

Tablo 7. İntrauterin inseminasyon sikluslarının özelliklerinin karşılaştırılması

Tablo 8. Sperm parametrelerinin karşılaştırılması

Tablo 9. Stimülasyon sikluslarının sonuçlarının karşılaştırılması



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Geliştirilmiş Makler sperm sayma kamarası

Şekil 2. Işık mikroskopunda görülen normal sperm morfolojisi

Şekil 3. Papanicolaou boyaması, normal morfolojideki sperm hücreleri

Şekil 4. Diff-Quick boyaması, normal morfolojideki sperm hücreleri

Şekil 5. Schorr boyaması, normal morfolojideki sperm hücreleri

Şekil 6. Geleneksel protokol

Şekil 7. Düşük doz step-up protokolü

Şekil 8. Step-down protokolü



KISALTMALAR

WHO: Dünya Sağlık Örgütü
IVF: İn vitro fertilizasyon
İÜİ: İntrauterin inseminasyon
CC: Klomifen sitrat
PKOS: Polikistik over sendromu
LH: Luteinizan hormon
hCG: İnsan koryonik hormonu
β: beta
GnRH: Gonadotropin salgılatıcı hormon
FSH: Folikül stimüle edici hormon
ACOG: Amerikan Kadın Hastalıkları ve Doğum Derneği
ASRM: Amerikan Üreme Tıbbı Derneği
VKİ: Vücut kitle indeksi
HBV: Hepatit B
HCV: Hepatit C
HIV-1: İnsan immün yetmezlik virüs-tip 1
CMV: Sitomegalovirüs
HTLV: İnsan lenfotropik virüs
P: Progesteron
E2: Östradiol
IU: Uluslararası ünite birimi
CCCT: Klomifen sitrat challenge testi
AFC: Bazal antral folikül sayısı
AMH: Serum antimülleryan hormon
PİH: Pelvik inflamatuvar hastalık
CYBH: Cinsel temasla bulaşan hastalık
HSG: Histerosalpingografi
OAT: Oligo-asteno-azospermi
Aİ: Aromataz inhibitörleri
NICE: Ulusal Sağlık ve Klinik Mükemmellik Enstitüsü
ICSI: İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu
MAR: Karma antiglobülin reaksiyonu
TMS: Total sperm sayısı
OHSS: Ovaryan hiperstimülasyon sendromu
VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
mRNA: Haberci ribo nükleik asit
VEGFR-2: Vasküler endotelyal büyüme faktörünün reseptörü - 2
Htc: Hematokrit
WBC: Beyaz kan hücresi
Na: Sodyum
K: Potasyum
ARDS: Akut respiratuar distress sendromu
r-LH: Rekombinant luteinizan hormon
r-hCG: Rekombinant insan koryonik hormonu
TGF-β: Transforme edici büyüme faktörü-β
BMP: Kemik morfojenik protein
NGF: Sinir büyüme faktörü

BDNF: Beyin kaynaklı nöroprotektif faktör
cAMP: Siklik adenozin monofosfat
OMI: Oosit matürasyon inhibitörü
NO: Nitrik oksit
PRL: Prolaktin
FHA: Fonksiyonel hipotalamik amenore
POY: Prematür ovaryan yetmezlik
HA: Hipotalamik amenore
FDA: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
hMG: İnsan menapozal gonadotropini
ü-FSH: Üriner folikül stimüle edici hormon
r-FSH: Rekombinant folikül stimüle edici hormon
ü-hCG: Üriner insan koryonik hormon
TSH: Tirotropin stimüle edici hormon
TMSS: Total motil sperm sayısı
SD: Standart deviasyon
YMSS: Yıkama sonrası total motil sperm sayısı

**GONADOTROPİN İLE KOMBİNE İNTRAUTERİN İNSEMINASYON
SİKLUSLARINDA OVULASYONU TETİKLEMEDE KLİNİK GEBELİK
SONUÇLARI AÇISINDAN STANDART hCG UYGULAMASI İLE BİRLİKTE GnRH
ANALOĞU UYGULAMASININ, STANDART hCG UYGULAMASI İLE
RETROSPEKTİF OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI**

ÖZET

AMAÇ: Gonadotropin ile ovulasyon indüksiyonu sonrasında intrauterin inseminasyon (İÜİ) yapılan sikluslarda son foliküler matürasyonu ve ovulasyon tetiklemesi için standart tek doz 250 mcg rekombinant insan koryonik gonadotropini (r-hCG) uygulanmaktadır. hCG, uzun yarı ömürlü luteinizan hormon (LH) ile aynı etkiye sahiptir. Ovaryan hiperstimülasyon sendromu (OHSS) riskini artıran uzun luteotropik etkiye sahiptir. Özellikle IVF (in vitro fertilizasyon) sikluslarındaki son çalışmalarda, gonadotropin salgılatıcı hormon agonisti (GnRH agonist), OHSS riskini azaltmak amacıyla son foliküler olgunlaşma ve ovulasyonun indüksiyonu için kullanılmıştır. Gonadotropin salgılatıcı hormon analoğu ile ovulasyon tetiklendiğinde, FSH (folikül stimüle edici hormon) piki doğal siklusa uygun olarak taklit edilmektedir. FSH, ovulasyon için granüloza hücrelerindeki LH (luteinizan hormon) reseptör sayısını ve oosit nükleusunun matürasyonunu arttırmaktadır. Aynı zamanda, endojen LH yükselişini sağlayarak oosit nükleusunun matürasyonuna katkıda bulunmaktadır. Ovulasyonu tetiklemeye hCG ile birlikte 0.2 mg GnRH agonisti uygulamasının ise standart hCG tetiklemesi ile karşılaştırıldığı çok sayıda IVF çalışması mevcuttur ve tek başına hCG tetiklemesine göre standart hCG ile birlikte GnRH agonisti tetiklemesinin artmış klinik gebelik oranları ile birlikte olduğu gösterilmiştir. Literatürde birçok IVF siklusu ile yapılmış prospektif randomize kontrollü çalışmalar mevcuttur. Bu kombine ovulasyon tetiklemesi uygulamasının, primer infertil hastalarda gonadotropin ile indüklenmiş intrauterin inseminasyon sikluslarındaki klinik gebelik ve OHSS sonuçları ile ilişkisini retrospektif olarak saptamayı çalışmamızda amaçladık.

YÖNTEM: Çalışmamız Ekim 2017- Ekim 2018 tarihleri arası Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İnfertilite Polikliniği'ne başvuran ve infertilite tedavisi olarak gonadotropin ile kombine intrauterin inseminasyon planlanmış primer infertil olgular incelenerek yapılmıştır. Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu onayı alınmıştır. Çalışmamıza aldığımız toplam olgu sayısı 74' tür. Grup I [standart doz 250 mcg rekombinant

insan koryonik gonadotropini ile tetikleme yapılmış hasta grubu]; n:38 ve Grup II [ovulasyon tetikleme amaçlı Grup I'deki ile aynı doz ve yöntemle yapılmış hCG enjeksiyonuna ilaveten hCG uygulamasından iki saat sonra 0.2 mg GnRH analogu uygulanmış hasta grubu]; n:36 olarak tanımlanmıştır. Kayıtlara göre, gonadotropinler ile ovulasyon indüksiyonu; günlük subkutan enjeksiyon şeklinde rekombinant FSH ile yapılmış ve hastaya özgü bireyselleştirilmiş olarak planlanan klasik veya düşük doz basamaklı artış protokolleri kullanılarak uygulanmıştır. Standart semen parametreleri 2010 Dünya Sağlık Örgütü (WHO) yönergelerine göre, morfolojik inceleme Kruger kriterlerine göre, Dokuz Eylül Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği Laboratuvarı'nda aynı kişi tarafından analiz edilmiş ve inseminasyon için hazırlanmıştır. Her iki grupta da hCG ile ovulasyon tetiklemesi sonrası 32.-36. saatlerde intrauterin inseminasyon yapılmıştır. İntrauterin inseminasyon işleminin ardından tüm hastalar 10 dakika supin pozisyonunda dinlendirilmiştir. Gruplara, luteal faz desteği amaçlı intravajinal uygulama şeklinde mikronize progesteron tedavisi verilmiştir. Tüm hastalardan inseminasyondan iki hafta sonra serumda β -hCG ölçümü yapılarak gebeliğin elde edilip edilmediği değerlendirilmiştir. Serum β -hCG değeri 25 mIU/mL'nin üzerinde olan olgular biyokimyasal gebelik olarak değerlendirilmiştir. Klinik gebelik varlığı, β -hCG değeri pozitifliğinden 3 hafta sonra transvajinal ultrasonda fetal kalp atımlarının tespiti olarak kabul edilmiştir. Olguların takibinde Medison SonoAce X6 C3-7EP,C2-8 nolu prob trans vajinal ultrason kullanılmıştır. Kan örnekleri sonuçlarına hastaların arşivdeki dosyalarından ve Probel bilgi sistemi üzerinden ulaşılmıştır.

BULGULAR: 74 çifte ait sonuçlar incelendi. Grup I n: 38 ve Grup II'de n: 36 olgu değerlendirmeye alındı. Çalışmaya dahil edilen her iki grubu içeren, kadın olguların ortalama yaşı 28.9 (20-35), erkek olguların yaşı 33.2 (22-47) olarak saptandı. Her iki grup arasında erkek sigara (paket/yıl) alışkanlığı ve kadın sigara (paket/yıl) alışkanlığı fark gözlenmedi. Gruplar arasında infertilite tedavi öyküsü açısından benzer sonuçlar saptandı. Kadın yaşı, erkek yaşı, VKİ ve infertilite süresi açısından gruplar benzerdi. İnfertilite nedenleri karşılaştırıldığında gruplar arasında fark gözlenmedi. Her iki grubun infertilite nedenleri içinde en sık neden olarak erkek faktör saptandı. Gruplar arasında bazal serum hormon değerleri açısından farklılık saptanmadı. İntrauterin inseminasyon sikluslarını değerlendirirken stimülasyon süresi (gün), toplam gonadotropin dozu (IU/gün), tetikleme günü endometrium kalınlığı (mm.) kriterlerine bakıldı. Gruplar arasında bu kriterler açısından fark saptanmadı. Gruplar arasında sperm parametreleri açısından farklılık yoktu. Grup I'de biyokimyasal gebelik ve klinik gebelik olgu

oranları %13.2, Grup II’de ise bu oranlar % 27.8 olarak saptanmış ama gruplar arasında istatistiksel fark ortaya çıkmamıştır ($p= .11$). Grup I’de saptanan 2 olguda dikoryonik diamniotik çoğul gebelik klinik olarak tespit edilmiştir ($p= .16$). Grup II’de çoğul gebelik saptanmadı. Her iki grupta OHSS saptanmamıştır.

TARTIŞMA: Klinik ve biyokimyasal gebelik sonuçları açısından gruplar arasında fark saptanmamıştır ($p= .11$). Grup II’ de çoğul gebelik saptanmadı. Grup I içinde iki olguda çoğul gebelik (dikoryonik diamniotik ikiz gebelik) saptandı ($p= .16$). Çoğul gebelik saptanan olguların takip formları incelendiğinde tetikleme günü 16 mm ve üzerinde iki adet folikülleri olduğu saptandı. Her iki grupta OHSS görülmemiştir. Klinik gebelik ve OHSS sonuçları açısından daha fazla olguyu içeren prospektif randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

ANAHTAR KELİMELER: İntrauterin inseminasyon, OHSS, GnRH agonist ile ovulasyon tetiklemesi

A RETROSPECTIVE COMPARISON OF GnRH ADMINISTRATION IN ADDITION TO hCG FOR OVULATION TRIGGERING WITH STANDARD hCG TRIGGERING REGARDING CLINICAL PREGNANCY OUTCOMES IN COMBINED INTRAUTERINE INSEMINATION CYCLES WITH GONADOTROPIN

SUMMARY

SUMMARY

OBJECTIVE: A standard single dose 250 mcg recombinant human chorionic gonadotropin (hCG) is administered for final follicular maturation and ovulation triggering, after ovulation induction with gonadotropins for intrauterine insemination (IUI) cycles. hCG has the same effect with the long half-life luteinizing hormone (LH). It has a long luteotropic effect that increases the risk of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS). According to recent studies regarding IVF cycles, gonadotropin releasing hormone (GnRH) agonists are used for final follicular maturation and induction of ovulation in order to prevent OHSS. When the ovulation is triggered with GnRH analogue, the peak of FSH (follicle stimulating hormone) imitates the natural cycle. FSH increases the LH receptors on the granulosa cells for ovulation and improves the maturation of the oocyte nucleus. Concurrently, it contributes to the maturation of the oocyte nucleus by providing the endogenous increase of LH. There are many studies that compares the combined use of 0.2 mg GnRH agonist and hCG with standard hCG regarding ovulation triggering, and it appears that combined use of GnRH and hCG triggering is more associated with increased clinical pregnancy rates than standard hCG triggering. There are many prospective randomized controlled studies concerning IVF cycles. We aimed to establish the relationship between the aforementioned combined ovulation triggering and the clinical pregnancy and OHSS outcomes in gonadotropin-induced IUI cycles in our retrospective study.

METHOD: Our study was conducted with cases of primary infertility at the infertility clinic of Dokuz Eylul University School of Medicine. The patients had visited the clinic between October 2017 and October 2018, and their planned treatment was intrauterine insemination combined with gonadotropin administration. Before the initiation of the study, ethical approval of Dokuz Eylül University Non-Invasive Research Ethics Committee had been obtained. The total number of included cases is 74: Group I (standard dose 250 mcg recombinant human

chorionic gonadotropin) n=38; Group II (in addition to hCG injection, administration of 0.2 mg GnRH analogue 2 hours later); n: 36.

According to the case files, ovulation induction with gonadotropins was administered as follows: Daily subcutaneous injection was performed using recombinant FSH and patient-specific, with individualized planned classical or low-dose step-up protocols. Standard semen parameters were evaluated according to the 2010 guidelines of WHO, morphological examination was analyzed in the laboratory of the Department of Obstetrics and Gynecology, Dokuz Eylul University School of Medicine according to Kruger criteria. According to the case files, the same person prepared the samples for insemination. In both groups, 32-36 hours after the ovulation triggering with hCG, intrauterine insemination was performed. After intrauterine insemination, all patients rested in supine position for 10 minutes. The groups received 600 mg of micronized progesterone, applied intravaginally, divided into three capsules per day, for luteal phase support. Two weeks after the insemination, the patients were tested for pregnancy by serum β -hCG measurement. Patients with serum β -hCG values above 25 mIU/mL were evaluated as biochemical pregnancies. The presence of clinical pregnancy was defined as the detection of fetal heart beats on transvaginal ultrasound 3 weeks after β -hCG value positivity. Medison SonoAce X6 C3-7EP, transvaginal ultrasound probe C2-8 was used for follow-up. Blood samples were collected from Central Laboratory of Dokuz Eylül University School of Medicine and the results were evaluated.

RESULTS: Results of 74 couples were examined. Group I consisted of 38 cases, while group II had 36 cases. The mean age of the female patients was 28.9 (20-35) and the mean age of the male patients was 33.2 (22-47). Male smoking habit (package / year) and female smoking habit (package / year) were similar in both groups according to patient histories. Similar results were obtained in terms of history of infertility treatment in both groups. The groups were similar in terms of female age, male age, body mass index (BMI) and duration of infertility. No difference was observed between the groups in terms of infertility. Male factor was the most common cause of infertility in both groups. There was no difference between the groups in terms of basal serum hormone levels. While evaluating intrauterine insemination cycles, stimulation time (day), total gonadotropin dose (IU/day) and triggering day endometrial thickness (mm) criteria were evaluated. There was no difference between the groups in terms of these criteria. There was no difference in sperm parameters between the groups. Both biochemical pregnancy and clinical pregnancy rates were %13.2 in Group I and %27.8 in Group II, but there was no

statistical difference between the groups ($p = .11$). Dichorionic diamniotic multiple pregnancy was detected clinically in 2 cases in Group I ($p = .16$). Group II had no multiple pregnancies. No cases of OHSS were present in both groups.

DISCUSSION: There were no differences between the groups in terms of clinical and biochemical pregnancy outcomes ($p = .11$). In Group II, multiple pregnancies were not present. Multiple pregnancies (dichorionic diamniotic twin pregnancy) were detected in two patients in group I ($p = .16$). When the follow-up forms of the cases with multiple pregnancies were examined, it was determined that there were two follicles that were 16 mm or more in diameter on the trigger day. Cases of OHSS were not present in both groups. Concerning clinical pregnancies and outcomes of OHSS, more prospective randomized studies with larger number of cases are needed.

KEYWORDS: Intrauterine insemination, OHSS, triggering GnRH agonist

1. GİRİŞ

İnfertilite, 35 yaşın altındaki kadınlarda kontrasepsiyon olmaksızın on iki aylık düzenli ilişki sonrasında gebe kalmanın yetersizliği olarak tanımlanmaktadır. 35 yaşın üzerindeki kadınlarda ise bu süre altı ay olarak kabul edilmektedir¹.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından yapılan çalışmalara göre, dünyada 60-80 milyon ve yardımcı üreme tekniklerinin uygulanmasıyla birlikte başarılı tedavi olanaklarının artması, yardımcı üreme tekniklerindeki gelişmelere toplumun duyarlılığının ve ilgisinin artması ve arttırılması, toplumun demografik yapısındaki değişim (kadınlar arasında eğitim düzeyi ve kariyer eğiliminin artışı, doğum kontrolü ve aile planlaması konusundaki gelişmeler, artmış evlilik yaşı ve artmış boşanma oranı, azalmış aile sayısı ile birlikte çocuk doğurma yaşının giderek artması) infertilitenin ciddi bir üreme sağlığı sorunu olarak kabul edilmeye başlanmasına neden olmuştur.

İlerleyen yaş ile birlikte elde edilen oosit ve embriyo sayısı azalmakta, embriyo fragmantasyon oranı artmakta ve implantasyon oranı azalmaktadır^{2,3}. 25-29 yaş aralığında fertilite %4-8, 30-34 yaş aralığında fertilite %15-19, 35-39 yaş aralığında fertilite %26-46, 40-45 yaş aralığında fertilite %95 oranında azalmaktadır^{2,3}.

12 ay sonunda korunmasız cinsel ilişkisi olan çiftlerdeki primer infertilite oranını araştıran bir çalışmada ise olgular 15-34 yaş, 35-39 yaş, 39-44 yaş olarak gruplandırılmış, infertilite oranları sırasıyla %9, %25, %30 olarak saptanmıştır⁴.

İleri yaş kadınlarda over rezervinde azalmayla birlikte, cinsel ilişki ve cinsel istek sıklığının azalması ve fertiliteyi etkileyen pelvik enfeksiyon, myoma uteri, endometriozis gibi hastalıkların görülme sıklığının yaşla birlikte artması da kadın fertilitesinde azalmaya yol açmaktadır³.

Canlı doğum oranlarında yaşa bağlı azalma, azalmış fertilite ile birlikte artmış gebelik kayıplarıyla da ilişkilidir. Artan yaş ile birlikte fertilite azalırken, klinik olarak fark edilen gebelik kaybı oranı artmaktadır. Spontan gebelik kaybı oranları doğal siklularda 30-39 yaş arasında %17-21, 40 yaş ve üzerinde %30-40 olduğu çalışmalarda saptanmıştır. Benzer sonuçlar yardımcı üreme teknikleri sonrası oluşan gebeliklerde de izlenmektedir. İn vitro fertilizasyon sonrası oluşan gebeliklerde, 35 yaş öncesinde spontan abortus oranı <%20, 35-

40 yaş arasındaki olgularda spontan abortus oranı %30, 40 yaşından büyük olgularda spontan abortus oranının >%60 olduğu bildirilmiştir⁵⁻⁷.

Yaklaşık 200 yıldır suni inseminasyon yöntemi infertil çiftlerin tedavisinde kullanılmaktadır. İntrauterin inseminasyon (İÜİ); invaziv olmayan, ucuz ve poliklinik şartlarında yapılan bir yöntemdir. İntrauterin inseminasyon, ovulasyon zamanında, düşük volümde, konsantre spermlerin intrauterin kaviteye yerleştirilmesini içerir. Daha fazla spermatozoanın serviksi bypass ederek oosite ulaşması amaçlanmaktadır. Gonadotropin ile kombine İÜİ tedavisinin, tek başına gonadotropin kullanımına göre daha iyi gebelik sonuçları olduğu bildirilmiştir^{8,9,10}. Gonadotropin ile kombine İÜİ tedavisi alan olgularla, klomifen sitrat (CC) kombine İÜİ tedavisi alan olguların gebelik sonuçları karşılaştırıldığında, gonadotropin ile kombine İÜİ olgu grubunun yaklaşık iki kat kadar üstünlüğünün olduğu saptanmıştır¹¹. Bu nedenle gonadotropin ile kombine İÜİ tedavisi yaygın bir pratik halinde infertilite tedavisinde kullanılmaktadır¹².

İnfertil çiftlerin tedavisinde ovulasyon indüksiyonuna ek olarak intrauterin inseminasyon (İÜİ), polikistik over sendromu (PKOS) gibi kronik anovulatuvar olgular, servikal faktörün fertilitiyi olumsuzlaştırdığı durumlar, hafif pelvik adezyon, immünolojik faktörler, vajinismus, endometriozis, luteal faz defekti gibi kadın infertilitesi nedenlerine ek olarak, ejakulasyon bozukluğu ya da ılımlı erkek faktör varlığı ile açıklanamayan infertilite olgularında öncelikli tercih edilen bir yöntem olmaktadır¹³.

Doğal siklusta foliküler faz boyunca gelişmekte olan dominant folikül kaynaklı preovulatuvar yüksek östrojenin pozitif feedback etkisi ile luteinizan hormon (LH) piki meydana gelmektedir. LH artışının başlamasından 24-36 saat sonra ya da LH'nin en tepe yaptığı noktadan 10-12 saat sonra folikül duvarı çatlar ve ovulasyon meydana gelmektedir. Yüksek LH düzeyi oosit maturasyonu ve ovulasyonun gerçekleşmesi için anahtar unsur olmaktadır.

Luteinizan hormon (LH) ve insan koryonik hormonunun (hCG) beta (β) alt üniteleri, % 80 oranında benzerlik göstermektedir. hCG'nin β alt ünitesi, karbon uçlarının üzerinde ek bir 24 aminoasit uzantısı içerir. hCG, LH reseptörlerine bağlanıp, bu reseptörleri aktive etmesi nedeniyle, kontrollü ovaryan stimülasyonda endojen LH yerine, oosit matürasyonunu sağlamak ve ovulasyonu tetiklemek amaçlı kullanılmaktadır¹⁴.

Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH), hipotalamik nöronlar tarafından prekürsör polipeptidler halinde salınan dekaeptid yapıda bir hormondur. GnRH, hipofiz gonadotroplarını pulsatil şekilde uyarmaktadır. Bu pulsatil atım frekansları foliküler ve luteal fazlarda değişkenlik göstererek LH ve serum açlık bazal folikül stimüle edici hormon (FSH) salınım oranlarını düzenlemektedir. İlk uygulandığında bir alevlendirici (flare-up) etkisi mevcuttur ve bu dönemde dolaşımda artmış FSH ve LH seviyeleri tespit edilmektedir. Bu fizyolojik etkisi nedeniyle GnRH analogları ovulasyonu tetikleme amacı ile kullanılabilmektedir¹⁵.

Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) analogu ile ovulasyon tetiklendiğinde, FSH piki doğal sıklusa uygun olarak taklit edilmektedir. FSH, ovulasyon için granüloza hücrelerindeki LH reseptör sayısını ve oosit nükleusunun matürasyonunu arttırmaktadır. Aynı zamanda, endojen LH yükselişini sağlayarak oosit nükleusunun matürasyonuna katkıda bulunmaktadır. Ovulasyonu tetiklemede hCG ile birlikte GnRH analog uygulamasının, standart hCG ile karşılaştırıldığı çok sayıda in vitro fertilizasyon (IVF) çalışması mevcuttur ve tek başına hCG kullanımına göre artmış klinik gebelik oranları ile birlikte olduğu belirtilmiştir¹⁵⁻¹⁸. Literatürde gonadotropin ile kombine intrauterin inseminasyon sikluslarında hCG/GnRH agonist ile birlikte ovulasyon tetiklemesinin etkisini değerlendiren iyi kurgulanmış herhangi bir randomize kontrollü çalışma mevcut değildir.

Çalışmamızın amacı, gonadotropin ile kombine intrauterin inseminasyon sikluslarında ovulasyonu tetiklemede hCG ile birlikte GnRH analogu uygulamasının, standart hCG uygulanması ile klinik gebelik sonuçlarını retrospektif olarak karşılaştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tanım

35 yaş altı kadınlarda 12 aylık korunmasız cinsel ilişki sonrası, 35 yaş üzerindeki kadınlarda 6 aylık korunmasız cinsel ilişki sonrası gebe kalmayı başaramayan çiftler için infertilite değerlendirmesinin yapılması gerekmektedir^{19,20}. Değerlendirmenin zamanlaması, kadın faktörün yaşına ve çiftin risk faktörlerine bağlıdır. Kadınlar özellikle 30 yaşından sonra doğurganlıkta bir düşüş yaşamaktadırlar²¹. 30'lu yaşların ortasında infertil bir kadının değerlendirilmesini ve tedavisini önemli ölçüde geciktirmek başarı oranını azaltabilir.

Daha önce hiç gebelik oluşmaması durumu primer infertilite, canlı doğumla sonuçlansın ya da sonuçlanmasına bakılmaksızın en az bir gebelik oluşması hali sekonder infertilite olarak tanımlanmaktadır²².

Fekundabilite; bir menstürasyon siklus süresince gebelik elde etme olasılığı (sağlıklı çiftler için oran;%25), fekundite; bir menstrüel siklusta canlı doğum elde etme olasılığı olarak tanımlanmaktadır²².

Korunmasız cinsel ilişkiye sahip 18-44 yaş aralığında 867 çiftten oluşan rastgele örneklem çalışmasında, 6, 12, 24. aylarda gebelik oranları sırasıyla %54, %76, %89 olarak bildirilmiştir²³.

Sağlıklı 5574 çift ile yapılan bir çalışmada çiftlerin %85'inde 12. ay sonunda gebelik oranı %85 olarak saptanmıştır²⁴. 346 çiftin dahil edildiği prospektif bir çalışmada, 1, 3, 6 ve 12 aylık kümülatif gebelik oranları sırasıyla %38, %68, %81, %92 olduğu gösterilmiştir²⁵. Bu çalışmalar, sağlıklı çiftlerin büyük çoğunluğunun bir yıl sonunda kontrasepsiyon olmaksızın gebelik elde edebileceğini göstermektedir. Çalışmalar göstermiştir ki birinci yılın sonunda gebelik elde edemeyen çiftlerin %5-15'i ikinci yılın sonunda gebelik eldesini sağlayabilmişlerdir^{5,23,26}.

Kadın partnerde ovaryan yetmezliğe ait risk faktörleri (geçirilmiş over cerrahisi, sitotoksik ilaçlara maruz kalma, pelvik radyasyon öyküsü, otoimmün hastalık, sigara kullanımı, prematür ovaryan yetmezliğe ait güçlü aile öyküsünün olması), ileri evre endometriozis, şüpheli uterus ve/veya tuba kaynaklı patolojinin varlığı, abdominal ya da pelvik cerrahi öyküsü durumlarında derhal değerlendirme başlatılmalıdır²⁷.

Tedavi gerektiren testis travması öyküsü, yetişkin çağda kabakulak geçirme öyküsü, kemoterapi ve/veya radyasyon tedavisi öyküsü, varikosel varlığı, kistik fibrozis ile ilgili aile öyküsü ya da bulgusu, geçirilmiş vazektomi veya vazovazostomi öyküsü, genitoüriner sisteme ait enfeksiyon öyküsü ya da klinik bulgusu, özellikle androjen eksikliği ya da direncine yol açan ilaçlar, ejakülasyon yokluğu ya da azlığı, otonomik nöropati, retroperitoneal ya da abdominopelvik cerrahi öyküsü, erektil disfonksiyon, spinal kord hasarı gibi durumlarda erkek faktör ivedilikle değerlendirme altına alınmalıdır²⁸.

Amerikan Kadın Hastalıkları ve Doğum Derneği (ACOG) ve Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (ASRM) bu nedenlerden dolayı, 35-40 yaş arası kadınlarda, 6 aylık korunmasız cinsel ilişki periyodundan sonra ve 40 yaşın üstündeki kadınlarda ise altı aydan daha kısa zaman diliminde infertilite tedavisinin değerlendirmesine başlamayı önermektedir^{29,30}.

İdeal vücut kitle indeksine (VKİ) ulaşmak, sigarayı bırakmak, kafein ve alkol tüketimini sınırlandırmak gibi doğurganlığı artırabilecek yaşam tarzı faktörlerinde değişikliklerin kadın ve erkek tarafından uygulanması ACOG ve ASRM gibi uluslararası kuruluşların kılavuzlarında önerilmektedir²⁷.

2.2. İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi

İnfertilite değerlendirmesi kadın ve erkek ile birlikte eş zamanlı yapılmalıdır. İnfertilite, kadın ve/veya erkeğe ait nedenlerle ortaya çıkabileceği gibi, erkek ya da kadına ait herhangi bir neden bulunmaması halinde açıklanamayan infertilite olarak da karşımıza çıkabilmektedir. Çiftlerin değerlendirmesine anamnez ve fizik muayene ile başlanmalıdır.

2.2.1. Kadın İnfertilitesinde Değerlendirme

Öykü:

- ✓ Gravide, parite, gebelik sonuçları ve ilişkili komplikasyonlar
- ✓ Siklus uzunluğu ve özellikleri, dismenore varlığı ve şiddeti
- ✓ Cinsel ilişki sıklığı ve seksüel disfonksiyon
- ✓ İnfertilite süresi ve daha önceki değerlendirme ve tedavi sonuçları
- ✓ Daha önce yapılan cerrahi endikasyonları ve sonuçları
- ✓ Mevcut tıbbi hastalıkları

- ✓ Pelvik inflamatuvar veya cinsel yolla bulaşıcı hastalıklar
- ✓ Önceki anormal smear sonuçları, uygulanmışsa tedavileri
- ✓ Kullandığı ilaçlar ve alerji
- ✓ Sigara, alkol veya madde kullanımları
- ✓ Doğumsal anomaliler, zeka geriliği, erken menapoz veya infertilite açısından aile hikayesi
- ✓ Tiroid hastalık semptomları, pelvik veya abdominal ağrı, galaktore, hirsutismus ve disparoni

Fizik muayene:

- ✓ Kilo, boy ve vücut kitle indeksi
- ✓ Tiroid muayenesi
- ✓ Memede sekresyon ve özellikleri
- ✓ Artmış androjen bulguları
- ✓ Pelvik veya abdominal hassasiyet, organomegali veya kitle
- ✓ Vajinal veya servikal anormallik, sekresyonlar veya akıntı
- ✓ Adneksler veya cul-de-sac'da kitle, hassasiyet veya nodülarite

Düzensiz adet görme öyküsü, ovulatuvar bozukluğu düşündürmektedir. Servikal neoplazi için daha önce uygulanan tedavi, mukopürülan akıntı veya servikal stenoz varlığı servikal patoloji konusunda bilgi verecektir. Histeroskopik, rekonstrüktif uterin cerrahi veya artan menoreji şikayetleri uterin kavite anomalliklerini şüphe ettirecektir. Şiddetli dismenore, disparoni, fokal hassasiyet veya cul-de-sac nodülaritesi endometriozi düşündüreceklerdir. Pelvik enfeksiyon, septik abortus, rüptüre apandisit, ektopik gebelik, abdominal myomektomi veya adneksial cerrahi öyküsü tubal veya peritoneal hastalık olabileceğinin göstergesidir.

Daha önce bilinmiyorsa kan grubu, Rh antikor taraması yapılmalıdır. Kistik fibrozis açısından her ihtimal düşünülerek sorgulama yapılmalıdır. Ülkemiz için talasemi önemlidir; rutin olarak her bölgede evlilik öncesi tarama yapılmamaktadır. Talasemi açısından riski yüksek bölgelerde tarama uygulanmaktadır.

Gebelik planlayıp daha önce rubella enfeksiyonu geçirmemiş veya aşısı uygulanmamış kadınlar immünite açısından incelenmeli ve seronegatif olması halinde aşı uygulanmalıdır. Aşı sonrası 3 ay gebelik planlamaları konusunda çiftler bilgilendirilmelidir.

Gebelik öncesinde sifiliz, hepatit B (HBV), klamidyâ için tarama yapılmalıdır. Cinsel yolla bulaşan hastalıklar için tarama, enfeksiyon açısından yüksek riskli kadınlara önerilmelidir. Yüksek riskli kadınlar için gonore, hepatit C (HCV) ve insan immün yetmezlik virüsü tip 1 (HIV-1) taranmalıdır.

2.2.2. Erkek İnfertilitesinde Değerlendirme

Öykü:

- ✓ İnfertilite süresi ve önceki babalık hikayesi
- ✓ Koit sıklığı ve seksüel disfonksiyon
- ✓ Daha önceki infertilite tedavileri
- ✓ Çocukluk hastalıkları ve gelişim öyküsü
- ✓ Daha önceki cerrahi endikasyonları ve sonuçları
- ✓ Sistemik hastalık öyküsü
- ✓ Çevresel toksinler ve maruziyeti
- ✓ Kullandığı ilaçlar ve alerji
- ✓ Meslek, sigara, alkol ve ilaç bağımlılığı

Fizik muayene

- ✓ Vücut duruşu, tüy dağılımı ve meme gelişimi gibi sekonder seks karakterlerinin tespiti

Ürolojik muayene muayene:

- ✓ Penis muayenesinin ve üretra açıklığının değerlendirmesi
- ✓ Testis palpasyonu ve testisin büyüklüğünün ölçümü
- ✓ Vasa ve epididimisin varlığı, sertliği
- ✓ Rektal muayene

Kriptorşidizm veya kabakulak orşiti hikayesi testiküler atrofi olasılığını akla getirmelidir. Sekonder seks karakterlerinin gelişim zamanı ve şekli klinik endokrinopati düşündürmektedir. Duktus obstürüksiyonu cinsel yolla bulaşıcı hastalıklar nedeniyle olabilir. Diabetes mellitus ve kistik fibrozis fertilitiyi azaltan hastalıklardır. İnguinal herni operasyonu, renal transplantasyon, skrotal cerrahi testislerde tramva riski oluşturmaktadır. Geçirilmiş retroperitoneal cerrahiler, nöral yolların zedelenmesine ve ejakülatuar disfonksiyona neden

olmaktadır. Tiroid hastalıkları, hiperprolaktinemi, sekonder seks karakterlerinin yokluğu, Klenifelter sendromu da araştırılmalıdır.

İnsan immün yetmezlik virüsü tip 1 ve 2, sifiliz, hepatit B ve C, sitomegalovirüs (CMV) antikor, insan lenfotropik virüs (HTLV) tip 1 ve 2, klinisyenin uygun görüşüne göre klamidy ve gonore taranmalıdır.

2.3. İnfertilite Nedenleri

Fertilizasyon ve takibinde spontan gebeliğin gerçekleşmesi için bir takım faktörlerin bir arada ve kusursuz çalışması gerekmektedir. Sperm, servikse ya da yakınına bırakılmalı, serviks spermi tutabilmeli, oradan uterus içine girebilmeli, tubalarda ilerleyebilmeli ve oositi fertilize edebilecek kapasitede olmalı, matür oosit ovule olabilmeli, fallop tüpleri ovumu yakalayabilmeli ve uterus içine ve tubalara iletebilmeli, uterus sperm ve embriyoları efektif olarak taşıyabilmeli, implantasyona, fetusun gelişimine ve büyümesine uygun olmalıdır.

İnfertilite nedenleri şu şekilde sınıflandırılabilir³¹:

- Kadına ait nedenler (% 40-55)
- Erkeğe ait nedenler (%30-40)
- Açıklanamayan infertilite (%10-15)

2.3.1. Kadın İnfertilitesinin Nedenleri:

İnfertil bir çiftte yaklaşımda, kadın faktörünün değerlendirilmesi tanı ve tedavide önemli bir unsurdur. İnfertilite nedeni her ne olursa olsun gebelik, kadının anatomi ve fizyolojisi ile yakından ilişkilidir.

Kadın infertilitesinin etyolojisi ve dağılımı şu şekildedir³¹:

- ✓ Ovulatuvar disfonksiyon (%40)
- ✓ Tubal ve peritoneal patolojiler (%40)
- ✓ Uterin ve servikal patolojiler (%10)
- ✓ Açıklanamayan infertilite (%10)

2.3.1.1. Ovulasyon Testleri ve Disfonksiyonu

Ovulasyonun değerlendirilmesi, hem çiftlerin ilişki zamanlamasını kolaylaştırması hem de hastanın yardımcı üreme tekniklerine yönlendirilmesi açısından önemlidir. Kadın infertilitesinin sık nedenlerinden biri olan ovulasyon bozuklukları infertil çiftlerde %15, infertil kadınlarda %40 oranında görülmektedir. Ovulasyonun tespiti için bazı göstergeler ve testler kullanılmaktadır. Düzenli menstrüel siklusları olan, meme hassasiyeti ya da dismenore gibi siklik semptomları olan hastaların tipik olarak ovulatuar oldukları düşünülmektedir.

a) Menstrüel öykü:

Tek başına menstrüel öykü anovulasyon hakkında bilgi verebilmektedir. Ovulatuar kadınlarda menstrüasyon genellikle düzenli, miktar ve süre açısından sabit ve tipik olarak premenstrüel veya menstrüel semptomlarla birlikte. Anovulatuar kadınlarda ise sikluslar düzensiz paternde olmaktadır.

b) Bazal vücut ısısı:

Progesteronun (P) termojenik etkisi sonucu, vücut ısısında 0,2-0,3°C artış izlenmektedir. Bu bifazik patern hemen hemen her zaman ovulasyonla ilişkilidir. Yataktan kalkmadan hemen önce sabah bazal vücut ısısı ovulasyondan önce 36,5°C'dan az, luteal fazda bazal vücut ısısı 36,5°C'nin üzerinde olup, bu ölçümler 10 gün sürmektedir.

c) Serum progesteron konsantrasyonu:

Foliküler fazda 1 ng/ml'nin altında düzeyleri olan serum progesteron konsantrasyonu, LH artışının olduğu gün artmaya başlamakta ve ovulasyondan 7-8 gün sonra en yüksek düzeye ulaşmakta, menstrüasyon öncesi günlerde düşüş göstermektedir. Genel olarak 3 ng/ml'nin üzerindeki düzeyler ovulasyonun gerçekleştiğinin objektif kanıtıdır. Serum progesteron ölçümü, basit, gerçekçi, minimal invaziv, kullanılabilir ve az maliyetli bir yöntem. Serum progesteron ölçümü için en uygun zaman siklus uzunluğuna göre ayarlanmalıdır. Bu zaman beklenen menstrüasyondan yaklaşık bir hafta önce olmaktadır. Progesteronun pulsatil karakterinden dolayı, siklusun 20-24. günleri arasında üç serum progesteron ölçümünün en az birinin 5 nmol/L veya üstünde olması ovulasyonun gerçekleşmiş olduğunun kanıtıdır³².

Ovulasyon sonrası 5. ve 9. günler arası, ayrı zamanlarda 3 kez bakılan serum progesteron değerlerinin toplamının 30 nmol/L'nin üzerinde olmasının ovulasyonun gerçekleştiğini gösterdiğini düşünen ve bu ölçüm tekniğinin kullanılması gerektiğini önerenler vardır³³. Transvajinal ultrason ile saptanan dominant folikülün varlığı ve ultrasonografik olarak ovulasyonun tespiti, ovulasyonun olduğunu göstermektedir. Çalışmalar, luteal fonksiyonu değerlendirmede, serum progesteron düzeylerinin değerinin az olduğunu ortaya koymaktadır³⁴.

d) Üriner LH salınımı:

Genel olarak ovulasyon belirleyici kitler veya LH kitleri olarak bilinen ürünler, idrarda siklus ortası LH artışını tespit etmektedir. Siklus ortası LH artışı tipik olarak 48-50 saat sürmektedir. LH'nın yarı ömrü kısadır ve idrardan hızla temizlenmektedir. İdrar LH seviyesi kritik düzeyi geçtiği zaman ovulasyon belirleyici kitler pozitif olmaktadır. Çoğu siklusta, tek bir günde alınan veya ardarda iki günde yapılan testler pozitif çıkmaktadır. LH artışını doğru olarak saptamak için test, beklenen artıştan 2-3 gün önce başlamak üzere tüm siklus boyunca günlük olarak yapılmalıdır. İlk pozitif test yeterli bilgiyi sağlayacaktır. Genellikle ovulasyon, idrar LH atılımından sonra 48 saat içinde olmaktadır^{35,36}. İlk pozitif testin olduğu günden sonraki gün genellikle en uygun ilişki veya inseminasyon günü olmalıdır³⁷. Siklus ortası LH artışının doğru tanımlanması, luteal ve foliküler faz süresini belirleme ve tedavi edilebilir anormalliklerin saptanmasında yardımcı olacaktır. İdrar LH atılımının takibi, ovulatuar fakat düzensiz cinsel ilişkisi olan veya artifisyonel inseminasyon gerekecek kadınlarda yapılmalıdır.

e) Endometrial biyopsi ve luteal faz yetersizliği:

Ovulasyon testlerinden bir diğeri, progesteronun histolojik değişimlerini gösteren endometrial biyopsidir. Foliküler faz boyunca endometrium, dominant ovaryan folikülden salgılanan östrojenle ilişkili olarak proliferatif patern göstermektedir. Luteal fazda ise korpus luteumdan salgılanan progesteron etkisi ile sekretuar transformasyon olacaktır. Anovulatuar kadınlar devamlı foliküler fazdadır, endometriumları sürekli proliferasyon göstermektedir. Artmış östrojen uyarısı ile birlikte hiperplastik duruma geçmektedir. Ekzojen progesteron veya sentetik progestinlerle tedavi edilmediği zaman, hiperplazi artarak devam edecektir.

Endometrial biyopsi, poliklinik şartlarında uygulanabilen, basit, plastik aspirasyon pipetler ile

yapılan ve komplikasyonların az olduğu bir yöntemdir. Ancak, invaziv ve maliyetli bir testtir. Uzun süre kronik anovulasyonu olan kadınlarda biyopsi, spesifik tedavi gerektirecek endometrial hiperplazilerin tanısında veya şüphelerin ekarte edilmesine yardımcı olacaktır. Kronik endometrit olacağı düşünölen kadınlarda biyopsi, tanı koymak için faydalı olmaktadır. Histoloji; luteal faz uzunluğu, korpus luteum kapasitesi ve hedef organ yanıtının tespiti hakkında bilgi vermektedir.

Geç luteal fazda yapılan endometrial biyopsinin yararlılığını değerdendiren 1055 hastada yapılan, toplam 1492 ardışık biyopsi örneklerini kapsayan çalışmada; gebelik sonucunun endometrial paternler ve luteal faz yetmezliğinin tedavisi ile ilişkisi incelenmiştir. Öncelikle hem infertil hem de fertil kadınlarda luteal faz yetmezliği tanısının, sadece bir şans olayını temsil ettiği gösterilmiş, dahası; histopatolojik olarak tanısı koyulan endometrial yeterliliğın, infertil hastaların gebelik sonuçlarıyla ilişkisinin olmadığı saptanmıştır. Endometriumun histolojik tanısı ile luteal faz değerdendirmesinin yararının olmadığı sonucu elde edilmiştir³⁸.

f) Over rezervinin değerdendirilmesi:

Yaş, over rezervini belirleyici en önemli parametredir. Yaşla birlikte fertilité azalmasında over rezervinin kalitatif ve kantitatif olarak bozulması önemlidir. Özellikle 35 yaş sonrasında fertilitédeki azalma oldukça hızlanmaktadır.

ASRM klavuzuna göre over rezervine kesinlikle bakılması gerek olgular³⁹:

- 1) 35 yaş üzeri kadınlar
- 2) Ailede erken menapoz öyküsü olan olgular
- 3) Geçirilmiş over cerrahisi öyküsü olan olgular
- 4) Kemoterapi ve/veya radyoterapi öyküsü olan olgular
- 5) Yaştan bağımsız olarak açıklanamayan infertil olgular
- 6) Ekzojen gonadotropin tedavisine yanıtı kötü olgular
- 7) Yardımcı üreme tekniği ile tedavisi planlanan olgular

Over rezervini dolaylı olarak tespit etmek için bir takım testler tanımlanmıştır. Bu testler aşağıda sıralanmıştır.

i) Bazal serum açlık bazal FSH konsantrasyonu

Yaşla birlikte fertilitenin azalması ve artan FSH düzeylerinin kadınlarda reproduktif yaşlanmanın erken belirtisinin olması, FSH konsantrasyonlarının prognostik değerini ortaya koymaktadır.

Erken foliküler fazda serum açlık bazal FSH konsantrasyonu ölçümü, en kolay ve en sık uygulanan bir testtir. Serum açlık bazal FSH ve eş zamanlı bakılan serum bazal östradiol (E2) konsantrasyonları, düşük over rezervini tespit etmede önemlidir. Tek başına bazal E2 ölçümü önerilmemektedir. Serum açlık bazal FSH >10-20 uluslararası ünite birimi (IU)/L olması kötü ovaryan yanıt ve konsepsiyon başarısızlığı ile birliktedir. Serum açlık bazal FSH değeri normal sınırdadır ancak eş zamanlı bakılan E2 >60-80 pg/ml olan olgularda kötü over yanıtı olduğu saptanmıştır²⁷.

ii) Klomifen sitrat challenge testi

Klomifen sitrat, non-steroid trifeniletillen derivativesi olup, östrojen agonist ve antagonist etkisi olan selektif östrojen reseptörü modülatörü sınıfından bir ilaçtır. Yarılanma ömrü 5 gündür. Hipotalamik östrojen reseptörlerine bağlanarak hipoöstrojenik durum yaratır ve böylelikle FSH ve LH salgılanmasını artırır. Klomifen sitratın ovulasyonu gerçekleştirebilmesi için hipotalamus-pituiter-ovaryan aksın intakt olması gerekir. Ayrıca pitüiter bez, over, serviks ve endometrium üzerinde de etkileri mevcuttur. Klomifen sitrat, hipoöstrojenik kadınlarda endometrial atrofiye yol açarak implantasyonu olumsuz etkilemekte ve östrojenin oluşturduğu servikal mukusun miktarını ve kalitesini düşürmektedir⁴⁰.

Over rezervinin değerlendirilmesinde kullanılan klomifen sitrat challenge testi (CCCT), menstrüasyonunun 5-9. Günleri arasında 100 mg/gün/peroral klomifen sitrat verilerek, 3. ve 10. gün serum açlık bazal FSH değerlerinin ölçülmesi, bu iki değer toplamının alınmasından oluşmaktadır. Toplam değerin 26 IU/L'nin üzerinde olması durumunda azalmış over rezervi açısından uyarıcıdır. Yapılan bir çalışmada CCCT ile sadece bir kez bakılan ve daha az maliyetli olan serum açlık bazal FSH değerlerinin over rezervini saptamadaki başarısının benzer olduğunu ortaya koymuşlardır⁴¹. Bazal antral folikül sayısı (AFC) ve serum

antimüllerian hormon (AMH) ölçümlerinin over rezervini belirleyici gücünün yüksek olması nedeni ile CCCT günümüzde tercih edilmemektedir.

iii) Antral folikül sayısı

Bazal antral folikül sayısı (AFC), erken foliküler fazda transvajinal ultrason değerlendirmesinde overlerdeki 2-10 mm'lik folikülleri tanımlamaktadır. AFC <3-5 ise azalmış over rezervini göstermekte ancak gebelik başarısını predikte etmemektedir. PKOS'lu olgularda AFC'nin 12 ve üzeri olduğu, aşırı over stimülasyon yanıtını ve ovaryan hiperstimülasyon sendromunu (OHSS) predikte ettiği çalışmalarda gösterilmiştir²⁷.

iv) Serum antimüllerian hormon (AMH)

Serum antimüllerian hormon düzeyi, foliküllerin granüloza hücrelerinden gonadotropinden bağımsız olarak salınmaktadır. Menstrüel siklus gününden bağımsız değere sahiptir. Düşük AMH seviyeleri (<1 ng/ml) azalmış over rezervini ve yanıtını ifade etmektedir. PKOS'lu hastalar normal popülasyonun üzerinde değerlere (AMH >3,5 ng/ml) sahiptirler⁴². Bu nedenle PKOS'lu olgular aşırı over stimülasyon yanıtı ve artmış OHSS riski taşımaktadırlar²⁷.

2.3.1.2. Tubal ve Peritoneal Patolojiler

Pelvik inflamatuvar hastalık (PİH) ve cinsel yolla bulaşan hastalık (CYBH) öyküsü, septik abortus, rüptüre apandisit, tubal cerrahi veya ektopik gebelik tubal hasar olasılığını akla getirmelidir. Şüphesiz pelvik inflamatuvar hastalık infertilitede tubal faktör ve ektopik gebeliğin en sık nedenidir. Laparaskopi ile PİH tanısı koyulan olgularda yapılan çalışmada bir, iki ve üç kez PİH episodundan sonra infertilite görülme oranları sırasıyla; %10, %25, %75 olarak bildirilmiştir⁴³.

Tubal faktörde mekanizma; sperm ve ovumun transportuna engel olan anatomik anormalliklerdir. Proksimal patolojilerde sperm, fertilize olacağı tubal bölgeye geçemeyecek, distal patolojilerde ise overden ovum tutulumu olamayacaktır. Proksimal tıkanıklıkta genellikle ya hep ya hiç fenomeni varken, distal tıkanıklıkta hafif (fimbrial aglütinasyon), orta (değişik derecelerde fimbrial fimozis), ağır (tam tıkanıklık) olabilmektedir.

Proksimal tubal hasarı olanlarda IVF diğer seçeneklere göre daha uygun olacaktır^{44,45}. Distal tubal hastalıklarda hasar hafif ise, cerrahi sonrası gebelik oranları %40-50 oranında artabileceği için operasyon denenebilmektedir. Ancak şiddetli distal tubal hasarı olan hastalarda en uygun

tedavi seçimi, IVF olmaktadır. IVF başarısı bu grupta cerrahinin başarısına göre daha yüksektir. Cerrahiye geçirmesine rağmen, iki yıl içinde gebe kalamayan ileri yaş grubundaki hastalar ise direkt olarak IVF'e yönlendirilmelidirler. Bu hastalarda spontan gebelik oluşması durumunda, ektopik gebelik riskinin %20 oranında arttığı gösterilmiştir⁴⁶. Hidrosalpinkteki inflamatuvar sıvının endometrium ve embriyo üzerindeki toksik etkisi nedeniyle gebelik oranları %50 azalmakta, spontan gebelik halinde abortus oranları artmaktadır. IVF'e yönlendirilen hidrosalpinksi olan olgularda cerrahi yapılması daha uygun olacaktır⁴⁷.

Tubal yeterlilik temel olarak histerosalpingografi (HSG) ve laparaskopi ile değerlendirilmektedir. Uterin kavite ve tubal lümen HSG ile değerlendirilebilirken, laparaskopide bu söz konusu değildir. Laparaskopinin avantajı ise adezyon, endometriozis ve ovaryan patolojileri de içeren pelvik anatomi hakkında bilgi sahibi edinmektir.

Histerosalpingografi (HSG), poliklinik şartlarında uygulanabilen, ucuz ve tedavi etkinliği olabilen bir yöntem iken, aynı zamanda ağrılı, radyasyon maruziyetine neden olan ve fertilitiyi etkileyebilen enfeksiyon komplikasyonu riski taşıyan bir yöntemdir. İntrakaviter lezyonlar ve tubal geçirgenliğin tespiti amacı ile yapılan HSG işlemi menstrüel siklusun erken foliküler fazında yapılmalıdır. Su bazlı ya da yağ bazlı kontrast madde kullanılarak foliküler fazın hemen ardından çekilen HSG'de tubalardan geçen kontrast maddenin peritoneal dağılımı mutlaka izlenmelidir. Bilateral tubal tıkanıklık varlığında mutlaka uterotubal spazm ekarte edilmelidir.

Histerosalpingografiden (HSG) sonraki ilk altı ayda işlemin fertilitiyi artırıcı etkisinin belirgin olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde, açıklanamayan infertil çiftlerin değerlendirmesinde, HSG işleminden bir ay sonra idame edilen gonadotropin stimüle İÜİ sikluslarının, gebelik oranlarını arttırdığı saptanmıştır. Açıklanamayan infertil olgularda, HSG'den sonraki ilk ayda gonadotropin stimüle İÜİ tedavisi planlanan grubun gebelik oranı, ilk aydan sonra siklus planlanan olguların gebelik oranının 3.6 katı olduğu gösterilmiştir⁴⁸.

Laparaskopiyle karşılaştırıldığında infertil popülasyonda tubal yeterliliği göstermede HSG'nin sensitivitesi orta düzeyde fakat spesifitesi yüksektir⁴⁹. Klinik kullanımda, HSG'de tıkanıklık izleniyorsa gerçekte yaklaşık %60 oranında tubaların açık olma ihtimali vardır, fakat HSG'de açıklık saptandığında gerçekte %5 oranında tubaların kapalı olma ihtimali mevcuttur⁵⁰.

Laparaskopi ise daha invaziv, anestezi gerektiren, histeroskopi birlikteliğinde yapılmadığı zaman uterin kavite hakkında bilgi sahibi olamayacağımız, barsak ve büyük damarların

zedelenmesi gibi hayati komplikasyonu taşıyan bir yöntemdir. Laparaskopi, pelvik adezyonlar ve endometriozisin tanısı ve tedavisindeki öneminin yanında, işlem esnasında yapılan pelvik gözlemlerle, transservikal olarak verilen metilen mavisi ile tubal geçirgenliğin değerlendirilmesi açısından da kıymetlidir⁵¹.

İntrauterin patolojilerin tanısında sonohisterografinin sensitivitesi HSG'den daha iyidir⁵². HSG'deki gibi tubal yeterlilik bu işlem sırasında da değerlendirilebilir. Ultrasonografideki teknolojik ilerlemeler sonohisterografinin kullanımını arttırmış, üç boyutlu transvajinal ultrason ve doppler teknikleri ile hangi tuba ve/veya tubalardan sıvı hareketi olduğu izlenebilmektedir.

Klamidya antikor testi, tubal faktörü değerlendiren indirekt, ucuz ve minimal invaziv bir yöntemdir. Rutin olarak kullanılmamakla birlikte, tubal hastalık riskinin yüksek olduğu düşünülen hastalarda bir seçenek olmaktadır.

Endometriozisin oosit gelişimini ve embriogenezi engellediği bilinmektedir. Evre 1 ve Evre 2 endometriozisi olan genç hastalarda ekspektan yaklaşım, cerrahi, klomifen sitrat ya da gonadotropin tedavileri ve İÜİ denenebilmektedir. Bu tedavilerle gebelik elde edilemeyen ve ileri yaş grubuna dahil hastalar için IVF tedavisi seçilmelidir. Evre 3 ve 4 endometrioziste seçenek direkt olarak IVF olmalıdır. Bu gruptaki hastalarda cerrahi, ağrı semptomlarını gidermek amacıyla yapılabilir⁵³.

2.3.1.3. Uterus ve Servikal Faktör Değerlendirmesi

Servikal mukus yapısı, vajina ve ejakulattan spermleri yakalayarak diğer seminal proteinleri ayırmakta ve anormal morfolojideki spermleri filtrelemektedir. Ayrıca sperm için rezervuar görevi görmektedir. Mukus; katı ve sıvı komponentleri olan jel yapısında bir glikoproteindir. Steroid hormon seviyelerinde değişimlerle birlikte menstrüel siklus boyunca müsin dizileri arasındaki kanallarda genişleme ve daralma hareketi ile sperm geçişini ayarlanmaktadır. Östrojen, servikal mukus üretimini artırır, foliküler gelişim boyunca östrojen düzeyi arttıkça mukusun miktarı ve akışkanlığı artarak sperm geçişine olanak sağlar. Progesteron, servikal mukus üretimini azaltarak visköz yapıya gelmesine neden olmaktadır. Servikal mukustaki siklik değişiklikler, gebelik olasılığının ovulasyona yaklaştıkça artmasını ve daha sonra hızla

azalmasını açıklamaktadır. Cinsel birliktelikten 2-12 saat sonra yapılan Sims-Hühner testi olarak da bilinen postkoital test ile servikal mukusun makroskopik ve mikroskopik incelenmesiyle, mukusta varolan spermelerin motilitesi ve sayısı belirlenmektedir. Kronik bir enfeksiyon, deforme olmuş ve perioovulatuvar dönemde başarılı bir mukus üretemeyen bir serviks görüldüğünde, postkoital testin uygulanması düşünülmelidir. İnceleme alanında bir spermatozoa olması, testin pozitifliği için yeterli olduğu iddia edilmektedir⁵⁴. Başarılı bir mukus üretimi durumunda ise postkoital testin erkek infertilitesini ayırt etmek için kullanılması son derece tartışmalıdır⁵⁵. Postkoital test, infertilite tedavi seçeneklerini değiştirmeyeceği için rutin bir yöntem olmaktan çıkmıştır⁵².

Günümüzde sıklıkla kullanılan İÜİ ile servikal faktör ortadan kaldırılmaktadır. İnfertil kadınlarda antisperm antikor oranının fertil kadınlara göre yaklaşık 15 kat fazla olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur⁵⁶. Antisperm antikorların saptanması için sperm aglütinasyon, sperm kompleman bağımlı immobilizasyon, birleşik aglütinasyon gibi immünolojik infertiliteyi araştıran çeşitli testler bulunmaktadır. Servikal mukus incelemesi ve antisperm antikorların araştırılması günümüzde sadece gerekli vakalarda kullanılmaktadır. Rutin infertilite araştırmasında önerilmemektedir⁵⁷.

Gelişimsel uterin anomaliler, gebelik kayıpları ve obstetrik komplikasyonlar ile ilişkilidir. İnfertilite için değerlendirme sırasında saptandıkları zaman, infertilitenin mutlak nedeni olarak söylenemeseler de tanı sonrası tedavi seçimi aşamasında göz önünde bulundurulmalıdır.

Tüm konjenital uterin anomaliler içinde septat uterus en sık görülen ve reproduktif yetersizlik, birinci ve ikinci trimester gebelik kaybı, preterm doğum, prezentasyon bozuklukları, intrauterin büyüme geriliği gibi obstetrik komplikasyonlarla en sık ilişkili olanıdır⁵⁸. Histeroskopik septoplastinin yüksek başarı ve düşük morbiditesinden dolayı, 35 yaşın üzerindeki kadınlarda, uzun süredir açıklanamayan infertil olgularda çoğul gebelik ve gebelik kaybı riskiyle ilişkili IVF gibi tedavi planlanan kadınlarda histeroskopik cerrahi onarımı düşünülmelidir⁵⁹.

Leiomyomlar, benign düz kas hücre tümörleridir. Büyüklük ve yerleşimlerine bağlı olarak normal implantasyonu engelleyebilmektedir. Leiomyomların fertilitiyi etkileme mekanizmaları; tubaların interstisyel kısmını tutan kornual tıkanma, ovum, sperm transportu veya embriyo transplantasyonuna engel olan bozulmuş uterin kontraktilite ve fokal endometrial ülseresyona neden olan bölgesel kan akımında azalmadır⁶⁰. Subseröz leiomyomun, gebeliğe etkisinin olmadığı varsayılmaktadır⁶¹.

Endometrial polipler, infertil kadınlarda yaklaşık olarak %3-5 oranında saptanmaktadır⁵⁶. İntermenstrüel ya da postkoital kanama gibi semptomları olan kadınlarda prevalansı daha yüksektir. Bu yakınmaların olması, histeroskopik olarak çıkarılmalarını gerektirse de, bilgilerin çoğu asemptomatik kadınlarda polipin çıkarılması gerektiğini açıkça gösterememiştir^{62,63}. Histeroskopik polipektomi sonrası sonuçlar çelişkilidir. Ancak son zamanlarda yapılan önemli bir çalışma, 1 cm'den küçük poliplerin çıkarılmasının bile, İÜİ sonrası gebelik oranlarını artırabileceğini göstermiştir⁶⁴.

Sineşi olarak da adlandırılan intrauterin adezyonların varlığı, Asherman Sendromu olarak tanımlanmaktadır. Asherman Sendromu, özellikle enfeksiyon, dilatasyon ve küretaj yapılan kadınlarda daha sık meydana gelmektedir. Klinik öykü, sıklıkla cerrahi sonrası menstrüel kanamada ani azalma ve/veya amenoreden oluşmaktadır. Asherman sendromunun tedavisi adezyonların histeroskopik olarak giderilmesidir⁶⁵.

2.3.2. Erkek İnfertilitesinin Nedenleri

Son yıllarda erkek üreme sisteminin ve infertilitede erkek faktörünün öneminin anlaşılmasının hızlanmasıyla birlikte, kadın faktör ilginin odağı olmaktan bir nebze de olsa uzaklaşmıştır. Duktal obstürüksiyon ve hipogonadotropik hipogonadizm, kesin tanı koyulduktan sonra efektif tedavi ile tamamen düzelmektedir. Primer testiküler yetmezlik tedaviye yanıt vermemektedir. Ne yazık ki erkek infertilitesi genellikle idiopatikdir.

Erkek infertilitesinin etiyoloji ve dağılımı⁶⁶ :

- ✓ Cinsel faktörler % 1.7
- ✓ Ürogenital enfeksiyonlar % 6.6
- ✓ Konjenital anomaliler % 2.1
- ✓ Varikozel % 12.3
- ✓ Endokrin bozukluklar % 0.6
- ✓ İmmünolojik faktörler % 3.1
- ✓ Diğer hastalıklar % 3.0
- ✓ İdiopatik semen bozuklukları % 75.1

Erkek infertilitesini anatomik olarak 3 ana başlıkta toplamak mümkündür⁶⁷:

a) Pretestiküler Nedenler

Kromozomal (Klinefelter sendromu, Kallman sendromu, Y mikrolelesyonu, Kistik Fibrozis), hormonal (hipogonadotropik hipogonadizm, hiperprolaktinemi), koital (erektile disfonksiyon, endokrin, nöral, ejakulatuar yetmezlik, psikoseksüel, ilaç, cerrahi) nedenler bu gruptandır.

b) Testiküler Nedenler

Konjenital (inmemiş testis, immotil silia, vas deferens yokluğu), infeksiyon (orşitis), vasküler (torsiyon, varikosel), antispermatojenik ilaçlar (kemoterapi, x-ray), immünolojik nedenler, tümör (germ hücreli tümörler, testiküler mikrolitiazis), idiyopatik nedenler bu gruptandır.

c) Posttestiküler Nedenler

Obstrüktif (epididimal, vasa) ve aksesuar bez infeksiyonları bu gruba dahildir.

Erkek infertilitesinin mevcudiyeti, çoğunlukla anormal semen analizi ile ortaya çıkmaktadır. Seksüel disfonksiyon gibi diğer erkek faktörler, semen analizi normal olsa da akla gelmelidir. İnfertil bir erkeği değerlendirilirken ilk yapılacak işlem 4-6 hafta ara ile en az 2 kez semen analizidir. Semen örneği 3-6 günlük cinsel perhiz sonrası alınmalı ve en geç 1 saat içinde değerlendirilmelidir. Daha kısa perhiz süresinin semen volümünde ve yoğunluğunda azalmaya sebep olmakla birlikte motilite ve morfolojisine etkisi olmamaktadır⁶⁸. Daha uzun perhiz süresi ise semen volüm ve yoğunluğunu arttırmasına rağmen ölmüş, hareketsiz, morfolojisi anormal sperm sayısında da artışa neden olmaktadır⁶⁹.

2010 WHO İnsan Semeninin İncelenmesi ve İşlenmesi için Laboratuvar El Kitabı'na göre referans değerler aşağıdaki gibidir⁷⁰ :

Tablo 1. Semen analizi için en düşük referans değerleri

(5. persentil ve %95 güvenlik aralıkları)

Parametreler	En düşük referans değer
Semen volümü (ml)	1.5 (1.4-1.7)
Total sperm sayısı (10 ⁶)	39 (33-46)
Sperm konsantrasyonu (10 ⁶ / ml)	15 (12-16)
Total motilite (PR+NP, %)	40 (38-42)
Progressive motilite (PR, %)	32 (31-34)
Vitalite (canlı sperm, %)	58 (55-63)
Sperm morfolojisi (normal formlar, %)	4 (3.0-4.0)
pH	>7.2
Peroksidaz-pozitif lökosit (10 ⁶ per ml)	<1.0
MAR testi (%)	<50
Immunobead testi (%)	<50
Seminal çinko (µmol/ejakülat)	>2.4
Seminal fruktoz (µmol/ejakülat)	>13
Seminal nötral glukozidaz (mU/ejakülat)	>20

Eğer değerler WHO kriterlerine göre normal sınırlarda ise, tek test yeterli kabul edilmelidir. En az iki testin de anormal bulunması durumunda, ileri androlojik araştırma gerekmektedir.

Ürolojik değerlendirmeye detaylı anamnez ve fizik muayene ile başlanır. Pretestiküler, testiküler ve posttestiküler infertilite nedenleri araştırılmalı, gerektiğinde endokrinolojik, genetik, ultrasonografik tetkikler ve biyopsiye başvurulmalıdır. Böylece infertilitenin medikal ya da cerrahi tedavi ile düzeltilemeyeceği durumlarda İÜİ ya da yardımcı üreme teknikleri ile tedavi edilecek hastaların tanımlanması ve olası gebelik durumunda çocukları etkileyecek genetik anormalliklerin belirlenmesi mümkün olacaktır.

Oligozoospermi (<20 milyon spermatozoa/mL), astenozoospermi (<%50 motil spermatozoa) ve teratozoospermi (<%4 normal form) ayrımının yapılması önemlidir. Çoğu kez her üç patoloji

de, oligo-asteno-teratozoospermi (OAT) sendromu şeklinde bir arada karşımıza çıkar. Azospermide (standart mikroskopik incelemede sperm yokluğu) olduğu gibi, şiddetli OAT sendromu durumunda da (<1 milyon spermatozoa/mL), erkek genital sisteminde tıkanıklık ve genetik bozukluk sıklıklarında bir artış vardır. Azospermi prevalansı %2 iken, infertil popülasyonda %10-20 oranındadır. Aspermi, hiç ejakülat olmamasıdır.

2.3.3. Açıklanamayan İnfertilite

Açıklanamayan infertilite, bir çiftin 12 ay boyunca gebe kalma girişiminden sonra ya da 35 yaş ve üstü kadınlarda 6. aydan sonra gebeliğin sağlanamaması için kesin bir neden olmaması anlamına gelmektedir^{71,72}. Çiftlerde infertilite nedeninin mevcut testler ile ortaya çıkarılamaması durumu, açıklanamayan infertilite olarak tanımlanır. Bu mevcut değerlendirme; ovulasyon, tubal değerlendirme, normal uterin kavite, normal semen parametreleri, yeterli over rezervinin olması hatta diagnostik laparoskopik inceleme ile yapılmalıdır. Tanımlanabilir bir nedenin yokluğunda, bazı çiftlerin gebe kalmadığını açıklamak için çeşitli olasılıklar önerilmiştir. Bu kadınların bazılarında folikül gelişiminde, ovulasyonunda ve luteal fazda meydana gelen değişiklikler bildirilmiştir^{71,72}. İmplantasyon başarısızlığı, servikal faktörler, sperm ve ovum transportu veya etkileşimi ile ilgili problemler başka olasılıklardır⁷³. Açıklanamayan infertilite vakalarının birçoğu muhtemelen birden fazla faktörün varlığından kaynaklanmaktadır, bunların her biri kendi başlarına doğurganlığı önemli ölçüde azaltmamaktadır. Ancak kombine edildiğinde gebelik oranını azaltabilmektedirler.

İn vitro fertilizasyon ile tedavi edilen açıklanamayan infertiliteye sahip çiftler ile tubal patolojisi olan çiftler karşılaştırıldığında her iki grup için embriyo transferi başına canlı doğum oranlarının eşdeğer olduğu ortaya koyulmuştur. Oosit fertilizasyonu ve embriyo bölünme oranlarının ise açıklanamayan infertil grupta azalmış olduğu gösterilmiştir (sırasıyla; %52, %60)⁷⁴. Açıklanamayan infertiliteye sahip çiftler IVF ile tedavi edildiğinde, tubal faktör infertilitesi olan çiftlere göre daha yüksek oranda (sırasıyla; %37.1, %26.6) fertilizasyon başarı oranına sahip olmaktadır⁷⁵. Bu sonuçlar, açıklanamayan infertiliteye sahip çiftlerin, oosit ve/veya sperm fonksiyonunda bilinmeyen anormalliklere sahip olduklarını göstermektedir. Bu anlamda IVF aynı zamanda bir teşhis prosedürü olmaktadır. Defektif endometrial reseptivitenin, blastosistin bağlanmasını, invazyonunu ve implantasyonunu önlediği düşünülmektedir. Defektif endometrial reseptivitenin, bazı açıklanamayan infertilite ve tekrarlayan gebelik kaybı olgularından sorumlu olabileceği düşünülmüştür. Bu hastaların kesin klinik tanısı için hiçbir biyobelirteç tanımlanmamıştır. Tanımlanamayan ve/veya tedavi

edilmeyen çölyak hastalığı, açıklanamayan infertilitesi olan kadınlarda daha yaygın olabileceğini düşündüren olgular mevcuttur⁷⁶.

Açıklanamayan infertiliteye sahip çiftlerin tedavisi, çeşitli tedavi alternatiflerinin etkinliğini, maliyetini, güvenliğini ve risklerini dengelemelidir. Ortak bir yaklaşım, az maliyetli ve hastaya yönelik tedaviler ile başlamak ve daha sonra orantılı olarak daha maliyetli tedavilere geçmektir⁷⁴ (Tablo 2). Epidemiyolojik çalışmalar vücut kitle indeksi, sigara, anormal ve aşırı kafein ve alkol tüketiminin kadın ve erkek faktörde fertilitiyi azalttığını göstermektedir^{77,78}. Tedaviye yaklaşım her çift için bireyselleştirilmelidir. Genel olarak, eğer üç döngüden sonra belirli bir infertilite tedavisi gebelikle sonuçlanmazsa, alternatif tedaviler düşünülmelidir⁷⁹.

Tablo 2. Açıklanamayan infertilite tedavisinde siklus başına tahmini gebelik oranı⁷⁴

Tedavi	Siklus başına gebelik oranı (%)
Ekspektan yaklaşım	1-3
İÜİ	4-6
CC	4-6
CC+İÜİ	7-9
Gonadotropin	4-10
Gonadotropin+İÜİ	9-16
IVF	30-45

Açıklanamayan infertilite sınıfında olan kadınlar ovulatuar olduğundan, CC'nin amacı, ovaryan hiperstimülasyona ve monoovulatuar kadınlarda çift ovulasyona neden olmaktır. CC ve/veya İÜİ ile üç başarısız tedavi döngüsü sonrası gonadotropin ile ovulasyon indüksiyonu ve/veya gonadotropin ile kontrollü ovaryan hiperstimülasyon olmalıdır. Bu tedavilerin başarısızlığı halinde IVF'e geçilmelidir. IVF, en kısa zaman aralığında en yüksek döngüde gebelik oranı ile sonuçlanan, % 40'a varan canlı doğumla sonuçlanan bir yöntemdir. Bununla birlikte, IVF aynı zamanda en pahalı tedavi seçeneğidir¹⁰.

Kronik pelvik ağrı, dispareni, dismenore gibi semptomları olan kadınlarda endometriozis ve adezyonlar olabileceği şüphesi ile öncelikle laparaskopi, asemptomatik kadınlar için gonadotropin kombine İÜİ önerilmektedir⁸⁰. Gonadotropin kombine İÜİ, CC, İÜİ, CC kombine İÜİ veya aromataz inhibitörleriyle (Aİ) karşılaştırıldığında daha yüksek gebelik oranlarına sahiptir⁸⁰.

Kadın yaşı, gebelik oranını etkilemektedir. 37 yaşından büyük açıklanamayan infertiliteye sahip kadınlar, ekspektan yaklaşım ile siklus başına %1'den az bir gebelik oranına sahiptir. Bu olgulara ekspektan yaklaşım iyi bir seçenek olmamaktadır³¹. Randomize kontrollü çalışmalarda, fertilité için iyi bir prognozu olan (genç yaş, bilateral tubal patoloji yokluğu, sperm parametrelerinin normal olması) çiftler için ekspektan yaklaşım iyi bir seçenek olabilmektedir^{81,82}.

Açıklanamayan infertil çiftlerde 12 ay sonunda kadın ve erkek faktör için gerekli araştırmaların yapılmaya başlanması, 24 aydan önce oral ovaryan stimulan ajanlar (antiöstrojenler; klomifen sitrat, tamoksifen, letrozol, anastrozol) ile tedaviye başlanmaması, 24 aydan sonra doğrudan IVF tedavisine yönelmek, Ulusal Sağlık ve Klinik Mükemmellik Enstitüsü (NICE; National Institute for Health and Clinical Excellence) klavuzu tarafından önerilmektedir⁸³.

2.4. İntrauterin İnseminasyon (İÜİ)

İlk inseminasyon 1770'lerde Londra'da John Hunter tarafından gerçekleştirilmiştir. John Hunter, hipospadias sorunu olan bir erkeğin seminal sıvısını bir şırınga ile eşinin vajenine enjekte edip, normal bir gebelik elde etmiştir⁸⁴. İÜİ infertilite tedavisinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. IVF ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI), İÜİ ile karşılaştırıldığında daha maliyetlidir. Birçok maliyet analiz çalışmaları İÜİ'nin canlı doğum başına maliyetinin IVF ve ICSI'ye göre daha ucuz olduğunu göstermektedir^{85,86}.

İntrauterin inseminasyon sperm hücrelerinin seminal plazmadan ayrılıp stimüle edildikten sonra internal servikal os hizasından daha yukarıya, uterus içerisine katater yardımı ile verilmesi olarak tanımlanmaktadır. İntrauterin inseminasyon temelinde vajinal asidite ve servikal mukus gibi faktörlerin etkisini azaltmak ve konsantre edilmiş motil ve morfolojik olarak normal spermleri yoğun bir şekilde oositlere mümkün olduğu kadar yakın yerleştirilmesi mantığını taşımaktadır.

İntrauterin inseminasyon, intraservikal inseminasyona göre daha iyi sonuç vermektedir. Yaklaşık 700 kadın ve 2000 inseminasyon siklusunu kapsayan bir metaanalizde, İÜİ yapılan kadınlarda her siklus için gebelik oranı %18 olarak belirlenmiştir. Servikal inseminasyon yapılan kadınlarda bu oran %5 olarak saptanmıştır⁸⁷. Donör spermin kullanıldığı çalışmalarda, her siklus için gebelik oranı servikal inseminasyonun iki katı saptanmıştır⁸⁸.

İntrauterin inseminasyon endikasyonları; cinsel ilişkiye girmeye engel fiziksel ya da psikoloji problemlerin olması, HIV pozitif erkek faktör (donör sperm), hafif erkek faktör varlığı, açıklanamayan infertilite iken, kontraendikasyon olarak; servikal atrezi, yaygın servikal enfeksiyon, endometrit, bilateral tubal oklüzyon sayılmaktadır⁸⁹.

İntrauterin inseminasyon sonuçları hakkında net olarak sağlıklı bir değerlendirme yapmak güçtür. Çünkü yapılan çalışmalarda hasta seçimi, kullanılan sperm şekli, infertilite nedeni, infertilite süresi, inseminasyon tekniği ve İÜİ ile birlikte ovulasyon indüksiyonu yapılması gibi faktörler farklılık göstermektedir.

Tedavi sonuçlarını etkileyen en önemli faktör hasta seçimidir. Anatomik yapı ve koital bozukluklar, İÜİ uygulamalarında iyi sonucun alındığı gruptur.

35 yaşından büyük hastalarda klomifen sitrat ile yapılan İÜİ siklusu başına gebelik oranının yarı yarıya azaldığı gösterilmiştir⁹⁰.

İntrauterin inseminasyonda en başarısız grup, erkek faktörüdür. Yapılan bir çalışmada sperm parametrelerinden en önemlisinin motilite olduğu ve motilitenin devamlılık göstermesinin İÜİ sonuçlarında önemli bir faktör olduğu vurgulanmıştır. Buna göre spermiyogramda %30'dan fazla motilite gösteren olgularda gebelik oranı %62.9, buna karşılık, bir veya daha fazla spermiyogramda %30'dan az motilite saptanmış olgularda gebelik oranının %22'ye düştüğü gösterilmiştir⁹¹.

İnfertil erkeklerin spermlerini kullanarak İÜİ'nin etkinliğinin boyutunu hesaplamak oldukça zordur. Çünkü çoğu yayınlanmış seride İÜİ siklusları incelenirken çeşitli infertilite faktörleri olan çiftler dahil edilmektedir ve ampirik ovaryan stimülasyonu ile İÜİ tedavisi birleştirilmektedir. Tedavi amaçlı donör inseminasyonu ile ilgili retrospektif çalışmalar mevcuttur. İnfertil eşlerin spermleri kullanılarak yapılan çalışmalar, normal donör spermleri kullanılarak yapılan çalışmalarla aynı sonucu vermemektedir. Tüm değişkenler düşünüldüğünde, infertil eşlerin spermleri kullanılarak İÜİ yapıldığında her siklustaki fekundite oranı %3-10, donör sperm kullanıldığında bu oranın 3 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir⁹².

İnfertil eş spermi veya donmuş donör spermi kullanılmasından bağımsız olarak, sperm hazırlama methodu, İÜİ zamanlaması ve tekniği, diğer infertilite faktörlerinin prognoz üzerine etkisi büyük çoğunlukla aynıdır. Donmuş donör spermin sayı, motilite ve morfoloji yönünden kısıtlayıcı yönleri bulunmamaktadır. Çünkü donörler semen kalitelerine göre seçilmektedirler.

Fakat semen parametreleri infertil eş spermi ile yapılan İÜİ başarısının prognozunu belirgin şekilde etkilemektedir.

Başarılı İÜİ olasılığı, insemine edilen toplam hareketli sperm sayısı arttıkça artmaktadır. En iyi sonuçlar toplam hareketli sperm sayısı 10 milyon/mL eşik değerini geçince elde edilmektedir. Daha yüksek sayılar başarıyı arttırmamaktadır⁹³.

Prostoglandinlere bağlı uterin kontraksiyonların önlenmesi için seminal plazmanın uzaklaştırılması ve pelvik enfeksiyon riskinin azaltılması için sperm örneği endometrial kaviteye gönderilmeden önce bazı işlemlerden geçmesi gerekmektedir.

Semen analizinin sonuçlarını etkileyebilecek bazı faktörler; ejakulatın toplanması, aksesuar bezlerin aktivitesi, cinsel perhiz süresi, testis boyutları olarak sayılmaktadır⁹⁴⁻⁹⁶. Aslında bu değişkenler ve büyük çoğunluğu da değiştirilemez olan faktörlerin varlığı semen kompozisyonundaki birey içi farklılıkların da açıklamasıdır. Bu nedenle sadece bir semen analizi kişinin semen kalitesini değerlendirmek için yeterli değildir. Temel verileri elde edebilmek için iki veya üç örneğin incelenmesi yararlı olacaktır. Semen analizi kişilerin klinik durumları ile ilgili temel bilgileri edinmemizi sağlar⁹⁷.

2.4.1. Semen Analizi

Ejakülasyon sırasında semen, spermatozoanın konsantre süspansiyonundan oluşturulur, iki epididimde depolanır, aksesuar cinsel organlardan gelen sıvı salgılarla karışır ve seyreltilir. Semen birkaç bolus şeklinde atılır. Vazektomi öncesi ve sonrası semen hacimlerinin karşılaştırması, semen hacminin yaklaşık % 90'ının aksesuar bezlerden⁹⁸, esas olarak prostat ve seminal keselerden, önemsiz miktarlarda da bulbouretral bezler (Cowper bezi) ve epididimlerden gelen salgılardan oluştuğunu göstermektedir.

Semen başlıca iki ölçülebilir özelliğe sahiptir:

- Toplam spermatozoa sayısı: Testislerden sperm üretimi ve posttestiküler duktal sisteminin açık olduğunu gösterir.
- Değişik aksesuar bezler tarafından katkı sağlanan toplam sıvı hacmi: Bezlerin salgılama aktivitesini yansıtır.

Spermatozoanın özellikleri (vitalite, motilite ve morfoloji) ve seminal sıvının bileşimi de sperm fonksiyonu için önemlidir.

Cinsel birleşme sırasında ejakülatın ilk kısmını oluşturan spermden zengin prostat fraksiyonu, vajinaya doğru yayılan servikal mukusla temas kurarken⁹⁹, sıvının geri kalan kısmı vajinada bir havuz halinde kalır. Aksine, laboratuvar ortamında ejakülatın hepsi bir kapta toplandığından, spermatozoa seminal kese kaynaklı proteinlerden gelişmiş bir koagulum içine hapsedilir. Bu koagulum, daha sonra prostatik proteazlar tarafından sıvılaştırılır (likefaksiyon). Bu sırada sıvının osmolalitesi yükselir⁹⁴.

Semen numunelerinin kalitesinin ejakülatın oluşum tarzına göre değiştiğine ilişkin bazı kanıtlar mevcuttur. Laboratuvar yakınındaki bir odada mastürbasyonla alınıp kaplar içine toplanan ejakülatlar, evde cinsel birleşme sırasında spermisit içermeyen kondomlara alınan ejakülate göre daha düşük kalitede olabilmektedir¹⁰⁰. Mastürbasyonla numune verene kadar geçen ve ejakülasyondan önceki seminal emisyonu da kapsayan süre, semenin kalitesini de etkilediği için, bu farklılık, değişik bir cinsel uyarılma biçimini yansıtabilir¹⁰¹.

Belli numune toplama koşulları altında semen kalitesi, testislerde sperm üretimi, aksesuar organ salgıları, yakın zamanda geçirilmiş enfeksiyonla birlikte cinsel perhiz süresi gibi genellikle değiştirilemez faktörlere bağlıdır. Bu faktörler kaydedilmeli ve sonuçları yorumlarken göz önüne alınmalıdır.

Laboratuvarda semen kalitesinin ölçüm sonuçları aşağıdaki faktörlere bağlı olacaktır:

- Numunenin tümüyle toplanması:

Ejakülasyon sırasında atılan ilk semen fraksiyonları esasen spermden zengin prostat sıvısıyken, daha sonraki fraksiyonlar daha çok seminal kese sıvısını içerir⁹⁴. Bu nedenle, ejakülatın ilk (spermden zengin) fraksiyonunun kaybı son fraksiyonunun kaybına göre semen analizi sonuçlarını daha fazla etkilemektedir.

- Ejakülasyon sırasında konsantre epididim spermatozoasını seyrelten sıvılar salgılayan aksesuar cinsel bezlerin aktivitesi:

Ejakülattaki toplam sperm sayısının aksine (sperm konsantrasyonuyla semen hacminin çarpımı) diğer üreme organlarının işlevlerinden etkilendiği için, sperm konsantrasyonu,

testiküler sperm üretiminin doğrudan ölçütü değildir. Örneğin, en azından bazı toplumlarda yaşla birlikte seminal sıvı ve toplam sperm üretimi birlikte azaldığından, genç ve yaşlı erkeklerin semenlerindeki sperm konsantrasyonları benzer olabilmesine rağmen, toplam sperm sayıları farklılık gösterebilir.

- Son cinsel aktiviteden itibaren geçen zaman:

Spermatozoa epididimlerde toplanır, daha sonra üretra içine taşar ve idrarla yıkanıp atılır. Epididim işlevleri bozulmadığı sürece spermlerin vitalitesi ve kromatini cinsel perhizin uzamasından olumsuz etkilenmemektedir^{95,102}.

- Sondan bir önceki cinsel perhiz süresi:

Epididimler tek bir ejakülasyonla tamamen boşalmadığından bir önceki ejakülasyondan bir miktar spermatozoa kalır. Bu durum, ejakülattaki spermatozoanın yaş dağılımını ve kalitesini etkilemektedir. Bu etkilenmenin boyutunu saptamak zor olduğu için nadiren hesaba katılmaktadır⁶⁸.

- Ejakulat başına düşen spermatozoa sayısını etkileyen testis büyüklüğü:

Testislerin büyüklüğü, sperm morfolojisini de etkileyen spermatogenetik aktivitenin düzeyini yansıtır⁹⁶.

Bu değişken ve geniş ölçüde kontrol edilemeyen faktörler, bireyin semen bileşimindeki kişiye özgü değişkenliği de açıklamaktadır. Bu çeşitli değişkenlikler semen analizlerinin yorumlanması açısından bazı sonuçlara yol açmaktadır.

- Tek bir semen numunesinin değerlendirilmesiyle bir erkeğin semen kalitesini tanımlamak mümkün değildir.
- Temel verileri elde etmek için iki veya üç numuneyi incelemek yararlı olur¹⁰³.

Ejakülattaki tüm spermatozoa topluluğunda yapılan ölçümler fertilizasyon bölgesine ulaşan birkaç spermin dölleme kapasitesini tanımlayamaz, ancak bu durumdan bağımsız olarak semen analizi, bireyin klinik durumu hakkında temel bilgiler sağlar.

Sonuçlarla geçerliliği onaylanmış yararlı bilgiler sağlanması amaçlanıyorsa, semenin toplanması ve analizi her yönden uygun biçimde standardize edilmiş yöntemlerle gerçekleştirilmelidir.

Aşağıdaki semen analizi ve yorumlanması WHO kriterlerine göre yapılmıştır.

Semen analizi şu aşamalardan oluşur:

İlk 5 dakika:

- ✓ Alınan örneğin likefiye olması için inkübatöre (37°C) ya da tezgaha yerleştirilmesi

30-60 dakika arasında:

- ✓ Semen görünümü ve likefaksiyonun değerlendirilmesi
- ✓ Semen hacminin ölçülmesi
- ✓ Semen pH'ının ölçümü
- ✓ Mikroskopik inceleme, sperm sayısı ve motilitesini değerlendirebilmek için dilüsyon ve ıslak preparatın hazırlanması
- ✓ Sperm canlılığının değerlendirilmesi (motil spermlerin oranı düşük ise)
- ✓ Sperm morfolojisinin değerlendirilmesi için semen yaymasının hazırlanması
- ✓ Sperm konsantrasyonunu değerlendirmek için semenin dilüsyonu
- ✓ Sperm sayısının değerlendirilmesi
- ✓ Gerek duyulursa MAR (karma antiglobulin reaksiyonu) testinin yapılması
- ✓ Yuvarlak hücreler varsa peroksidaz pozitif hücrelerin değerlendirilmesi
- ✓ Immunobead testi için sperm hücrelerinin hazırlanması (gerek duyulursa)
- ✓ Semen santrifüje edilmesi (biyokimyasal belirteçler çalışılacaksa)

Üç saat içinde:

- ✓ Gerekliyse örneklerin mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmesi

Dört saatten sonra:

- ✓ Morfolojik değerlendirilme için preparat hazırlanması

Aynı gün içinde daha sonraki dönemde (örnek dondurulmuşsa sonraki gün):

- ✓ Aksesuar bez belirteçlerinin ölçülmesi (gerekirse)
- ✓ İndirekt immunobead testinin yapılması (gerekirse)

a) Örneğin toplanması

Analizle örnek alımı arasındaki zamanın kontrolü ve semenin sıcaklık farklılığına maruz kalmaması için örnek laboratuvar yakınındaki özel bir odada alınmalıdır. Örnek en az iki günlük cinsel perhiz sonrasında alınmalıdır ancak cinsel perhiz süresi yedi günü geçmemelidir. Ek analizler gerektiğinde sonuçların değişkenliğini azaltmak için cinsel perhiz süreleri olabildiğince birbirine yakın olmalıdır. Kişiyi semen analizinin toplanması ile ilgili olarak yazılı ve sözlü bilgiler verilmelidir. Kişinin ismi, doğum tarihi, cinsel perhiz gün sayısı, semen örneğinin alındığı tarih ve saat, örnek toplama işleminin tamamlanan kısmı, örnek vermedeki zorluklar, alınma ve analiz arasında geçen süre, rapora kaydedilmelidir. Semen örneği, mastürbasyonla elde edilmelidir ve ejakülat, temiz, geniş ağızlı, cam veya sperm için toksik olmayan plastik bir kap içine konmalıdır. Semen likefiye olurken 37°C’de inkübatörde bekletilmelidir. Örneğin bir kısmı verilemediyse, raporda belirtilmelidir. Bu durumda cinsel perhiz sonrasında ikinci bir örneğin alınması gerekecektir.

Örneğin mastürbasyonla elde edilememesi veya laboratuvarında yeterli altyapının olmaması gibi durumlarda kişi ejakülasyonunu evde gerçekleştirip merkeze ulaştırabilir. Semen toplanması için özel kondomlar kullanılabilir. Lateks kondomlar kullanılmamalıdır. Kişiyi konuyla ilgili olarak ayrıntılı yazılı ve sözlü bilgi verilmeli, semenin tamamını toplaması gerektiği ve herhangi bir kayıp varsa bildirmesi gerektiği anlatılmalıdır. Kişi bir saat içinde örneği laboratuvara ulaştırmalıdır. Örnek laboratuvara getirilirken 20-37°C arasında tutulmalıdır. Rapora, örneğin evde özel kondomla cinsel ilişki ile veya laboratuvar dışında toplandığı not edilmelidir. Koitus interruptus semen kaybı ihtimalinden dolayı örnek almak için uygun bir yöntem değildir.

Semen örnekleri içinde HIV, herpes simpleks virüsü ve hepatit virüsleri gibi biyolojik tehlikeler içerebilir. Semen kültürü yapılacaksa veya örnek biyolojik çalışmalar, İUİ ya da IVF için kullanılacaksa, steril materyaller ve teknikler kullanılmalıdır.

b) İlk makroskopik inceleme

Likefaksiyondan hemen sonra ya da ejakülasyondan sonraki 30 dakika ile 60 dakika içinde semenin gözlenmesi ile analize başlanmalıdır¹⁰⁴. Likefaksiyon genellikle ilk 15 dakika içinde görülmesine karşın normal semenin likefaksiyonu oda sıcaklığında 60 dakikada tamamlanır. Tam likefaksiyon 60 dakikada oluşmazsa, bildirilmelidir. Likefaksiyon sırasında örneğin düzenli olarak karıştırılması homojen bir örnek elde edilmesine yardımcı olabilir. Nadiren likefaksiyon oluşmayarak semen değerlendirmesini zorlaştırır. Bu tür vakalarda mekanik karıştırma veya enzim ile çözme gerekebilir. Bu uygulamalar seminal plazma biyokimyasını, sperm motilitesini ve morfolojisini etkileyebileceklerinden dolayı raporda belirtilmelidir.

Likefaksiyondan sonra geniş ağızlı (yaklaşık 1.5 mm) plastik pipete örneği dikkatlice çekerek ve yerçekiminin etkisiyle damlamasını bekleyip damla ile pipet arasında oluşan ince ipliğin uzunluğu gözlenerek viskozitesi ölçülebilir. Normal bir örnek pipeti küçük ayrı damlalar şeklinde terk eder. Anormal viskozitelerde bu uzunluk 2 cm'den daha uzundur. Yüksek viskozite sperm motilitesini, konsantrasyonunu, spermin antikorla kaplanmasını ve biyokimyasal ölçümleri etkileyebilir. Viskoziteyi azaltma yöntemleri gecikmiş likefaksiyonda kullanılan ile aynıdır.

Likefiye olmuş normal bir örnek homojen ve gri-opelasan bir görünüme sahiptir. Sperm konsantrasyonu çok düşükse örnek daha az opak görünür. Renk, örneğin eritrosit varsa kırmızı ve/veya kahverengi, hastanın sarılığı varsa veya bazı vitaminlerin ve ilaçların kullanımı ile sarı olabilir.

Ejakülatın hacminin oluşumuna ağırlıklı olarak seminal vezikül, prostat salgıları, az bir oranda bulboüretal bezler ve epididim katkıda bulunur. Total sperm hücresi ve sperm olmayan hücrelerin sayısının hesaplanmasında kullanılacağı için hacmin hassas bir şekilde ölçülmesi gerekir. Hacim en iyi şekilde örneğin içine verildiği kabın ağırlığı tartılarak ölçülebilir. Dansite 1 gr/mL olarak varsayılır. Hacmin 0.3-0.9 mL daha düşük hesaplanmasına neden olabileceğinden, örneğin pipete veya enjektöre çekilmesi veya ölçme silindirine boşaltılması tavsiye edilmemektedir^{96,105}. Semen hacmi için en düşük referans değeri 1.5 mL'dir. Düşük semen hacimleri, ejakülatuar kanal obstrüksiyonu veya seminal vezikül gelişiminin yetersiz olduğu konjenital bilateral vas deferens agenezisinin karakteristiğidir^{106,107}. Hacmin düşük olması aynı zamanda örnek toplama problemi, parsiyel retrograd ejakülasyon ve androjen

eksikliğini de gösterebilir. Yüksek semen volümleri ise aksesuar bezlerin aktif inflamasyonunda gözlenen aktif eksudasyonun bir yansıması olabilir.

Semen pH'ı esas olarak alkali özellikteki seminal vezikül sekresyonu ile asidik prostatik sekresyon olmak üzere aksesuar bezlerin sekresyonları arasındaki dengeyi yansıtır. pH likefaksiyondan sonra o laboratuvar için belirlenmiş standart bir zamanda, tercihen 30 dakika içinde ölçülmelidir. Normal örnekler için aralığı 6.0 ile 10.0 arasında olan pH kağıdı kullanılmalıdır. Semen örneği iyice karıştırıldıktan sonra bir damla semen pH kağıdı üzerine eşit olarak yayılır, 30 saniyeden uzun olmamak koşulu renk değişimi beklenir ve kalibrasyon çubuğu ile karşılaştırılarak pH okunur. Semen pH'sı için alt referans değeri 7.2 olarak kabul edilmiştir. Düşük hacimli ve sperm sayısı az olan bir örnekte eğer pH 7.0'dan küçükse ejakülatuar kanal obstrüksiyonu veya seminal vezikül gelişiminin yetersiz olduğu konjenital bilateral vas deferens agenezisi akla gelmelidir¹⁰⁸⁻¹¹⁰. Semen pH'sı doğal tamponlama azaldıkça zamanla artabilir. Bu nedenle yüksek pH değerleri klinik olarak az miktarda yararlı bilgi verir.

c) İlk mikroskopik inceleme

Taze semen değerlendirmesi için faz kontrast mikroskopisi önerilir. İlk mikroskopik değerlendirme sırasında konsantrasyon, motilite, mukus iplikleri formasyonu, sperm agregasyon ve aglütinasyonu ve spermden farklı hücresel elemanların değerlendirmesi yapılabilir. Örnek iyi karıştırılmamışsa aynı örnekten yapılan iki ayrı inceleme arasında motilite, canlılık, konsantrasyon ve morfolojik olarak belirgin farklılıklar gözlenebilir. Geniş ağızlı plastik bir pipete 10 kez aspire edilmesi ile örnek karıştırılabilir. Spermilere hasar verebileceğinden dolayı yüksek hızlı karıştırıcılar kullanılmamalıdır. Semen hacmi ve lamel boyutlarının da standart olması gerekir. Böylece analizler her zaman derinliğin yaklaşık 20 µm'de sabit olduğu preparatlarla yapılmış olur. Derinliğin 20 µm'nin altında olması spermilerin rotasyonel hareketini zorlayabilir. 10 µl'lik hacimde semen lam üzerine konur. Üzeri lamelle kapatılır. Lam ile lamel arasında hava kabarcığı oluşturulmamalıdır. Hareketsiz spermilerin birbirleriyle, mukus iplikleriyle debris veya sperm olmayan hücrelere yapışması sonucu oluşan nonspesifik agregasyon gözlenirse kaydedilmelidir. Hareketli spermilerin birbirlerine baş-baş, kuyruk-kuyruk veya mikst şekilde yapışmalarına aglütinasyon denir ve bu izole form, orta, çok ve şiddetli olmak üzere derecelendirilebilir (1-4 arası). Aglütinasyon, agregasyondan ve hareketli spermilerin debris veya sperm dışı hücrelere yapışmasından ayırt edilmelidir.

Aglütinasyon olması infertilitenin nedeninin immünolojik olduğu için yeterli kanıt değildir ama antisperma antikor çalışmasını ve daha ileri incelemelerin yapılmasını düşündürebilir. Şiddetli aglütinasyon sperm motilite ve konsantrasyon değerlendirmesini etkileyebilir.

d) Sperm dışı hücreler

Ejakulat, genitoüriner sistemden epitel hücreleri, lökositler ve immatür germ hücreleri gibi başka hücreler de içerebilir. Son ikisine yuvarlak hücreler de denir ve normal durumda tüm ejakülatta $10^6/\text{mL}$ 'den fazla yuvarlak hücre bulunması halinde peroksidaz testi, lökosit belirteçleri çalışmalı ve konsantrasyonları doğru bir şekilde hesaplanmalıdır.

e) Sperm motilitesi

Ejakülasyondan sonraki ilk bir saat içinde, tercihen likefaksiyondan sonraki 30 dakikada motilite değerlendirilmelidir. Taze hazırlanmış preparatların stabil hale gelmesi için yaklaşık bir dakika bekletilir. Motilite değerlendirmesi faz kontrast mikroskopta 200-400 büyütmede yapılır. Sperm motilitesi 37°C 'de ısıtılmış tabla üzerinde veya oda sıcaklığında bakılabilir. Farklı motilite kategorilerindeki spermilerin oranlarını hesaplayabilmek için en az beş mikroskopik alanda en az 200 sperm hücrelerinin değerlendirilmesi gerekir. Aynı semen örneğinden hazırlanmış başka bir preparatta tekrar 200 sperm sayılıp birbirinden bağımsız bir şekilde motilite yüzdeleri kıyaslandığında kabul edilebilir farklılık oranları varsa işleme devam edilir. Büyük farklar varsa bu durumda yeni preparat hazırlamak gerekir. Fokal bir mikroskop düzleminde gratikülle belirlenmiş çizgilerin sınırladığı alanda ya da sperm sayısı azsa tüm alanda sperm hücreleri sayılarak motilite değerlendirilir.

Motilitenin değerlendirmesi için spermeleri progresif hareketli, nonprogresif hareketli ve hareketsiz şeklinde sınıflandıran basit bir yöntem tavsiye edilir. Sperm motilitesi tartışılırken total hareketliliğin mi yoksa progresif hareketliliğin mi olduğu belirtilmelidir. Önce progresif hareketli olanlar, sonra nonprogresif hareketliler ve hareketsizler değerlendirilir. Total hareketlilik için en düşük referans değer %40 iken, bu değer progresif hareketlilik için %32'dir.

- Progressif hareket:

Sperm hücresi doğrusal ya da geniş bir dairesel düzlemde hızdan bağımsız olarak ilerleyici bir şekilde hareket eder.

- Nonprogresif hareket:

İlerleyici olmayan hareketlerin tamamını içerir. Örneğin çok küçük daireler şeklinde, kuyruğun hareketiyle baş kısmının çok zor olarak yer değiştirmesi, sadece kuyruğun hareket etmesi gibi.

- Hareketsiz:

Hiç hareketin olmaması.

f) Sperm canlılığı

Sperm canlılığı hücre membranı bütünlüğünün değerlendirilmesi esasına dayanır ve progresif hareketli sperm oranının %40'dan az olduğu durumlarda özellikle önemlidir. Aynı zamanda bu testle hareketlilik değerlendirmesinin doğru yapıp yapılmadığı da kontrol edilebilir. Canlı olmayan hücrelerin sayısı hareketsiz olan spermilerin sayısını aşmamalıdır. Normalde canlı hücrelerin sayısı motil hücrelerden fazladır. Canlı spermilerin oranı boya eksklüzyonu ya da hipoozmotik şişme yöntemleri ile hücre zarı sağlam olanların değerlendirilmesi ile hesaplanabilir. Boya eksklüzyonu metodu ölü hücrelerde hasarlanan plazma zarının bazı boyaları alması prensibine dayanır. Bu yöntem eosin ve/veya nigrosin boyaları kullanılarak yapılabilir. Hipoozmotik şişme ise sadece sağlam membranı olan hücrelerin hipotonik solüsyonlarda şişmesi prensibine dayanır. Isı değişikliği ve dehidratasyonun sperm canlılığı üzerine olumsuz etkilerini azaltmak amacıyla likefaksiyondan sonraki 30 dakikada ya da ejakülasyondan sonraki ilk bir saat içinde canlılık değerlendirilmelidir.

Hareketsiz spermilerin canlı olup olmadıkları klinik açıdan önemlidir. Canlılık değerlendirmesinin sonuçları aynı semen örneğinin hareketlilik sonuçlarıyla birlikte değerlendirilmelidir. Canlı ama hareketsiz hücrelerin büyük oranda bulunması kuyruktaki yapısal defektlerin göstergesi olabilir¹¹¹. Hem hareketsiz hem de ölü hücrelerin

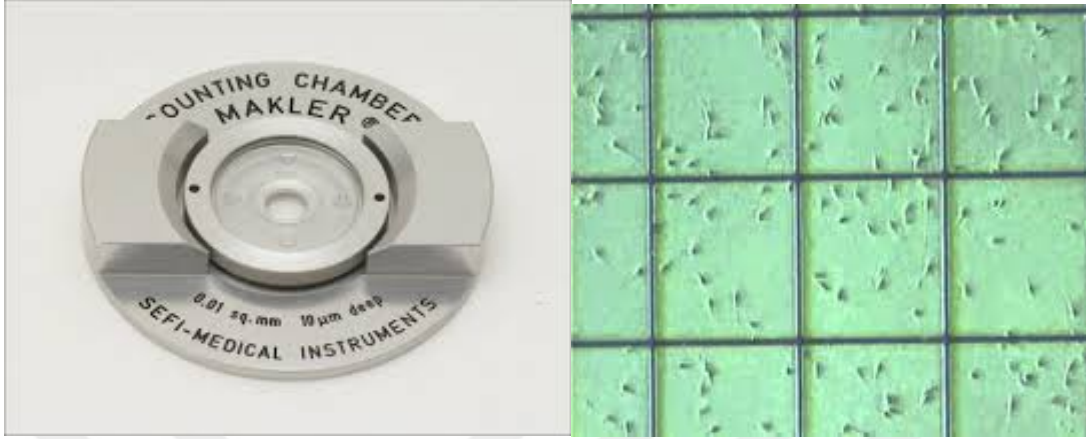
(nekrozoospermi) yüksek oranda bulunması ise epididimal bir patolojinin göstergesi olabilir. Sperm canlılığı için en düşük referans değeri %58'dir.

g) Sperm sayısı

“Total sperm sayısı” ve “sperm konsantrasyonu” terimleri aynı değildir. Sperm konsantrasyonu her bir ünite semen volümü başına düşen sperm sayısını ifade ederken total sperm sayısı tüm ejakülattaki sperm sayısını ifade eder. Total sperm sayısı semen analizi sırasında hesaplanan sperm konsantrasyonundan elde edilir. Ejakülattaki total sperm sayısı ve sperm konsantrasyonu dölleme yeteneği, gebelik oluşumuna kadar geçen süre ve gebelik oranları ile ilişkilidir^{111,112}. Normal bir erkekte obstrüksiyon yoksa ve cinsel perhiz süresi çok uzun değilse total sperm sayısı testis volümü ile koreledir ve bu da testislerin sperm üretme yeteneğini ve yolun sağlığını gösterir¹¹³. Seminal vezikül ve prostat salgılarının miktarından etkilenebilen sperm konsantrasyonu ise fertilizasyon ve gebelik oranları ile ilişkilidir ancak testis fonksiyonunu değerlendirmek için özgün değildir. Sperm sayımı için 100 µm derinlikte hemositometre sayma kamaraları tavsiye edilmektedir. Spermilerin doğru bir şekilde sayılıp hesaplanabilmesi için semenin dilüe edilmesi gerekir. Ne kadar dilüe edileceği taze preparatta 200 veya 400 büyütmede görüntü alanı başına sayılan sperm hücresi sayısına göre belirlenebilir. Örnekte mikroskopla hiç sperm görülmediyse yeni bir taze preparat hazırlanır. Yine sperm görülmezse azoospermiden şüphelenilebilir. Örnek 3000 devirde 15 dakika santrifüj edilir ve sperm hücresi tespit edilirse kriptozoospermi, görülmezse azoospermi denir.

Semen içindeki hücresel elementlerin miktarını belirlemek üzere çeşitli sayım odaları kullanılmaktadır. Sperm konsantrasyonu belirlemek için günümüzde en çok kullanılan kamara 1978 yılında Prof Dr. Ammon Makler tarafından geliştirilen Makler kamarasıdır. 20X objektifli ışık mikroskopunda kullanılır. Kamara derinliği 10 µ'dur. Bu derinlik sperm hücrelerinin tek bir düzlemde hareketine olanak sağlamaktadır. Toplam iki parça optik camdan oluşur. Üst camın üzerinde 0,1 x 0,1 mm'lik toplamda 100 kareden oluşan bir ızgara sistemi vardır. İki cam arasındaki aralık 4 quartz nokta ile sabitlenmiştir. Izgara üzerinde bulunan 10 adet karede sayılan sperm sayısı milyon olarak mililitre başına düşen sperm sayısını verir (Şekil 1).

Şekil 1. Geliştirilmiş Makler Sperm Sayım Kamarası



Sperm konsantrasyonu hesaplaması sayım sonucu elde edilen sperm sayısının o spermelerin içinde bulunduğu volüme bölünmesi esasına dayanır ve “ $C = (N/n) \times (1/20) \times \text{dilüsyon faktörü}$ ” formülüyle hesaplanabilir (C: konsantrasyon, N: sperm sayısı, n: sayım yapılan kare sayısı). Sperm konsantrasyonu için en düşük referans değer $15 \times 10^6 / \text{mL}$ ’dir. Total sperm sayısı ise sperm konsantrasyonunun tüm ejakülat volümüyle çarpılması sonucu hesaplanır ve en düşük referans değeri $39 \times 10^6 / \text{mL}$ ’dir.

Spermatozoa, aşağıdaki farklı hareketlilik dereceleri ile kategorize edilmiştir :

- a) Hızlı ilerleyen motilite
- b) Yavaş ilerleyen motilite
- c) Progresif olmayan motilite
- d) İmmotil sperm

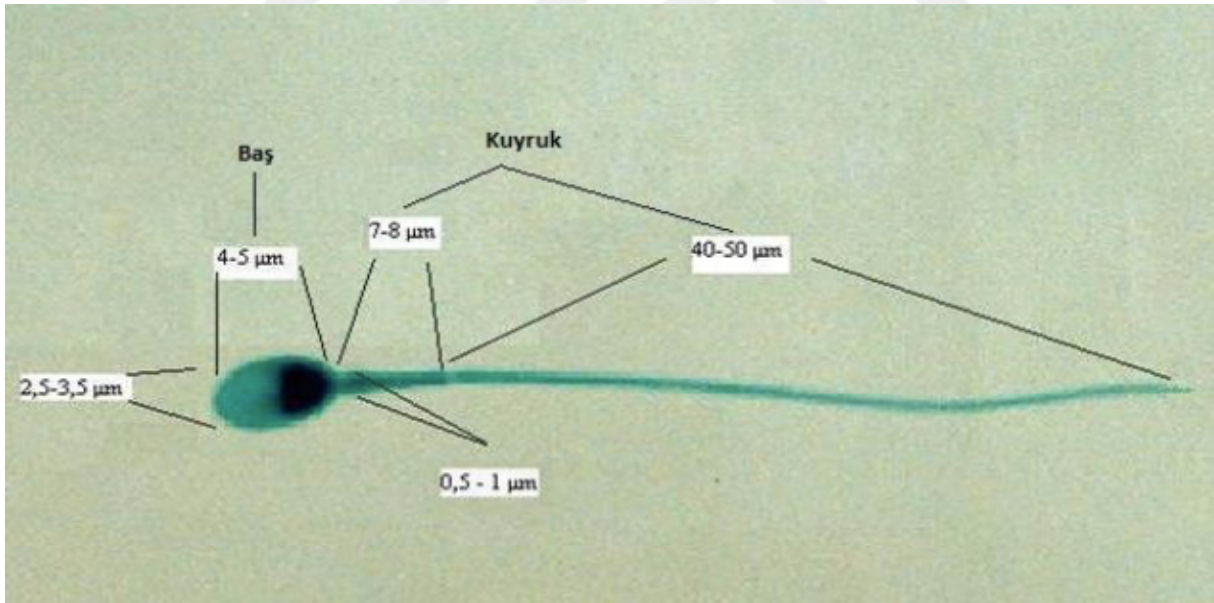
Toplam hareketlilik (normal ≥ 40) hızlı ilerleyen motilite, yavaş ilerleyen ve ilerlemeyen hareketlilik içerir. Aşamalı hareketlilik (normal ≥ 32) hızlı ve yavaş ilerleyen motiliteyi içermektedir. Ejakülat başına toplam progresif hareketli spermatozoa sayısı için mutlak değerler, toplam progresif sperm motilitesi (a+b) yüzdesinin mililitre başına sperm konsantrasyonu ve tek ejakülatın hacmi (mililitre) ile çarpılarak hesaplanmıştır.

h) Sperm morfolojisi:

İnsan sperminin morfolojik değişkenliği, sperm morfolojik açıdan değerlendirmesini güçleştirmekle beraber özellikle postkoital mukustan olmak üzere kadın genital sisteminden ya da zona pellucida yüzeyinden elde edilen sperm gözlemleri normal bir sperm görünümünün tanımlanmasında yardımcı olmuştur^{114,115}.

Yaklaşık 60 µm uzunluğa sahip olan normal bir sperm hücresi baş, boyun, orta parça, esas parça ve son parçadan oluşmaktadır. Ancak ışık mikroskobu ile son parçayı görmek zordur. Boyun, orta parça, esas parça ve son parça spermin kuyruğunu oluşturmaktadır (Şekil 2). Baş ve kuyruk yapısı kriterlere uygun olan sperm normal kabul edilir.

Şekil 2. Işık mikroskobunda görülen normal sperm morfolojisi



Normal formda görünen sperm hücrelerinin oranı ile fertilite sonuçları (gebelik oranları veya gebeliğe kadar geçen süre) arasında bir ilişki olduğu sonucuna varılmıştır^{116,117}.

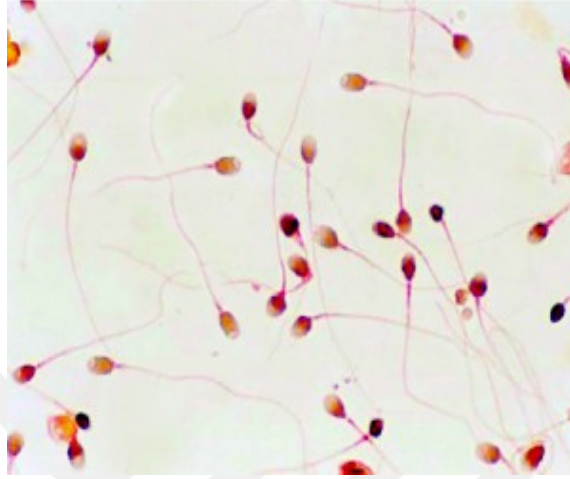
Sperm morfolojik değerlendirmesi şu aşamalardan oluşur:

- Semen smear preparatlarının hazırlanması
- Preparatı havada kurutma, fiksasyon ve boyama
- Eğer uzun süre saklanacaksa lamın üzerini lamelle kapatma
- Parlak alan objektifi ile 1000 büyütmede immersiyon yağı kullanarak preparatın incelenmesi
- Normal ve anormal formdaki spermleri değerlendirebilmek için yaklaşık 200 spermin sayılması
- Sayım hatalarını azaltmak için iki kez sayım yapmak.

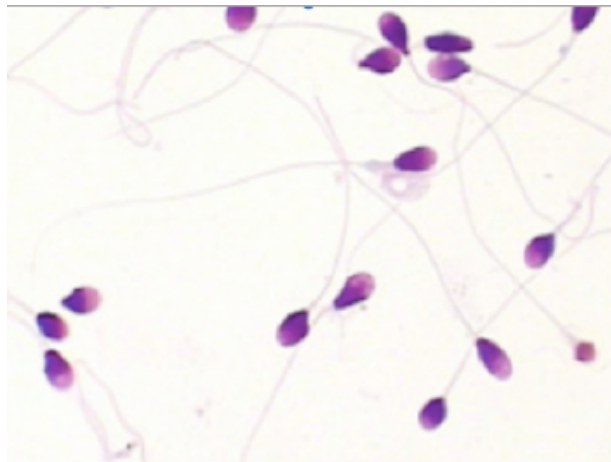
Sonuçlar karşılaştırıldığında kabul edilebilir fark varsa devam edilir ama öyle değilse yeniden sayım yapılmalıdır.

Boyama yöntemi olarak Papanicolaou (şekil 3), Diff-Quick (şekil 4) ve Shorr (şekil 5), boyaması tavsiye edilen yöntemlerdir. Bu boyalarla baş akrozomal bölgede soluk mavi, post-akrozomal bölgede koyu mavi boyanır. Orta kısım bir miktar kırmızı boyanma gösterebilir. Kuyruk kısmı mavi ya da kırmızımsı boyanır. Sitoplazmik artıklar genellikle başın arkasında ve orta kısım etrafında bulunur Papanicolaou boyası ile pembe veya kırmızı, Shorr boyası ile kırmızımsı-turuncu boyanır. Papanicolaou boyaması sperm ve diğer hücrelerin iyi boyanmasını sağlar. Shorr boyaması normal formlar için Papanicolaou boyamasına yakın sonuçlar verir. Klinik laboratuvarlarda özellikle aynı gün sonuç verilebilmesinden dolayı kullanışlı olan Diff-Quick boyaması zeminin çok fazla boyanmasından dolayı Papanicolaou boyaması kadar kaliteli sonuçlar vermeyebilir. Normal formulu sperm hücreleri için en düşük referans değer %4'tür.

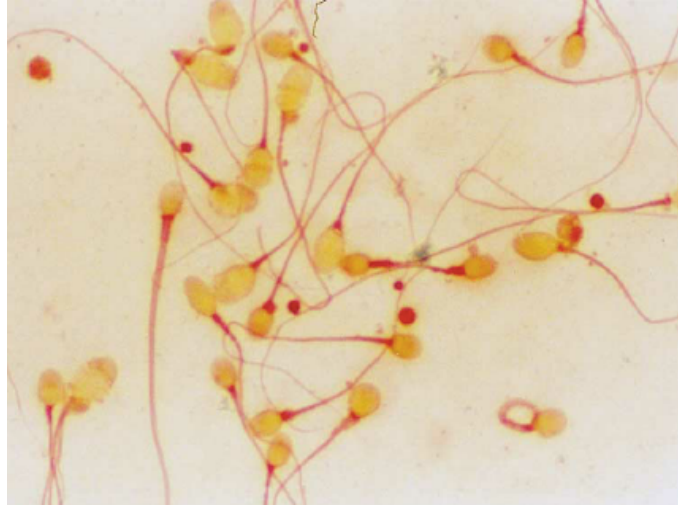
Şekil 3. Papanicolaou boyaması, normal morfolojideki sperm hücreleri



Şekil 4. Diff-Quick boyaması, normal morfolojideki sperm hücreleri



Şekil 5. Schorr boyaması, normal morfolojideki sperm hücreleri



2.4.2. İntrauterin İnseminasyonu İşlemi İçin Sperm Hazırlanması

Sperm hazırlanma tekniği seçimi veya tekniklerin bir arada kullanılması hareketli sperm sayısı, hareketli/hareketsiz sayım oranı, hacim, antikor ve debris varlığına göre yapılır. Bütün işlemler boyunca sterilitte korunmalıdır. Ejakulat spermatazoa içeren, testiküler ve epididimal salgılarla ejakulasyon anında prostat salgılarıyla karışmış bir sıvıdır. Seminal plazma kapasitasyonu engelleyen ve fertilizasyonu önleyen maddeler içerir. Sperm hazırlanmasının amacı motil spermatazoaları yoğunlaştırıp seminal plazma ve diğer hücrelerden ayırmaktır. Semen içindeki lökosit ve ölü sperm reaktif oksijen türlerinin kaynağı olup, bunlar sperm membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatır. Böylece membranın sıvı akışkanlığı kaybolur ve fertilizasyon sırasında sperm füzyon olaylarını engeller¹¹⁸.

Basit yüzeye yatırma ve yüzdürme tekniği, orta-yüksek sayılı (>35 milyon sperm/mL) örneklerde yeterli iyi öne doğru hareketli sperm elde edilebilir. Devamsız yoğunluk katmanlı santrifügasyonu aşağıdaki durumlarda kullanılmalıdır; düşük motilite, zayıf öne doğru hareketlilik, yüksek oranda debris ve/veya hücre varlığı, antisperm antikorları varlığı. Her işlemin sonunda ph % 5 CO₂ varlığında dengelenmelidir.

a) Sperm yıkama

Sperm yıkamanın en basit yöntemi likefiye olmuş semen örneğini tamponlu bir medyum içeren steril tüp içinde (1/1-1/3 hacimsel oranda) seyreltmektir. Daha sonra düşük santrifügasyona (200g/10 dakika) tabii tutulur ve süpernatant atılır. İki veya daha fazla siklus sonrasında son

pellet küçük hacimde (0.5 ml) seyreltilir. Sperm yıkama ile oldukça yüksek sayıda sperm elde edilir ancak, son solüsyon ayrıca ölü ve anormal sperm ile diğer hücrel atıkları içerebilir.

Yıkama işlemi sonrasında sperm hacminin 0.3, 0.4, 0.5 ml olması inseminasyonda gebelik sonuçlarını etkilemediği gösterilmiştir^{119,120}.

b) Standart yüzdürme veya yüzeye yatırma

Semen örneği 1 ml'lik alikotlar halinde 1 ml Earle's balanced salt solution medyumuna altına yatırılır ve 30 dakika % 5 CO₂ ve 37°C'de bekletilir. Daha sonra sıvıyı üstü bir Pastör pipeti ile nazikçe aspire edilir ve 4 ml medyum ile 10 dakika x 200 g santrifügasyon ile yıkanır. Pellet 0.3-0.5 ml ile dilüe edilir. Bu yöntemle temiz, ölü ve diğer hücrel artıklardan arınmış sperm elde edilir. Ancak sperm sayısı da azalır. Bundan dolayı sperm yoğunluğu çok düşük olduğunda önerilmez.

c) Yoğunluk katmanlı santrifügasyon

Genellikle ticari olarak bulunan partikül içeren yoğun solüsyonlar %90, %45 olarak human tubal sıvı ile hazırlanır. En yoğun solüsyon en alta konulur ve semen en üste nazikçe konulur ve 15-30 dakika 200 g santrifüğe edilir. En hızlı hareketli sperm bu yoğunluk katmanlarını en hızlı olarak geçer ve tüpün dibindeki yumuşak pellet içinde toplanır. Bu yöntem ayrıca normal morfolojili olan popülasyonu da seçer. Yukarı yüzdürme yöntemi gibi bu yöntemle az ama oldukça motil sperm elde edilir¹²¹. Sperm sayısı çok az olduğunda sadece %90'lık yoğunluk kullanılabilir. İÜİ için 5 çeşit sperm hazırlama tekniğinin karşılaştırıldığı randomize kontrollü bir çalışmada yukarı yüzdürme ve partikül içeren yoğun solüsyonlarla hazırlığın, sadece yıkama, aşağı yüzdürme ve soğutup heparin ile yıkamaya göre anlamlı olarak gebelik oranını artırdığı gösterilmiştir¹²².

2.4.3. İntrauterin İnseminasyonun Zamanlaması

Spermatazoa kadın genital sisteminde 40-80 saat yaşayabilirken, oosit ovulasyondan sonra ancak 12-24 saat yaşamaktadır^{123,124}. WHO'nun analizine göre, ovulasyon LH pikinin başlangıcından ortalama 32 saat sonrasında olmaktadır¹²⁵. Uyarılmış sikluslarda, ovulasyon genellikle hCG enjeksiyonundan 36 saat sonrasında başlamaktadır. Bu nedenle ovülasyon takibi ile muhtemel ovulasyon günü belirlenmelidir. Bu amaçla, en sık olarak transvajinal ultrasonografi ile folikül takibi ve/veya serum veya idrarda LH ölçümleri ile LH eğrisinin saptanması kullanılmaktadır. Doğal ve stimüle sikluslarda ovulasyon ekzojen hCG ile

uyarıldığında İÜİ en iyi başarı için 34-40 saat sonra yapılması önerilmekle birlikte bu konu tartışmalıdır¹²⁶. hCG enjeksiyonunu takiben 34-36 saat sonra İÜİ uygulanan siklusa kıyasla hCG enjeksiyonunun inseminasyon ile eşzamanlı kullanımında gebelik sonuçları açısından fark olmadığı saptanmıştır¹²⁷.

Konsepsiyon oranının en fazla ovulasyondan üç gün öncesi ile, ovulasyon günü arasındaki dönemde olduğu görülmüştür. En fazla gebelik oranı ovulasyon günü yapılan inseminasyonlarda görülmektedir. Ovulasyondan üç gün öncesi ile ovulasyon günü arasındaki dönemde yapılacak iki inseminasyonla ovulasyonu yakalamak mümkündür. Bu nedenle her siklusta 1-3 kez inseminasyon yapan merkezler vardır. Özellikle düzensiz ovulasyonu olan hastalarda daha fazla sayıda inseminasyon gerekebilir¹²⁶.

Bir siklus boyunca yapılan İÜİ sayısının gebelik şansını artırıp, arttırmadığı konusunda farklı çalışmalar bulunmaktadır. Fark olmadığını gösteren çalışmaların yanında, bir siklus içinde iki kez yapılan inseminasyonun gebelik şansını arttırdığını ileri süren çalışmalar da bulunmaktadır¹²⁸. Bir siklusta iki kez İÜİ yapmanın erkek faktör nedeniyle işlemde yararlı olabileceği, açıklanamayan infertilitede bir faydası olmadığı gösterilmiştir¹²⁹. Ancak, ovulasyona yakın olarak iyi zamanlanmış (hCG enjeksiyonundan 32-40 saat sonra) tek inseminasyonun da maliyeti düşüreceği unutulmamalıdır.

Çift İÜİ kullanımını öneren ilk randomize çalışma 1992 yılında yayınlanmıştır¹³⁰. Araştırmacılar hCG sonrası 18. ve 42. saatlerde çift İÜİ yapılan hastalarda gebelik oranını %52, 34. saatte tek İÜİ yapılan hastalarda ise gebelik oranını % 9 olarak saptamışlardır. Daha sonra bu görüşü bir çalışma daha desteklemiştir. Bu çalışmada 12. ve 34. saatlerde yapılan çift İÜİ, 34. saatte yapılan tek İÜİ'ye göre daha yüksek gebelik oranları saptanmıştır¹³¹. Bir başka çalışma ise bu tip uygulamanın bir yararı olduğunu gösterememiştir¹³². Bu üç çalışmayı içeren metaanalizde, çalışmalar arasında heterojenite bulunduğu; çalışmaların aynı çalışma düzeni içinde planlanmadığı, aynı tip çalışma popülasyonlarında uygulanmadığı veya aynı tip tedavilerin aynı koşullarda uygulanmadığı gösterilmiştir.

Ovulasyon indüksiyon yönteminden bağımsız olarak gebelik oranları üçüncü İÜİ siklusundan sonra yarıya düşmektedir. Ancak, bazı Avrupa klavuzları (Danimarka, İngiltere, Galler, Fransa, Hollanda) infertilite nedenine bağlı olarak 3-6 siklus İÜİ önermektedirler¹³³.

2.4.4. İntrauterin İnseminasyonun Tekniği

Hasta jinekolojik muayene masası içeren bir odaya alınır. Bu sırada embriyolog insemine edilecek hazırlanmış spermi içeren ve üzerinde hastanın eşinin adı yazan tüpü sperm analiz raporu ile birlikte hemşireye teslim eder. Hemşire tüpün üzerinde yazan adı, hastaya yüksek sesle okutur. Ardından serviksteeki fazla mukus, serum fizyolojik ile yıkanır ve pamuklu çubuk ile temizlenir. Katetere inseminasyon sıvısı yüklenir ve boşluk kalmayacak kadar sıvı kateter ucuna ilerletilir. Tenekulum uygulanması, serviksin çekilmesi ile hastada ağrıya ve uterusu kontraksiyonlara yol açabileceğinden önerilmez. Gerekirse işlem abdominal probu olan ultrasonografi eşliğinde yapılabilmektedir. Ultrason eşliğinde inseminasyon yapmanın gebelik sonuçlarını etkilemeyeceği gösterilmiştir¹³⁴. Hastanın mesanesinin kısmen dolu olması kateterin daha rahat ilerletilmesini sağlayabilir. Katetere uygun pozisyon verilerek kateter serviks eksternal os hizasından 4-5 cm ilerletilir ve sperm örneği enjekte edilir. Fundusa kateterin değmemesi önerilmektedir, fundustan 2 cm aşağıya inseminasyon yapıldığında ve 0.3 ml hacim kullanıldığında gebelik oranı 3.3 kat artmaktadır¹³⁵.

İntrauterin inseminasyon işlemi için esnek ve rijit kateterler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gösterilmiştir¹³⁶.

2.4.5. İntrauterin İnseminasyonu Sonrası İzlem

Spermiler fallop tüplerine inseminasyondan yaklaşık beş dakika sonra ulaşmaktadırlar¹³⁷. Yaklaşık 500 olguyu kapsayan bir randomize kontrollü çalışmada, İÜİ sonrası 15 dakika boyunca immobilize edilen kadınların gebelik, çoğul gebelik, abortus ve canlı doğum oranları arasında fark olmadığı saptanmıştır¹³⁷. 210 İÜİ siklusunu kapsayan randomize kontrollü çalışmada inseminasyon sonrası hemen mobilize olan olgularla, işlem sonrası 10 dakika supin pozisyonunda istirahat eden olgular karşılaştırılmıştır. İstirahat eden gruptaki hastaların siklus başına gebelik oranı 3 kat daha fazla, kümülatif gebelik oranı ise 2.9 kat daha fazla olarak saptanmıştır¹³⁸.

Hasta inseminasyondan sonra günlük aktivitelerine devam edebilir. Prosedürden sonra relakse olmuş serviks ve sulu servikal mukus nedeniyle oluşan vajinal ıslaklık, sperm numunesinin aktığı anlamına gelmemektedir. Bu konuda hastalar bilgilendirilmelidir. İşlem sonrası karın

ağrısı olabilmekte, hastalara asetaminofen önerilebilmektedir. Hafif tarzda vajinal kanama veya lekelenme oluşabilmektedir.

Randomize kontrollü çalışmalarda İÜİ sonrası vajinal progesteron luteal faz desteğinin, canlı doğum oranını 1.5 kat, gonadotropin kombine İÜİ sikluslarında bu oranın 1.7 kat arttırdığı saptanmıştır. Klomifen sitrat ile stimüle edilen siklularda luteal destek olarak progesteronun yararı gösterilmemiş olup, luteal faz süresi 10 günden az olan kadınlarda luteal faz desteği olarak vajinal progesteron verilmesinin faydası olduğu düşünülmektedir¹³⁹. Vajinal progesteron ile luteal faz desteği, oral, rektal, intramusküler uygulama ile karşılaştırıldığında, vajinal progesteron tedavisi alan grupta gebelik oranının daha yüksek olduğu gösterilmiştir¹⁴⁰.

Çiftler, İÜİ'dan sonra cinsel ilişkiye girebilirler. Bununla birlikte, klomifen sitrat veya gonadotropinlerden kaynaklanan overlerin genişlemesi nedeniyle pelvik rahatsızlığı olan hastalar cinsel ilişkiden kaçınmalıdırlar. İÜİ'dan iki hafta sonra idrar veya serum gebelik testi yapılır. Hasta ovulasyon tetikleme için hCG tedavisi aldıysa, hastaya, idrar veya serum gebelik testinin, enjeksiyondan sonraki 12 güne kadar pozitif kalacağını bildirmek gerekmektedir.

2.4.6. İntrauterin İnseminasyonunun Komplikasyonları

a) Uterus kontraksiyonlarında artış

Aşırı uterin kontraksiyonlar %5-20 oranında görülmektedir. Nadiren hipotansiyon, bradikardi ve senkop gibi vagal olaylarla birlikte görülebilir. Bunun nedeni seminal prostaglandinlerdir. Vazovagal komplikasyonların önlenmesinde 0.4- 0.6 mg atropin (im/iv) yararlı olmaktadır. Sadece Trendelenburg pozisyonu da vazovagal semptomların gerilemesi için yeterli olabilmektedir¹²⁶.

b) Pelvik enfeksiyon

İntrauterin inseminasyonu sonrası bildirilen klinik pelvik enfeksiyon oran düşüktür (0.16/1000). Ancak, üreme yaşamları boyunca kadınların genel nüfusunda rapor edilenlerden yaklaşık %40 daha yüksektir. İlişkili bir risk faktörü olmadığı sürece antibiyotik profilaksisi işlem öncesinde önerilmemektedir¹⁴¹.

c) Antisperm antikorlarında artış

İntrauterin inseminasyon işlemi sırasında ve sonrasında antisperm antikorlarında artış olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Çünkü, İUI sırasında normal koitusa oranla daha fazla sayıda spermin kadın genital sistemine ulaşması nedeni ile teorik olarak immünizasyonun artması beklenir. İUI öncesi ve sonrasında antisperm antikorları karşılaştıran bir çalışmada olguların yaklaşık %6'sında antisperm antikor artışı saptanmış olup, bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır¹⁴¹.

d) Çoğul gebelik

Çoğul gebelik insidansı, yardımcı üreme teknolojisinin yaygın olarak benimsenmesinden sonra önemli ölçüde artmıştır. Multifetal gebelikler, tekil gebeliklerden daha yüksek maternal, fetal ve neonatal komplikasyon riski taşımaktadır. Çoğul gebeliklerin %20'si spontan gebeliklerde, %80'i yardımcı üreme teknikleri ile elde edilen gebeliklerdir¹⁴².

Preovulatar folikül sayısı arttıkça, gebelik oranları ile birlikte çoğul gebeliklerin sayısında da paralel bir artış görülmektedir. Çoğul gebelikleri engelleyebilmek için, genel olarak, 3 veya daha fazla preovulatar folikül oluşan siklularda, İUI siklusunun iptal edilmesi ve mümkünse IVF'e geçilmesi önerilmektedir¹⁴³. Ülkemizdeki Sağlık Bakanlığı Üremeye Yardımcı Tedavi Yöntemleri Yönetmeliği'nde aynı öneriler ve kurallar mevcuttur.

f) Ovaryan hiperstimülasyon sendromu

Ovaryan hiperstimülasyon sendromu (OHSS), ekzojen gonadotropin tedavisi sonucu ovaryan büyüme ile birlikte bir klinik semptom kompleksidir. OHSS, overlerin stimulan ajanlar ile aşırı uyarılması ya da nadiren stimülasyon esnasında folikül uyarıcı hormon reseptöründeki mutasyonlar nedeniyle hiperstimüle olması ile ortaya çıkmaktadır¹⁴⁴. OHSS, yardımcı üreme tekniklerinde kullanılan kontrollü yumurtalık hiperstimülasyonunun en ciddi komplikasyonudur¹⁴⁵.

Spontan ovulasyon döngüsünde, hipotalamik-hipofiz-ovaryan geri bildirim mekanizmaları folikül seçilimini az sayıda erken antral folikülle sınırlandırır, bunu takiben midsiklus LH dalgalanmasına yanıt olarak ovule olan tek bir dominant folikül seçilmektedir. Menstrüel siklusta görülen geri bildirim mekanizmaları ile oluşturulan denge, ekzojen gonadotropinlerin ve ardından hCG uygulanmasıyla bozulduğunda, OHSS ortaya çıkmaktadır¹⁴⁶.

Ovaryan hiperstimülasyon sendromunun sıklığı, klinik duruma ve OHSS için kullanılan sınıflandırma kriterlerine bağlıdır. En şiddetli OHSS formu nadir olmakla birlikte, infertilite tedavisi gören olgularda potansiyel olarak ölümcül bir sonuçla birlikte iyatrojenik bir komplikasyonu temsil etmektedir.

İnsan koryonik hormonu (hCG) uygulamasından sonraki ilk 8 gün içinde başlayan OHSS formu "erken" OHSS olarak tanımlanmaktadır. Genellikle hafif veya orta derecedir. hCG uygulamasından en az 9 gün sonra başlayan OHSS formu "geç" OHSS olarak tanımlanmaktadır. Geç OHSS genellikle daha şiddetlidir çünkü; gebelikle birlikte artan serum hCG seviyesi OHSS'nin seyrini şiddetlendirmektedir¹⁴⁷.

Semptomlar; karın ağrısı, distansiyon, asit, sindirim ve solunum sistemi bozuklukları, oligüri, hemokonsantrasyon ve tromboembolizmi kapsayabilmektedir. Bu semptomlar, ovulasyon indüksiyonu sırasında veya ekzojen ovaryan stimülasyon aracılığıyla oluşan erken gebelik sırasında gelişebilir^{145,148}.

Ovaryan hiperstimülasyon sendromu için predispozan faktörler; genç yaş¹⁴⁹, düşük VKİ¹⁵⁰, önceden OHSS geçirmiş olmak^{151,152}, PKOS (6.8 kat)¹⁵³, bazal serum AMH > 3.3 ng/mL¹⁵⁴, antral folikül sayısının 8'den fazla olması¹⁵⁴, foliküler büyümede rol oynayan genlerdeki tek nükleotid polimorfizmleri, çapı 10 mm'den büyük 20'nin üzerinde folikül varlığı, preovulatuvar serum östradiol konsantrasyonunun >3500 pg/mL olması¹⁵⁵, yumurta toplama işlemi 30'dan fazla oosit toplanması¹⁵⁵, luteal faz desteği için hCG verilmesi¹⁵⁶, serum ve/veya foliküler düzeyde saptanan yüksek vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) değerleri ve gebelik durumudur¹⁵⁷⁻¹⁵⁹.

İntravasküler alandan üçüncü boşluğa masif sıvı kayması; ödem, asit, hidrotoraks ve/veya perikardiyal efüzyonun gelişmesiyle birlikte intravasküler hipovolemiye neden olmaktadır. Kardiyak, renal, pulmoner ve karaciğer fonksiyon bozukluklarına neden olacak kadar ciddi bir süreci içerebilmektedir.

Artmış damar geçirgenliğine, korpus luteum tarafından üretilen vazoaktif maddeler neden olmaktadır¹⁶⁰. Periton boşluğuna büyük miktarda VEGF içeren foliküler sıvının ve perifoliküler kanın kaçışı, bu sıvının genel vasküler yatak tarafından emilmesi sonucu sadece overlerde değil tüm vücut damarlarında; plazma, protein, elektrolit kaybına ve sonuçta hemokonsantrasyona neden olan geçirgenliğin artışı saptanmıştır¹⁴⁷. Hiperkoagulabilite, konsantrasyon sonrası

oluşan hiperviskozite ile ilişkili veya yüksek östrojen düzeyleri sonucu görülen artmış koagülasyon faktörlerine sekonder olabileceği gösterilmiştir¹⁶¹.

Gonadotropin stimülasyonuna over cevabının derecesi ne olursa olsun, hCG'nin ovulatuvar bir dozu verilmedikçe OHSS oluşması beklenmemektedir. Ekzojen hCG, vasküler geçirgenliği artıran VEGF gibi vazoaaktif maddelerin üretimine yol açan granüloza hücrelerinin masif luteinizasyonunu indüklemektedir¹⁶²⁻¹⁶⁴. Bu gibi masif luteinizasyon genellikle, oosit olgunlaşmasının son aşamaları, hCG (örneğin; GnRH agonistleri) dışındaki ilaçlarla elde edildiğinde gözlenmemektedir. hCG 'nin endojen LH'a göre yarı ömrünün altı kat daha uzun olması bu etkiye neden olmaktadır^{160,165}.

Ovaryan hiperstimülasyon sendromu gelişiminde, VEGF'nin temel rol oynadığı düşünülmektedir¹⁶⁶⁻¹⁶⁸. VEGF, proliferasyonu ve anjiyogenezi indükleyen, doğrudan endotelial hücreler üzerinde etkili olan heparin bağlayıcı proteinlerin ailesinin bir üyesidir. VEGF, haberci ribonükleik asit (mRNA) ve protein, foliküler gelişimde ve ovulasyondan sonra granüloza ve teka hücreleri tarafından salgılanmaktadır. Şiddetli OHSS'li olgularda, asit sıvısı ile ilgili yapılan çalışmalarda, VEGF'nin majör kapiller permeabilite ajanı olduğunu göstermiştir¹⁶⁹. VEGF serum konsantrasyonları, OHSS gelişme riski ve formunun şiddeti ile pozitif ilişkilidir¹⁷⁰⁻¹⁷². İnsanlarda hCG uygulamasından sonra granüloza hücrelerinde VEGF reseptörü 2'nin (VEGFR-2) varlığı doğrulanmıştır¹⁷³.

Vasküler endotelial büyüme faktörü ve vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü-2 (VEGF ve VEGFR-2) kompleksinin vasküler geçirgenliği arttırdığı basamaklar hakkında çok az şey bilinmektedir ancak, endotelial hücre-hücre kavşaklarında rol oynayan başka potansiyel alt elemanların rol oynayabileceği düşünülmekte ve bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır^{174,175}.

Yardımcı üreme teknikleri içinde, %20-33 oranında hafif OHSS, %3-6 oranında orta OHSS ve %0,1-2 oranında şiddetli OHSS saptanmıştır¹⁷⁶.

Ovaryan hiperstimülasyon sendromu semptomların, belirtilerin ve laboratuvar bulgularının şiddetine göre dört aşamada sınıflandırılabilir^{156,158} (Tablo 3).

Tablo 3. Klinik ve biyokimyasal bulgulara göre OHSS sınıflandırılması¹⁷⁷

	Klinik Bulgular	Biyokimyasal bulgular
Hafif OHSS	✓ Karın ağrısı ve/veya şişkinlik hissi ✓ Bulantı ve/veya kusma ✓ Diare ✓ Çapı genişlemiş overler	✓ Nonspesifik değerler
Orta OHSS	Hafif şiddetli OHSS klinik bulgularına ek olarak, ✓ Ultrason ile asit saptanması	✓ Hct > %41 ✓ WBC (>15,000/microL) ✓ Hipoproteinem
Şiddetli OHSS	Hafif ve orta şiddetli OHSS klinik bulgularına ek olarak, ✓ Ultrason ile saptanan asitin semptomatik hale gelmesi ✓ Yaygın karın ağrısı ✓ Çok şiddetli bulantı ve kusma ✓ 24 saat içinde 1 kg'dan fazla kilo kaybı ✓ Plevral efüzyon ✓ Çok şiddetli dispne ✓ Oligüri/Anüri ✓ Hipotansiyon ✓ Senkop ✓ Venöz tromboz	✓ Hct >55% ✓ WBC>25,000/microL ✓ Serum kreatin >1.6 mg/dL ✓ Kreatin kleransi <50 mL/min ✓ Hiponatremi (Na⁺<135 mEq/L) ✓ Hiperkalemi (K >5 mEq/L) ✓ Karaciğer fonksiyon testlerinin bozulması
Çok şiddetli OHSS	Şiddetli OHSS klinik bulgularına ek olarak, ✓ Anüri ✓ Akut böbrek yetmezliği ✓ Aritmi ✓ Perikardiyal efüzyon ✓ Yaygın hidrotoraks ✓ Tromboemboli ✓ Arteriyel tromboz ✓ ARDS ✓ Sepsis	✓ Şiddetli OHSS ile görülen biyokimyasal bulguların kötüleşmesi

OHSS: Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu, Htc: Hematokrit, WBC: Beyaz kan hücresi, Na: Sodyum, K: Potasyum, ARDS: Akut Respiratuar Distres Sendromu

Ovaryan hiperstimülasyon sendromu vakalarının çoğu hafif veya orta düzeydedir ve ayaktan tedavi şeklinde yönetilebilmektedirler. Bu vakalar kendini sınırlandırmaktadır ve semptomları hafifletmek amacıyla konservatif olarak yönetilebilmektedirler. Hafif OHSS için analjezikler (nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar yerine asetaminofen) ve ağır fiziksel aktiviteden kaçınma önerisi genellikle yeterli olmaktadır. Hastaların semptomlarının kötüleşmesi (oligüri, abdominal distansiyon, nefes darlığı veya kilo alımı [sıvı birikimi belirtisi]) açısından dikkatli olunmalıdır.

Hafif ovaryan hiperstimülasyon sendromu, özellikle gebelik meydana geldiğinde, orta veya şiddetli hale gelebilir. Bu nedenle, hafif OHSS olgularında, karın ağrısının kötüleşmesi, kilo alımına (1 kg/gün) dikkat edilmelidir.

Orta ovaryan hiperstimülasyon sendromu olgularında, oral yoldan sıvı alımı günde 1-2 litre olarak sınırlandırılmalıdır. İntravasküler volüm azalmış olabileceği için diüretikler kontrendikedir. Cinsel ilişkiden kaçınılması, fiziksel aktivitenin kısıtlanması ve yatak istirahati hastalara önerilmelidir. Günlük vücut ağırlığı ölçümü, karın çevresi ölçümü ve çıkan idrar miktarının takibi yapılmalıdır. Her 48 saatte bir olmak üzere; tam fizik muayene, transvajinal ultrason, tam kan sayımı, serum elektrolit düzeyi, serum albümin, kreatinin ve karaciğer fonksiyon testlerinin değerlendirilmesi yapılmalıdır.

Gebelik saptanan OHSS olgularında, endojen hCG'nin yükselen seviyeleri şiddetli semptomlara yol açmaktadır. Bu nedenle, bu olgular daha yakından takip edilmelidirler¹⁷⁸.

Transabdominal parasentez veya cul-de-sac'dan gelen asit sıvısının ultrason eşliğinde transvajinal aspirasyonu semptomatik rahatlama sağlamaktadır^{179,180}. 19 OHSS olgusunu içeren bir çalışmada, 2000 ml asit aspirasyonundan sonra, olguların intraabdominal basınç ve renal arter direncinde azalma saptanmış, bu bulguları idrar çıkışındaki artış izlemiştir. 4000 ml'den fazla sıvının batin içinden aspirasyonu önerilmemektedir¹⁸¹.

Orta ovaryan hiperstimülasyon sendromu riski olan olgular için, hCG uygulama günü veya oosit toplama günü başlamak üzere, dopamin agonisti olan kabergolin (0.5 mg/gün/peroral) tedavisi ile OHSS önemli ölçüde azaltılabilir¹⁸²⁻¹⁸⁵.

Şiddetli ve çok şiddetli OHSS olguları, destekleyici bakım ve komplikasyonların önlenmesi açısından mutlaka hospitalizasyon ile takip edilmelidir. Şiddetli ve çok şiddetli hiperstimülasyonun medikal tedavisi, intravasküler kan hacminin korunmasına yöneliktir. Olgularda, izotonik kristalloid solüsyonlar (normal serum fizyolojik, ringer laktat) tipik olarak intravenöz hidrasyon için kullanılsa da, bazı klinisyenler kritik düzeyde intravasküler hacmi azalmış olgularda intravenöz albümin tedavisine başvurumaktadırlar¹⁸⁶. Bununla birlikte çalışmalar göstermiştir ki, intravenöz albümin tedavisi, kristalloid solüsyonlarla karşılaştırıldığında morbidite açısından ek yarar sağlamamaktadır¹⁸⁷.

Yapılan bir çalışmada, şiddetli OHSS gelişen IVF gebelikleri ile OHSS gelişmemiş IVF gebelikleri karşılaştırılmış, şiddetli OHSS gelişen grupta diğer gruba göre erken hafta gebelik kaybının 2 kat, gestasyonel diyabetin 4 kat ve gestasyonel hipertansiyonun 1.5 kat daha fazla olduğu saptanmıştır¹⁸⁷.

Klomifen sitrat veya aromataz inhibitörleri ile stimüle edilen intrauterin inseminasyon olgularında, gonadotropin kombine intrauterin inseminasyon olgularına göre yaklaşık üç kat daha az OHSS komplikasyonu saptanmıştır¹⁹⁰.

İn vitro fertilizasyon siklularında şiddetli OHSS insidansı %0.5-5 olarak bildirilmiştir¹⁹¹.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), tüm stimülasyon protoklleri göz önüne alındığında şiddetli OHSS insidansını %0,2-1 olarak bildirmiştir¹⁹².

Gonadotropin kombine intrauterin inseminasyon siklusları ile IVF sikluslarının karşılaştırıldığı randomize kontrollü çalışmada, intrauterin inseminasyon siklularında OHSS komplikasyonuna rastlanmazken, IVF sikluslarında bu oran % 3.7 olarak bildirilmiştir¹⁹³.

Aromataz inhibitörleri, klomifen sitrat veya gonadotropin ile indüklenmiş 8893 intrauterin inseminasyon siklusunu kapsayan retrospektif bir çalışmada, hiçbir siklusta OHSS saptanmamıştır¹⁹⁴.

976 gonadotropin kombine intrauterin inseminasyon siklusunu içeren çalışmada saptanan OHSS oranı %1.22 olarak bildirilmiş ve hiçbirinin şiddetli OHSS sınıfında olmadığı vurgulanmıştır¹⁹⁵.

Ovaryan hiperstimülasyon sendromu açısından risk altında olan olgularda, düşük hCG dozlarının, granüloza hücreleri tarafından VEGF sekresyonunu azaltarak daha düşük OHSS riskleri ile ilişkili olacağı varsayılmıştır^{196,197}. Retrospektif bir çalışma¹⁹⁸ ve sistematik bir derleme¹⁹⁹ dahil olmak üzere bugüne kadarki kanıtlar, hCG dozunun 2500 ila 3300 uluslararası ünite birimine (IU) kadar düşürülmesinin, benzer oosit matürasyonu ile sonuçlandığını düşündürmektedir. Oosit matürasyonu için standart 5000-1000 IU dozunun azatılmasının gebelik sonuçlarını etkilemediği gösterilmiştir. Tetikleme dozunun OHSS riskini ne kadar etkilediğinin ortaya koyulması için daha çok çalışmaya ve olguya ihtiyaç duyulmaktadır.

Ovaryan hiperstimülasyon sendromu riski, rekombinant luteinizan hormon (r-LH), rekombinant insan koryonik hormonu (r-hCG) ve idrar hCG tetiklemesi yapılan olgularda benzer riskte saptanmıştır. Rekombinant hCG, intramüsküler yoldan uygulanan idrar hCG'sine karşı, subkutan olarak uygulanabilen, hCG'nin daha saf bir preparasyonudur. OHSS riski iki preparasyonda benzer saptanmıştır²⁰⁰. r-LH'nin biyolojik yarı ömrünün yaklaşık 10 saat, idrar hCG preparatlarının biyolojik yarı ömrü 24-36 saattir. Bu nedenle, OHSS riskinin r-LH ile daha düşük olabileceği düşünülmüştür. Bununla birlikte, r-LH ve idrar hCG'yi karşılaştıran üç çalışmadan toplanan veriler sonucunda, gebelik ve OHSS oranları benzer saptanmıştır. IVF sikluslarında, son oosit matürasyonunun eldesinde hiçbir farklılık göstermediği tespit edilmiştir²⁰⁰.

Kontrollü ovaryan stimülasyon sikluslarının GnRH agonisti ile tetiklenmesi hem LH hem de FSH konsantrasyonlarında endojen bir artışa neden olmaktadır ve oosit maturasyonunu etkili bir şekilde gerçekleştirmektedir²⁰¹⁻²⁰⁴. Taze IVF sikluslarını değerlendiren metaanalizde, son oosit matürasyonu için hCG tetiklemesi ile GnRH agonist tetiklemesi karşılaştırılmış, GnRH agonist ile tetiklenen sikluslarda OHSS daha az oranda saptanmıştır²⁰⁴. IVF olgularında tetikleme için, subkutan 0.5-1 mg leuprolide asetat veya subkutan 0.1 ila 0.2 mg triptorelin asetat uygulanması Kanada Kadın Hastalıkları ve Jinekologları Derneği'nce önerilmektedir²⁰⁵.

Bazı olgularda, OHSS, ovulasyon indüksiyonu ve IVF dışında gerçekleşmektedir. Bu olgularda OHSS, endojen gonadotropinlerin veya gonadotropin benzeri moleküllerin fazla miktarda üretilmesinin veya endojen gonadotropinlere karşı artmış duyarlılığın (folikül uyarıcı hormon reseptör mutasyonları) sonucu olabilmektedir²⁰⁶⁻²¹². Nadiren, ekzojen gonadotropin uygulamasının haricindeki etkenler nedeni ile ciddi OHSS formları görülebilmektedir¹⁵².

İn vitro fertilizasyon için gonadotropin stimölasyon tedavisinden dört-beş hafta önce başlanan metformin tedavisinin OHSS riskini azalttığı saptanmıştır. Sekiz çalışmayı içeren 798 kadını kapsayan bir metaanalizde, metformin ön tedavisi plaseboya kıyasla OHSS riskini 2 kat azaltmıştır^{213,214}. Metaanalizde her iki grubun canlı doğum oranları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir.

Luteal faz desteği için hCG yerine progesteron uygulaması daha düşük OHSS riski ile ilişkilidir. Luteal faz progesteron ve hCG rejimlerini karşılaştıran yedi çalışmanın bir metaanalizinde, OHSS riski progesteron uygulanan grupta anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır (OR 0.45,% 95 CI 0.26-0.79)¹⁹⁶.

Tromboembolizm seyrek olmakla birlikte, OHSS'nin en ciddi komplikasyonları arasındadır. Trombozlar arteriyel (% 25) veya venöz (%75) olabilir. Kalıcı nörolojik yaralanma veya ölüme yol açabilmektedir²¹⁵⁻²¹⁷.

Ovaryan hiperstimölasyon sendromunun tromboembolik komplikasyonları, internal juguler, subklavyen, aksiller ve mezenterik damarlarda saptanmıştır^{218,219}. Yapılan bir çalışmada, 7-10 hafta IVF gebelik olan beş olguda internal juguler ven trombozu saptanmış olup, bu olguların ikisinde OHSS saptanmamış ancak altta yatan bir trombofili bozukluğu saptanmış, üçünde ise altta yatan trombofili bozukluğu saptanmamış ancak şiddetli OHSS tespit edilmiştir²²⁰.

Tromboembolik komplikasyonlar nadirdir, bu nedenle over stimölasyon tedavisi planlanan tüm kadınlarda trombofili için rutin tarama yapılmasını önerilmemektedir. Altta yatan bir trombofili bozukluğu (örn., Antitrombin III eksikliği, faktör V mutasyonu ve protein C veya S eksikliği), >35 yaş, obezite, immobilizasyon, ailede tromboz öyküsü olan kadınlara, tromboembolik komplikasyonları önlemek için, ovulasyon indüksiyonu tedavisi başlamadan önce profilaktik doz heparin tedavisi önerilmektedir²²¹. Subkutan düşük molekül ağırlıklı heparin her 12 saatte 20 mg veya subkutan heparin her 12 saatte bir 5000 IU profilaktik doz olarak önerilmektedir¹⁷⁹.

Ovaryan hiperstimölasyon sendromunda artan over boyutu nedeniyle, over torsiyonu riski de artmaktadır. Bu komplikasyon overlerin boyutlarının artması, karın ağrısı, bulantı, kusma, hipotansiyon, ilerleyici lökositoz ve anemi ile karakterizedir. 154 olgu, 201 hiperstimüle sikulsu içeren bir çalışmada, 201 siklusun 75'inde gebelik saptanmıştır. Gebelik saptanan olguların 12'sinde (%16), gebelik saptanmamış olguların 3'ünde (%2.3) torsiyonun klinik bulgusu

saptanmıştır²²². Genel olarak adneksiyal torsiyonun insidansı kesin olarak bilinmemektedir. Yapılan bir çalışmada 10 yıl içinde akut batın tablosu ile acil servise başvuran kadın olguların %2.7'sinin adneksiyal torsiyon nedeni ile operasyon geçirdiği saptanmıştır²²³.

2.5. Menstrüel Siklus ve Ovulasyonun Fizyolojisi

Menstrüel siklus, hipofizer ve gonadal hormonların aktivatör ve inhibitör etkenleri ile sıkıca denetlenen, yüzbinlerce primordial oosit içinden tek bir matür oositin seçilmesinin hedeflendiği bir süreçtir. Menstrüel siklus 24-38 gün arasında sürmektedir. Menstrüasyonun ilk günü siklusun ilk günü olarak kabul edilir. Foliküler ve luteal faz olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Foliküler faz menstrüasyon ile başlar, LH pikine kadar devam eder ve ortalama 14-21 gün sürmektedir. Luteal faz ise LH piki ile başlar, bir sonraki menstrüel siklusun ilk günü sona erer ve 14 günde tamamlanmış olur²²⁴. Foliküler fazın amacı ovulasyonun gerçekleşeceği folikülü preantral, antral ve preovulatar aşamalardan geçirerek olgunlaştırmaktır. Ovule olacak folikül siklusun ilk birkaç günü içinde belirlenmektedir²²⁵. Foliküler gelişimin ilk görülen belirtisi oosit boyutunda artış ve granüloza hücrelerinin küboidal şekle dönüşmesidir. Primordial folikülün gelişimi birçok etken tarafından denetlenmektedir. Transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β) ailesinden aktivinler ve kemik morfogenezik proteinler (BMP) foliküler gelişimi uyarırken, inhibitörler ve AMH inhibe etmektedir²²⁶. Nörotropin ailesinden sinir büyüme faktörü (NGF), beyin kaynaklı nöroprotektif faktör (BDNF) ve nörotropin 3'ün granüloza hücrelerinde FSH reseptörlerini arttırdığı gösterilmiştir²²⁷. Granüloza hücrelerinin çoğalması ile primordial folikül primer foliküle dönüşmektedir. Granüloza tabakası bazal lamina ile stromal hücrelerden ayrılır. Stromal hücreler teka interna ve eksterna olarak farklılaşır. Folikül büyümeye devam ettikçe oositin etrafı zona pellucida adı verilen bir zarla çevrilir ve preantral folikül haline gelir. Preantral evreye gelene kadar granüloza hücrelerinde FSH reseptörleri bulunmaktadır^{228,229}. Erken foliküler fazda östrojen ve progesteron düzeyleri düşük olduğundan GnRH salınım frekansı artmakta ve FSH salınımını tetiklemektedir²³⁰. FSH ise granüloza hücrelerine etki ederek östrojen salınımını arttırmaktadır. Artan östrojen ve FSH sinerjik etki ile granüloza hücrelerinde mitotik aktiviteyi ve FSH reseptör sayısını arttırmaktadır. Granüloza hücrelerinin arasına sıvı birikiminin olması ile preantral folikül antral foliküle dönüşür²³¹. Preantral ve antral foliküllerde LH reseptörleri sadece teka hücrelerinde, FSH reseptörleri de sadece granüloza hücrelerinde bulunmaktadır. LH uyarısı ile teka hücrelerinde androjen sentezi olmakta, bu androjenler granüloza hücrelerine geçerek FSH etkisi ile östrojene dönüşmektedir (iki hücre-iki gonadotropin teorisi)²³². FSH varlığında folikül sıvısındaki ana madde östrojendir.

Normalde midsiklusa kadar folikül sıvısında LH bulunmamaktadır. LH erken olarak artarsa granüloza hücrelerinde mitotik aktivite azalmakta, androjen üretimi artmakta ve folikülde dejeneratif değişiklikler olmaktadır. Yüksek östrojen düşük androjen içeren foliküllerin sağlıklı oosit barındırma ihtimal en yüksektir²³³. Östrojenin baskın olduğu folikül, ovulasyonu sağlayacak olan dominant foliküle ilerlemekte ve istisnalar dışında her siklusta bunu bir folikül gerçekleştirmektedir²³⁴. Artan östrojen miktarı, dominant foliküldeki FSH reseptör sayısını ve duyarlılığını arttırmakta, granüloza hücrelerinden salının inhibin B ile birlikte, hipotalamo-hipofizer aksı etkileyerek FSH salgısını azaltmaktadır²³⁵. Böylece diğer az gelişen foliküller, FSH desteğinde azalma ve androjenik mikroçevreye dönüşümdeki artış nedeni ile atreziye uğrayacaklardır²³⁶. AMH, erken primordial foliküllerde saptanmakta olup küçük antral foliküllerde en yüksek düzeye ulaşmaktadır²³⁷. AMH, parakrin aktivite ile FSH ile uyarılmış foliküllerin büyümesini inhibe etmekte, böylece küçük foliküllerin büyümesini baskımlarken dominant folikülün gelişmesine izin vermektedir. Böylece AMH düzeyi büyüyen folikül sayısını göstermekte; over rezervini gösteren bir parametre olarak kullanılabilir. AMH düzeyleri, gonadotropinlerden veya seks steroidlerden etkilenmediği için siklusun herhangi bir gününde bakılabilir^{238,239}. Ovulasyonun gerçekleşebilmesi ve korpus luteum oluşabilmesi için granüloza hücrelerinin LH reseptörlerine sahip olması gerekmektedir. Yüksek östrojen düzeyleri ve FSH etkisi ile granüloza hücrelerinde LH reseptörleri artırılmaktadır²⁴⁰. Folikül büyüdükçe preovulatar foliküle dönüşmekte ve östrojen üretimi artmaktadır. Geç foliküler faz boyunca östrojen düzeyi devamlı olarak artmakta ve ovulasyondan yaklaşık 24-36 saat önce en üst seviyesine ulaşmaktadır²⁴¹. LH etkisi ile granüloza hücrelerinde luteinizasyon ve progesteron yapımı başlamaktadır. Progesteron, östrojenin pozitif feedback etkisi LH pikini sağlamaktadır^{242,243}. Dominant folikül, LH pikinden 6-9 gün önce saptanmaktadır, günde yaklaşık 2 mm büyüyerek 20-25 mm'ye ulaşmakta ve ovule olmaktadır^{242,243}.

Preovulatar folikül, östradiolün etkisi ile kendi ovulatar uyarısını sağlamaktadır. Yüksek düzey östradiol pozitif feedback etki göstererek LH pikine neden olmaktadır. Ovulasyon LH pikinden yaklaşık 10-12 saat sonra, östradiolün pik düzeylere ulaşmasından sonra yaklaşık 24-34 saat sonrasında gerçekleşmektedir¹²⁵. LH piki, yaklaşan ovulasyonun en güvenilir belirtici olarak görülmekte ve oosit olgunlaşmasının tamamlanabilmesi için eşik konsantrasyonu 14-27 saat sürdürebilmesi gerekmektedir²⁴⁴. LH artışı genellikle 48-50 saat kadar sürmektedir²⁴⁵.

Luteinizan hormonun (LH) ani artışı oositteki mayozun yeniden başlamasını, granüloza hücrelerinin luteinizasyonunu, progesteron üretimini, folikül rüptürü için gerekli prostaglandin

ve diğ er maddelerin salınımını sağlamaktadır. Siklik adenozin monofosfat (cAMP) düzeylerinde artış, oosit matürasyon inhibitörü (OMI) ve luteinizasyon inhibitörünün miktarını azaltmaktadır. Granüloza ve teka hücrelerinden gonadotropinin ani artışına yanıt olarak plazminojen aktivatörünün üretimi uyarılmaktadır. Folikül sıvısındaki plazminojen plazmine dönüşmekte, plazmin de aktif kollajenaz oluşturarak folikül duvarının yıkılmasına neden olmaktadır. Bu nedenle infertil olgulara prostaglandin sentez inhibitörlerinin kullanılması önerilmemektedir²⁴⁶.

Ovulasyondan sonra granüloza hücreleri büyümeye devam etmektedir. Lutein olarak bilinen sarı pigment birikimi ile karakterize korpus luteum oluşmaktadır. LH'a cevap olarak VEGF sentezlenmektedir. Korpus luteumun vaskülarizasyonu artar ve ovulasyondan sonraki 8-9. günde en üst seviyesine çıkmaktadır^{247,248}. Progesteron düzeyleri ovulasyondan sonra hızlıca artarak midluteal dönemde en yüksek düzeylere ulaşmaktadır. Gonadotropinleri baskılayarak yeni folikül gelişimi önlenmektedir. Serum leptin düzeyleri de luteal faz döneminde en yüksek seviyeye ulaşmaktadır²⁴⁹. Ovum fertilizasyonu gerçekleşirse, salınan hCG korpus luteumun devamlılığını sağlamaktadır ve progesteron üretimini devam ettirmektedir. Fertilizasyon gerçekleşmediği takdirde salınan prostaglandin F2 alfa, nitrik oksid (NO), matriks metalloproteinazları nedeni ile korpus luteum yıkılır ve ovulasyondan 9-11 gün sonra küçülmeye başlanmaktadır^{250,251}. Korpus luteumun gerilemesi nedeni ile dolaşımdaki östradiol, progesteron ve inhibin düzeyleri en alt seviyelere inmektedir. İnhibin A'nın azalması ile FSH üzerindeki, östradiol ve progesteron düzeylerinin azalması ile de GnRH üzerindeki negatif feedback ortadan kalkmaktadır. Böylece luteal fazdan tekrar foliküler faza geçilmekte ve yeni menstrüel siklus başlanmaktadır^{230,252}.

2.6. Ovulasyon İndüksiyonu

Her ne kadar günümüzde sıradan bir uygulama olsa da anovulatuvar kadınlarda ovulasyonu indüklemek ve onların gebe kalmasını sağlamak reproduktif endokrinolojinin sağladığı en büyük başarılarıdır. Klomifen sitrat ile başlayan ovulasyon indüksiyonu süreci, foliküler gelişimi ve direk olarak ovulasyonu indüklemek için kullanılan ajanlarla devam eden geniş bir yelpaze halini almıştır.

Ovulatuvar bozukluklar infertilite şikayeti ile başvuran çiftlerin %18-25'inde tanımlanmaktadır³¹. Düzensiz, önceden tahmin edilemeyen aralıklarla veya sık olarak adet gören kadınlarda zaten aşık olan bir durum için özgün testlerin uygulanmasına gerek olmamaktadır. Anovulasyon belirsiz ise, bazal vücut sıcaklığı veya zamanlanmış progesteron ölçümü klinik şüpheleri doğrulayabilecek kanıtlar sunabilmektedir. Midsiklus LH artışını gösteren üriner LH testi ve seri transvajinal ultrasonografik muayeneler özellikle ovulasyonun başarıyla sağlandığı durumları göstermek için kullanılmaktadır; ancak ovulasyonun kesin tanısını koyamamaktadırlar.

Anovulasyonun nedenleri çok çeşitlidir. Tiroid hastalıkları, hiperprolaktinemi, adrenal hastalıklar, hipofizer ve ovaryan tümörler, yeme bozuklukları, aşırı kilo kaybı, aşırı egzersiz, PKOS ve obezite anovulasyon ile ilişkili durumlardır. Tedavi edilmemesi durumunda uzun dönemde ciddi sağlık problemlerini yol açmaktadırlar. Bu nedenle, her anovulatuvar kadına tedaviye başlamadan önce uzun dönem sağlık riskleri açısından en azından öncü değerlendirme mutlaka yapılmalıdır.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflamasına göre ovulatuvar bozukluklar 4 grupta incelenmektedir²⁵³:

1) WHO Grup I: Hipogonadotropik hipogonadizmli ovulatuvar bozukluk

Bu sınıf stres, kilo kaybı, egzersiz, yeme bozuklukları, Kallman Sendromu ve izole gonadotropin defektini içeren hipotalamik amenoreyi kapsamaktadır. Bu hastalarda hipogonadotropik hipogonadizm mevcuttur.

Folikül stimüle edici hormon (FSH) ve östrojen düzeyleri düşüktür; prolaktin (PRL) düzeyleri normaldir.

2) WHO Grup II : Normogonadotropik normogonadizimli ovulatuvar bozukluk

En sık neden PKOS' dur.

Normal sınırlarda FSH, östrojen ve prolaktin konsantrasyonlarına sahiptirler.

3) WHO Grup III: Hipergonadotropik hipogonadizimli ovulatuvar bozukluk

Bu grup ovarian yetmezlik olduğunu göstermekte olan amenore ve yüksek FSH konsantrasyonlu kadınları içermektedir

4) WHO Grup IV: Hiperprolaktinemi ile seyreden ovulatuvar bozukluk

1) Hipogonadotropik hipogonadizm

Hipogonadotropik hipogonadizmin hipotalamik nedenleri fonksiyonel hipotalamik amenore (FHA) ve izole GnRH eksikliğini içermektedir. Yeme bozuklukları (anoreksiya nervoza gibi), egzersiz ve stres de dahil olmak üzere FHA'nın patogeneze bir çok faktör katkıda bulunabilir²⁵². Anovulatuvar kadınların %5-10'unu oluşturan bu gruptaki olgular genellikle amenoreye sahiptirler. Biyokimyasal bulgular; düşük serum östradiol konsantrasyonları ve GnRH'nin azalmış hipotalamik sekresyonuna bağlı düşük ve/veya normal FSH konsantrasyonlarını içerir. Bu koşullar altında olguların AMH seviyeleri de normalden düşüktür. Anovulasyona katkıda bulunan yaşam tarzı faktörlerini tersine çevirmek, medikasyon ile ovulasyon indüksiyonuna başlamadan önce denenmelidir.

Nadiren primer amenore olarak ortaya çıkan hipogonadotropik hipogonadizm, doğuştan GnRH eksikliğine bağlı olabilir. Bu sendroma idiyopatik hipogonadotropik hipogonadizm denir veya eğer anosmia eşlik ediyorsa Kallmann sendromu olarak tanımlanmaktadır. Azalmış GnRH salınımı veya gonadotropin eksikliği neden olabilen hipotalamus ve hipofiz tümörleri de hipogonadotropik hipogonadizme yol açabilmektedir.

2) Polikistik over sendromu

Polikistik over sendromulu kadınlar klinik pratikte karşılaşılan en büyük anovulatuvar kadın grubunu oluşturmaktadır (%70-85). Olguların serum östradiol ve FSH konsantrasyonları normal iken LH konsantrasyonları normal veya yüksek olabilmektedir²⁵⁴.

Polikistik over sendromunun tanı kriterleri "Rotterdam kriterleri" olarak adlandırılmıştır²⁵⁵. Rotterdam kriterleri; oligomenore, hiperandrojenizmin klinik ve/veya biyokimyasal bulguları, ultrason ile polikistik overlerin saptanması olmak üzere üç tanedir. Erişkinlerde PKOS tanısı koymak için bu üç kriterden ikisinin mevcut olması gerekmektedir²⁵⁵.

Polikistik over sendromulu obez olgularda, spontan ovulasyonu düzeltebilen kilo kaybı ovulasyon indüksiyon ajanları ile tedavi edilmeden önce denenmelidir²⁵⁶. Ayrıca, PKOS'lu kadınlar, ilişkili gebelik komplikasyonları riski nedeniyle, ovulasyon indüksiyonuna başlamadan önce bozulmuş glukoz toleransı açısından taranmalıdır^{257,258}.

3) Prematür ovaryan yetmezlik (POY)

40 yaşından önce erken yumurtalık yetmezliği ve menopoz olarak tanımlanan POY, tüm kadınların sadece %1'inde görülür, ancak anovulatuvar olguların %5-10'unu oluşturmaktadır. Çoğu durumda folikül havuzu, genetik defektler, over üzerine negatif etkili toksik ajanlar, otoimmünite, intraovaryan modülatörlerin fonksiyonlarının bozulması, steroidogeneizde rol alan enzim defektleri, gonadotropin reseptör defektleri gibi nedenlerle meydana gelen folikül kaybına bağlı olarak tükenmektedir²⁵⁹.

Ekzojen östrojen tedavisi, GnRH agonistleri veya androjenler ile tedavi öncesi baskılanmayı içeren birçok strateji, ovulasyon indüksiyonundan elde edilen sonuçların iyileştirilmesi amacıyla önerilmiştir ancak hiçbirisi başarılı olmamıştır^{260,261}. Bugün için tek etkili seçenek, donör oositleri ile yapılacak in vitro fertilizasyondur. POY'lu kadınlarda mevcut olan östrojen eksikliği, artmış osteoporoz ve kardiyovasküler hastalık riskini de beraberinde getirmektedir.

4) Hiperprolaktinemi ile seyreden ovulatuvar bozukluk

Hiperprolaktinemi ile birlikte anovülasyonu olan kadınlar tüm anovulatuvar olguların %5-10'unu oluşturmaktadır. Hiperprolaktinemi GnRH'yi inhibe ederek gonadotropin sekresyonunu önler ve sonucunda anovulasyon meydana gelmektedir. Serum gonadotropin konsantrasyonları

genellikle normal ve/veya azalmış olarak saptanmaktadır. Hiperprolaktinemi varlığı her zaman birkaç serum prolaktin ölçümü ile doğrulanmalıdır. Kranial manyetik rezonans görüntüleme, nedeni belirlenememiş hipertrolaktinemisi olan bir olguda tanı koymak için tercih edilen bir yöntemdir.

Anovulatuvar infertilitesi olan kadınlarda ovulasyon indüksiyonunun temel amaçları şunlardır :

- 1) Multifoliküler gelişim ve sonrasında ovulasyon yerine, monofoliküler ve sonucunda tekil gebelik ve sağlıklı bir yenidoğanın doğumu,
- 2) En az invaziv, en basit ve en ucuz tedavi seçeneği ile başlamak; sonraki seçenekler over cevabına (ovulasyon ve folikül sayısı) bağlı olmalı,
- 3) Tekil gebeliklerin oranını maksimize, çoklu gebelik oranlarını minimize etmek,
- 4) Gonadotropin tedavisi gören olgularda, özellikle yüksek risk altında olan PKOS olanlarda OHSS riskini en aza indirmektir. (multiple folikül gelişimi durumunda siklus iptali ve cinsel ilişkiden kaçınmak)

Ovulasyon indüksiyonunda tedavi planlanması olgulara göre bireyselleştirilmelidir. Hipotalamik amenore (HA) olan kadınlar hipoöstrojenemiktir ve bu nedenle bir antiöstrojen olan klomifen sitrata cevap vermesi pek beklenmemektedir. Ovulasyon gerçekleşmeyen olgularda, birinci basamak tedavi olarak pulsatil GnRH önerilmekteydi ancak²⁶², pulsatil GnRH' a tedavisi mümkün kılınamıyorsa, bu olgular tek başına FSH' ye yanıt vermeyeceğinden hem LH hem de FSH ile gonadotropin tedavisine başlanmalıdır²⁶³. PKOS'lu olgularda tedavi öncesinde egzersiz ve diyet ile birlikte kilo kaybı, ardından hastanın vücut kitle indeksine bağlı olarak klomifen sitrat veya aromataz inhibitörleri ile ovulasyon indüksiyonu takip etmektedir. POY olan kadınlar için tüm ovulasyon indüksiyon stratejileri başarısızdır. POY'lu kadınlara donör oositleri ile IVF seçeneği çocuklara sahip olma isteklerini yerine getirmede başarılı bir yol olarak sunulmalıdır²⁶⁴. Hiperprolaktinemili anovulatuvar kadınlar için tercih edilen tedavi dopamin agonistleridir²⁶⁵.

2.6.1. Klomifen sitrat ile ovulasyon indüksiyonu

Klomifen sitrat, östrojene hem agonist hem de antagonist etki gösteren bir nonsteroid trifeniletillen türevidir. Kimyasal yapı olarak tamoksifene benzemektedir. Östrojenik etkisi ancak östrojen düşük olduğu zaman belli olmaktadır. Ticari olarak temin edilebilen klomifen formu, dihidrojen sitrat tuzudur (klomifen sitrat). İki stereoizomer içermektedir; zu-clomiphene (%38) ve orijinal olarak cis-izomer ve trans-izomer olarak adlandırılan en-clomifen (% 62). En-clomiphenenin kısa, zu-klomifenin uzun bir yarı ömrü vardır²⁶⁶. İki klomifen izomeri, türler arasında değişen östrojenik ve antiöstrojenik etkilere sahiptir. En-clomiphene, daha büyük antiöstrojenik aktiviteye sahip olan ve foliküler gelişmeyi indükleyen en güçlü izomerdir²⁶⁷.

Klomifen sitrat karaciğerden metabolize edilir ve dışkıyla atılır. Klomifen sitratın oral dozunun %50'sinden fazlası, beş gün sonra vücuttan atılır, ancak işaretli klomifenin radyoaktivite izleri, uygulamadan altı haftaya kadar dışkıda saptanmıştır. Bu gözlem, klomifene fetal maruziyet ile ilgili endişeleri arttırsa da, çoğu çalışma klomifen sitratın konjenital malformasyon sıklığının artmadığını düşündürmektedir⁴⁰.

İlacın etki mekanizması göz önünde bulundurulursa ilacı kullanacak hastalarda hipotalamik-pitüiter-ovaryan aksın fonksiyonel olması gerekmektedir. Klomifen sitrat zayıf bir sentetik östrojen olmasına karşın ovulasyon indüksiyonu için kullanılan dozlarda antiöstrojenik etki göstermektedir. Klomifen sitrat hipotalamusta antiöstrojenik etki ile ovulasyon indüksiyonu yapmakla birlikte östrojene duyarlı diğer dokularda primer olarak agonist veya antagonist etki gösterebilir. Hipotalamusta östrojen reseptörlerine uzun süre bağlanarak ve bu reseptörleri bloke ederek, normal ovaryan hipotalamik feedback yolun fonksiyonunu azaltır. Bu etki mekanizmasının bazı anovulatuvar hastalarda GnRH salınımını arttırdığı gözlenmiştir. Artan GnRH hipofizden gonadotropin salınımını uyarır. Ayrıca klomifen sitrat direk olarak hipofiz ve over üzerinde etki göstererek ovulasyonu uyarabilir. Östrojenden farklı olarak, klomifen sitrat östrojen reseptörlerini saatlerce değil haftalarca süren bir zaman aralığını işgal eder. Klomifen sitratın major etkisi hipotalamusta hücre içi östrojen reseptörlerinin konsantrasyonunu etkileyerek, hipotalamik aktiviteyi düzenlenmesi ile görülür²⁶⁸. Klomifen sitrat ile östrojen reseptörlerinin işgal edilmesi sonucu reseptör kapasitesi azalarak gerçek östrojen uyarıları azalmış olarak algılanır, böylece östrojenin hipotalamus üzerindeki negatif feedback etkisi ortadan kalkarak GnRH salgılanması aktive edilir.

Klomifen sitrat, sağlıklı ovulasyonu olan kadınlara verildiğinde hipotalamustan GnRH salgısının artmasına neden olur. Ayrıca hipofizden LH ve FSH salgılarının miktarında değişiklik yapmadan, GnRH'ın frekansını da artırır.

Anovulatuvar kadınlarda ise GnRH salgısının maksimum sıklıkta gerçekleşmesine bağlı olarak zaten artmış olan LH ve FSH salgılanma sıklığına ek olarak salgılanma miktarında da artış olur.

Klomifen sitrat doğrudan ovulasyonu uyarmamaktadır. Normal menstrüel siklusun fizyolojik değişikliklerini gerçekleştirerek ovulasyon oluşumuna yardım etmektedir. Overler üzerine doğrudan etki ile granüloza hücrelerini gondotropinlere karşı hassas kılmaktadır. Hücrelerdeki LH reseptörlerinin FSH tarafından uyarılmasını ve aromatzasyonunu artırmaktadır²⁶⁹.

Klomifen sitrat, esas olarak uterus, serviks ve vajina üzerinde antiöstrojenik etkilidir. Spontan menstrüel sikluslar sırasında uterin hacim ve endometriyal kalınlaşmadaki artış, daha yüksek östradiol düzeylerine rağmen ortaya çıkan klomifen sitratın kullanıldığı sikluslarda saptanmamaktadır^{270,271}. Bu bulgular klomifen sitratın kullanıldığı sikluslarda ovulatuvar oranların çok yüksek olmasına karşı gebelik oranlarının neden nispeten düşük olduğunu açıklayabilmektedir. Klomifen sitratın kortikotropik, androjenik veya antiandrojenik etkileri yoktur. Adrenal bez veya tiroid fonksiyonları üzerinde etkinliği saptanmamıştır.

Klomifen sitratın, servikal mukus üzerine etkisi ile ilgili veriler çelişkilidir. Bir çalışmada etkisinin olduğu gösterilmezken²⁷², başka bir çalışmada ise tüm klomifen sitratın dozlarına bağlı servikal mukusun kalitesinde ve miktarında azalma olduğunu belirtmiştir²⁷³. Bir metaanalizde, sadece 100 mg/gün/peroral dozlarında zararlı bir etki görülmüştür²⁷⁴. Servikal faktörün bir tedavi yöntemi İÜİ'dir. Rutin olarak persistan infertil olgulara İÜİ yapılmasından dolayı servikal faktörün bir önemi kalmamıştır.

Klomifen sitrat, 50 yılı aşkın süredir ovulasyon indüksiyonu için en yaygın kullanılan ajan olmuştur. PKOS kadınlarda ovulasyon indüksiyonu seçeneği olarak kullanılmaktadır²⁷⁵. Tamoksifen, bir ovulasyon indüksiyon ajanı olarak kullanılmıştır, ancak klomifen sitratın ovulasyonu sağlamadaki etkinliği tamoksifene göre daha yüksek (%64,%52) saptanmıştır²⁷⁶. Bir grup klomifen sitrat dirençli hasta grubunda tamoksifenin kullanılabileceği gösterilmiştir²⁷⁷. Ovulasyon indüksiyonunda gebelik sonuçları karşılaştırıldığında tamoksifenin, klomifenin yarısı kadar daha az etkili olduğu gösterilmiştir, bu nedenle ovulasyon indüksiyonunda tipik olarak kullanılmamaktadır²⁷⁶.

Klomifen sitrat, normal tiroid fonksiyonlu, normal prolaktin seviyeleri ve galaktorezi olmayan anovulatuvar infertil kadınlarda kullanılan bir ilaçtır. Bu hastalar ayrıca endojen östrojen üretiminin kanıtları olan klinik gözlemleri mevcut, serum östradiol tespiti olan, progesteron challenge testine normal menstrüel yanıt veren (WHO Grup I) bireyleridir. Hipotalamik bölgedeki etkileri göz önüne alınarak, hipogonadotropik hipogonadizmi olan (WHO Grup II) hastalarda işe yaramaması sürpriz değildir.

Luteal faz defektin en çok görülen ve en şiddetli formu olan kısa luteal faz süresi, anormal düşük foliküler faz FSH düzeyleri ile ilişkili olduğu iddia edilmektedir²⁷⁸. Klomifen sitrat dolayısı ile bu hastalarda endikedir. Hatta, normal spontan sıkluslara göre klomifen sitrat ile indüklenmiş sıkluslarda progesteron seviyeleri daha yüksektir. Bu da preovulatuvar gelişimin daha uygun olduğu çünkü tedavinin birden fazla korpus luteum oluşumu ile sonuçlanabilecek olmasının bir sonucudur.

Açıklanamayan infertiliteye sahip çiftlerde klomifenin etkinliği, farkedilmemiş luteal faz defektinin düzeltilmesi veya bir ovum salınması gerekirken süperovulasyon sağlanması olarak açıklanmaktadır.

Ovulasyon indüksiyonu için klomifen sitrat tedavisine, genellikle, spontan veya indüklenmiş kanamayı takiben, bir menstrüel siklusun 2, 3, 4, 5. günlerinde başlanabilir. Ovulasyon ve gebelik oranları belirtilen başlangıç günleri arasında farklılık göstermemektedir^{279,280}.

Ovulasyona ulaşmak için gerekli olan dozun kesinleştirildiği hiçbir laboratuvar veya klinik parametre yoktur. İlk doz, ampirik olarak, beş gün boyunca 50 mg/gün/peroral'dir. Daha yüksek bir doz ile başlamak daha yüksek gebelik oranlarına yol açmamaktadır. Her ne kadar obez kadınlar daha yüksek dozda klomifen dozu gerektirse de elde edilen gebelik sonuçları normal kilolu kadınlarla benzerdir²⁸¹. Tedavinin ilk döngüsünde ovulasyon oluşmazsa, doz bir sonraki sıklusta 100 mg/gün'e çıkarılır. Daha sonra, 50 mg'lık artışlarla maksimum günlük doz 150 mg olacak şekilde arttırılır (100 mg/gün ABD Gıda ve İlaç Dairesi [FDA] tarafından onaylanan maksimum dozdur ve Amerikan Üreme Tıbbı Derneği [ASRM], > 100 mg dozları klinik gebelik oranlarına çok az katkı yapacağını klavuzlarında belirtmektedir.)¹⁹². Ovulasyon gerçekleşirse, aynı doz dört ila altı siklus için sürdürülmelidir²⁸². LH dalgalanması, klomifen

sitrat uygulamasının son gününden 5 ila 12 gün sonra ortaya çıkmaktadır. Çiftin, ilacın son gününden üç gün sonra bir hafta boyunca cinsel ilişkide bulunması tavsiye edilir.

Uygun seçilmiş olgularda klomifen sitrat % 80 oranında ovulasyonu sağlayabilmektedir²⁸³. Artan yaş, artan VKİ ve hiperandrojenemi anovulatuvar kadınlarda cevap olasılığını azaltmaktadır.

Klomifen tedavisine cevap veren anovulatuvar ve infertil kadınlar arasında toplam fekundabilite oranı yaklaşık %15 olarak saptanmıştır²⁸³.

Altı kür tedaviden sonra gebelik oranlarının düşük olduğu ve 12 veya daha fazla siklusun over neoplazmı riskini artırabileceğine ilişkin gözlemler mevcuttur²⁸⁴, bu nedenle ACOG, klomifen tedavisinin 12 siklustan mutlaka daha aزیyla sınırlı kalmasını önermektedir²⁸⁵.

Klomifen sitrat kombine İÜİ siklusları ile klomifen sitrat ve planlı cinsel birliktelik gruplarını karşılaştıran çalışmada gebelik sonuçları açısından bir fark saptanmamıştır. Bu nedenle klomifen sitrat sikluslarına İÜİ eklenmesinin bir faydası olmadığı gibi tedavi maliyetini de artırmaktadır²⁸⁶.

Klomifen sitrat tedavisi alan olgularda abortus oranı spontan gebeliklere göre artış göstermemektedir²⁸⁷.

Klomifen ile ovulasyonun indüksiyonu multifetal gebelik olasılığını artırmaktadır⁴⁰. Klomifen sitrat ile indüklenen siklusların %7'sinde ikiz gebelik, % 0.3'ünde üçüz gebelik saptanmıştır²⁸⁸.

Klomifen sitrat tedavisi altındaki hastalarda OHSS insidansı vermek güç olmakla birlikte, nadir olarak hafif OHSS gelişen olgular literatürde bildirilmiştir.

2.6.2. Aromataz inhibitörleri ile ovulasyon indüksiyonu

Aromataz, östrojen üretiminde hız kısıtlayıcı basamağı katalize eden mikrozomal sitokrom P450 hemoprotein içeren enzimdir (P450 aromataz, CYP19 geninin ürünü). Androstenedion ve testosteronun, östrojene ve östradiole üç hidroksilasyon adımı ile dönüşümünü gerçekleştirmektedir²⁸⁹. Aromataz inhibitörleri, selektif inhibisyon için iyi bir seçenektir çünkü

östrojen üretimi, biyosentetik dizide terminal aşamada bulunmaktadır. Aromataz aktivitesi, over, beyin, yağ dokusu, kas, karaciğer ve meme dahil olmak üzere birçok dokuda bulunmaktadır.

Letrozol ve anastrozol potent, kompetitif ve nonsteroidal aromataz inhibitörleri olan triazol türevlerdir^{290,291}. Postmenopozal kadınlarda, 1-5 mg/gün/peroral dozlarında, östrojen biyosentezini %97-99 oranında inhibe eder ve bu da çoğu hassas immünolojik testlerle saptanan seviyelerin altında serum östrojen konsantrasyonları ile sonuçlanmaktadır. Oral uygulamadan sonra tamamen emilirler ve yaklaşık 45 saatlik bir ortalama yarı ömre sahiptirler, hepatik yolla metabolize olmaktadır. Bir steroidal aromataz inhibitörü olan eksemestan, yaklaşık dokuz saatlik bir dolaşım yarı ömrüne sahiptir, ancak inhibitör etki potansiyel olarak daha uzundur çünkü aromataz enzimi üzerindeki etkisi geri dönüşümsüzdür²⁹².

Aromataz inhibitörleri, meme kanseri tanısı alan postmenopozal kadınlar için adjuvan endokrin terapisi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Polikistik over sendromu gibi anovulatuvar ovaryan disfonksiyonu olan hastaların infertilite tedavisinde ve kontrollü ovaryan hiperstimülasyonu tedavisi alan ovulatuvar kadınlarda foliküllerin sayısını arttırmak için endikasyon dışı kullanılmaktadırlar²⁹³⁻²⁹⁵.

Menstrüasyon döngüsünün 3-7. günlerinde, premenopozal kadınlara bir aromataz inhibitörünün uygulanması, over kaynaklı östradiol salgısının inhibisyonuna, FSH salımında artışa ve foliküler gelişime neden olmaktadır. Dominant folikül büyüdükçe ve östrojen seviyeleri yükseldikçe, aromataz inhibitörleri beyindeki östrojen reseptörlerini tüketmediğinden, negatif geri besleme mekanizması ile FSH inhibisyonu gerçekleşmekte, dominant folikül dışındaki foliküller atreziye uğramakta ve çoğu durumda monofoliküler ovulasyon meydana gelmektedir. Bu yönden aromataz inhibitörlerinin klomifen sitrata üstünlüğü mevcuttur.

Aromataz inhibitörleri PKOS gibi anovulatuvar infertilitesi olan hastaların tedavisinde endikasyon dışı ve kontrollü ovulasyon indüksiyonu tedavisi alan kadınlarda, ovaryan foliküllerin sayısını arttırmak için kullanılmaktadır^{296,297}.

Letrozolün, hipotalamik amenore veya POY olan kadınlarda, hipoöstrojenemik ortam nedeni ile başarılı olması olası değildir. Hipogonadotropik hipogonadizimli kadınlar için ekzojen

gonadotropin tedavisi ve POY olan kadınlar için oosit donasyonu bu hastalar için alternatif tedaviler olarak düşünülmelidir.

Polikistik over sendromlu bir hastada ovulasyon indüksiyonu için letrozolün daha geniş çapta çalışıldığı ve geniş bir doz aralığında daha etkili olduğu görüldüğü için anastrozole göre letrozol kullanılmaktadır. Letrozole başlamadan önce, klinisyen ilacın ovulasyon indüksiyonu endikasyonu açısından Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmadığını ve ilacın uygun bir alternatif olduğunu hastaya anlatmalıdır, hastanın onayı alınmalıdır. Letrozolün başlangıç dozu 2.5 mg/gün/peroraldır. Spontan veya indüklenmiş kanamayı takiben siklusun 3-7. günleri arasında başlanabilmektedir. Tedavi süresi 5 gündür. Ovulasyon saptanmış ancak gebelik eldesi mevcut değilse bir sonraki siklusta aynı dozdan tedaviye devam edilmelidir. Ovulasyon meydana gelmezse, doz 5 mg/gün'e çıkarılmalıdır. Maksimum doz 7.5 mg/gün olarak belirlenmiştir^{296,297}. Daha düşük dozlarda ovulasyon oluşmazsa 2.5, 5 ve 7.5 mg/gün şeklinde sıralı doz artışı, tercih edilebilmektedir. Daha yüksek letrozol dozlarında, klomifen sitrat tedavisinin yüksek dozlarında görülen endometriumun yeterli kalınlaşmaması etkisi saptanmaktadır²⁹⁶.

Monofoliküler gelişimin daha başarılı olması sonucu çoğul gebelik riskinin daha az olması, yarı ömrünün kısa olması böylelikle teratojenite riskini indirgemesi, endometrium üzerinde direkt olarak antiöstrojenik etki göstermemesi, daha düşük serum östrodiol konsantrasyonu oluşturarak klomifen sitrata göre meme kanseri riskinin daha düşük olması letrozolün klomifen sitrata göre avantajlarıdır²⁹⁸.

Polikistik over sendromlu 750 olguyu kapsayan çalışmada, letrozol tedavisinin klomifen sitrata göre istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek kümülatif canlı doğum oranına sahip olduğunu ortaya koymuştur (sırasıyla; %27.5, %19.1, $p = .007$). Letrozol grubunda ovulasyon oranı klomifen sitrata oranla istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek saptanmıştır (sırasıyla; %61.7, %48.3, $p < .001$)²⁹⁹.

Polikistik over sendromlu yaklaşık 3000 anovulatuvar kadında yapılan 14 çalışmanın metaanalizinde, letrozol tedavisinin klomifen tedavisine kıyasla yaklaşık 1.7 kat daha yüksek canlı doğum oranları ile sonuçlandığını ortaya koymuştur. VKİ > 30 kg/m² olan kadınlarda letrozol ile daha yüksek bir canlı doğum oranı bildiren çok merkezli denemenin aksine bu metaanalizde yapılan bir alt grup analizi, VKİ'nin canlı doğum oranları üzerine belirgin bir

etkisinin olmadığını saptamıştır. Her iki grup arasında abortus, doğum ağırlığı, neonatal komplikasyon, OHSS oranları arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır³⁰⁰.

Amerikan Kadın Hastalıkları ve Doğum Derneği (ACOG) verilerine göre, PKOS'lu tüm kadınlar için öncelikle ovulatuvar döngüleri tekrar sağlamaya çalışmak için yaşam tarzı değişiklikleri ve kilo kaybı önerilmektedir³⁰¹. PKOS'lu kadınlarda ovulasyon indüksiyon ajanı olarak ise VKİ'den bağımsız olarak letrozol tedavisi klavuzlarda önerilmektedir^{299,302}.

Aromataz inhibitörlerinin, erken fetal gelişim sırasında aromataz aktivitesini bozabilecekleri ve uygulandığında potansiyel olarak teratojenik olabileceği için ovulasyon indüksiyonu için aromataz inhibitörlerinin kullanımı konusunda endişeler olmuştur³⁰³. Hayvan çalışmaları, aromataz inhibitörlerinin teratojenik olabileceğini düşündürmesine rağmen³⁰⁴, insan çalışmaları klomifen kullanımından daha büyük teratojenik riskler ortaya koymamıştır^{299,305,306}. Letrozolün teorik bir avantajı, klomifen sitrat ile karşılaştırıldığında kısa yarı ömürdür. Letrozol ovulasyondan önce etkisini kaybederken, klomifen fertilizasyon ve erken embriyo gelişimi sırasında hala aktif formunda olabilmektedir. Bununla birlikte, çoğu çalışma, her iki tedavi protokolü açısından benzer konjenital malformasyon oranlarını bildirmiştir³⁰⁵⁻³⁰⁷.

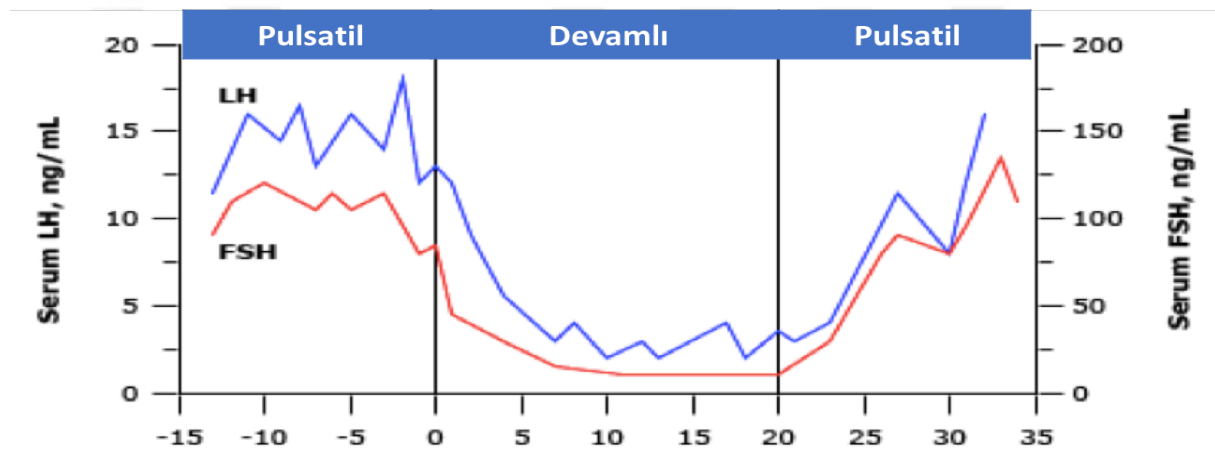
Aromataz inhibitörleriyle kombine İÜİ, CC kombine İÜİ tedavisi ile karşılaştırıldığında benzer canlı doğum oranlarına, ancak grupların gonadotropin tedavisine kıyasla daha düşük bir klinik gebelik oranına sahip olduğunu saptanmıştır^{80,301,308}.

Açıklanamayan infertil, 18-40 yaş arası, 900 kadın, Aİ kombine İÜİ, CC kombine İÜİ ve gonadotropin kombine İÜİ olarak üç grupta değerlendirilmiştir. Toplam canlı doğum oranları Aİ grubu için %19, CC grubu için %23 ve gonadotropin grubu için %32 olarak saptanmıştır. Gonadotropin grubunun %13'ünde, CC grubunun %1'inde ve Aİ grubunun %3'ünde çoğul gebelik meydana gelmiştir. Gonadotropin tedavisi alan grupta, çoğul gebeliklerin yaklaşık %30'u üçüz gebelik olarak kaydedilmiştir. CC ve Aİ grubunda üçüz gebelik saptanmamıştır. Aromataz inhibitörlerinin teratojenik olabileceğine dair teorik kaygılar büyük çalışmalarda desteklenmemiştir. Yukarıda gözden geçirilen çalışmada, konjenital malformasyonla doğan bebeklerin sayısı üç tedavi grubunda benzer saptanmıştır⁸⁰.

2.6.3. Gonadotropin stimüle edici hormon (GnRH) ile ovulasyon indüksiyonu

Sentetik GnRH kristalize formadadır. Sıvı ile çözüldükten sonra oda sıcaklığında 3 hafta kalabilmektedir. Bir infüzyon pompası kullanılarak GnRH pulsatil uygulaması endojen FSH ve LH üretimini uyarır. Elde edilen serum FSH ve LH konsantrasyonları normal aralıkta kalmaktadır, bu nedenle multifoliküler gelişim ve ovaryan hiperstimülasyonu olasılığı düşüktür. Ancak, sürekli GnRH tedavisi gonadotropin salınımını azaltmaktadır (Tablo 4).

Tablo 4. GnRH salınım paterni



Normal hipofiz fonksiyonuna sahip olan hipogonadotropik hipogonadizm olan kadınlar için pulsatil GnRH uygulaması endikedir. Pulsatil GnRH tedavisi normal geri bildirim mekanizmalarını koruduğu için, çoğu siklus tek bir dominant folikül ile sonuçlanır. Bu nedenle, çoğul gestasyon oranları son derece düşüktür ve OHSS riski çok düşüktür³⁰⁹. Pulsatil GnRH tedavisi, PKOS'lu kadınlarda tipik olarak artmış hipotalamik GnRH salınım frekansına ve yüksek serum LH konsantrasyonlarına sahip olduğu için bu yaklaşım iyi bir seçenek olmamaktadır.

İntravenöz (iv) uygulama, subkutan uygulamadan daha üstündür. GnRH intravenöz olarak düşük dozlarda (2.5-5.0 m/puls) olarak uygulandığında en etkindir ve her 60-90 dakikada bir verilmelidir²⁶². Bu dozda ovulasyonu olmayanlarda 10-20 m/puls dozuna çıkılabilmektedir. Artan doz ile birlikte çoğul gebelik riski de artmaktadır. Pulsatil GnRH tedavisi, ovulasyondan

sonra korpus luteum tarafından hCG salgılanması nedeni ile kesilebilir. Gonadotropin tedavisi ile birlikte kullanılan luteal fazı desteklemek amaçlı hCG uygulaması için potansiyel bir rejim, ovulasyonun ardından 7, 10 ve 13. günlerde uygulanan 500 ünite şeklindedir. İntravenöz uygulama ile pulsatil GnRH tedavisi alan kadınlar, enjeksiyon bölgesinde şişlik, ağrı veya eritem için haftalık olarak değerlendirilmelidir. Ovulasyona neden olacak bir doza ulaşıldığından emin oluncaya kadar hasta ultrason ile değerlendirilmelidir. Serum östradiol konsantrasyonlarının takipte gerekliliği yoktur. İdrar LH kitleri ve luteal faz progesteron konsantrasyonunu ölçümü ile ovulasyon saptanabilmektedir.

Pulsatil GnRH tedavisinin az veya hiç takip gerektirmemesinin yanında gonadotropin tedavisine göre bir diğer avantajı ise nadiren multifolikül gelişimi ve ovulasyona sebep olmasıdır; dolayısıyla çoğul gebelik riski düşüktür ve ciddi ovaryan hiperstimülasyon genellikle görülmemektedir.

600 GnRH siklustan elde edilen 100 gebelikten sadece 4 tanesi çoğul gebeliktir ve hiç orta veya şiddetli OHSS saptanmamıştır. GnRH ile indüklenmiş konsepsiyon sikluslarında çoğul gebelik oranları klomifen tedavisine benzerdir ve ekzojen gonadotropin verilen anovulatuvar kadınlardaki riskten %15 daha azdır³¹⁰.

Gonadotropin stimüle edici hormon ile indüklenmiş sikluslarda toplam spontan düşük oranı yaklaşık %30 olarak saptanmıştır. Ekzojen gonadotropin ile yapılmış çalışmaların çoğunda hipogonadotropik hipogonadizmli olgularda %20'den daha az olarak saptanmıştır³¹¹.

Yukarıda anlatılanlara rağmen günümüzde artık GnRH pompası ile ovulasyon indüksiyonu tedavisi yok denecek kadar az tercih edilmektedir. GnRH pompasının uygulanmasının güçlüğü, gonadotropinler ile stimülasyonun hem hasta hem de hekim tarafından kolay kullanılabilir ve yönetilebilir oluşu, gonadotropin ile stimüle edilen sikluslar sonucu benzer başarıya ulaşılması bu tercih nedenini açıklamaktadır.

2.6.4. Dopamin agonistleri ile ovulasyon indüksiyonu

Dopamin agonistleri gebe kalmak isteyen hiperprolaktinemisi olan ovulatuar disfonksiyonlu olgularda tedavi seçeneğidir. Hiperprolaktinematik kadınlar klomifen tedavisine cevap vermezler. Hiperprolaktinemisinin sebep olduğu bozulma klomifenin gösterdiği mekanizmayı olumsuz etkilemektedir. Dopamin agonisti tedavisi galaktoresi olan ama normal serum prolaktin seviyeleri olan hastalarda oldukça etkilidir.

En çok kullanılan dopamin agonisti bromokriptin ve kabergolindir. Her ikisi de ergot alkaloidleridir ve dopamin reseptörlerine bağlanarak etki göstermektedirler. Serum bromokriptin konsantrasyonları oral alımından 1-2 saat sonra pik yapmakta ve uygulamadan sonra 14 saat içinde çoğunlukla metabolize olmaktadır. 2.5 mg oral doz, prolaktin seviyesini 12 saat boyunca düşürür. Kabergolin daha uzun etkili bir dopamin agonistidir. Dopamin reseptörüne karşı daha fazla affinitesi vardır. Tek doz kabergolin prolaktin salgısını en az 7 gün baskılamaktadır.

Endojen hipotalamik dopamin gibi agonistler direkt hipofizer prolaktin salınımını inhibe etmektedir. Serum prolaktin seviyelerini normal aralığa çekerek hipotalamus-hipofizer-over aksı hiperprolaktinemisinin supresif tedavisinden kurtulur ve normal çalışmaya başlar. Böylece pulsatil GnRH salgısı başlar ve ovulasyon normale döner. Prolaktin sekrete eden pituiter adenomlar bile dopamine duyarlı olduğu için pituiter adenomu olsun olması tüm hiperprolaktinemiler tedaviye cevap verir³¹².

Hiperprolaktinematik kadınların birçoğu düşük dozdaki dopamin agonistlerine bile yanıt vermektedir. Tedaviye en düşük dozda başlayıp daha sonra öprolaktinemi sağlanıncaya dek doz artışı gerekmektedir.

Bromokriptin ile tedavi genelde 1.25-2.5 mg/gün/peroral dozunda başlanır. Nokturnal prolaktin artışını da inhibe etmesi için yatmadan önce alınmalıdır. Tedaviye başlandıktan sonraki 1 hafta sonunda prolaktin seviyesi düşmektedir^{313,314}.

Kabergolin tedavisi genellikle haftada iki kez 0.25 mg/gün/peroral dozunda başlanır. Etkin doz elde edilinceye kadar her 4 haftada bir arttırılır. Çoğu olgu normal prolaktin seviyelerine haftada 0.5-1 mg dozunda ulaşmaktadır³¹⁵.

Genel olarak dopamin agonisti hiperprolaktinematik kadınların yaklaşık %60-85’inde prolaktin seviyesi normal düzeye gelmektedir. Sikluslar tedavi başladıktan 6-8 hafta içinde %70-90 oranında normale dönmektedir. Tümör olsun ya da olmasın ovulatuvar sikluslar %50-75 geri döner³¹⁶.

450 hiperprolaktinematik kadını inceleyen randomize kontrollü çalışmada kabergolinin bromokriptine göre normal prolaktin seviyelerine ulaşma ve idame açısından, menstrüel ve ovulatuvar düzeni tekrar sağlama bakımından daha etkin olduğu saptanmıştır³¹⁶.

Dopamin agonistlerinin spontan düşük için bir risk oluşturduğuna ya da mevcut riskte bir artışa sebep olduğuna dair bir kanıt yoktur. Tedavi sırasında gebe kalan kadınlar üzerinde yapılan bir çalışmada spontan düşük veya konjenital anomalilerde bromokriptin veya kabergolin için bir artış saptanmamıştır^{316,317}.

2.6.5. Ekzojen gonadotropinler ile ovulasyon indüksiyonu

Ovulasyon indüksiyonu için kullanılan gonadotropinler üriner, saf üriner ve rekombinant olmak üzere üç çeşittir. Lunenfeld ve ark.’ları 1962 yılında idrardan insan menapozal gonadotropinini (hMG) elde etmişlerdir³¹⁸. İnsan menapozal gonadotropini, bir ampulde 75 IU FSH ve 75 IU LH içermekte, %3-4 saflıkta, %95’ten fazla üriner proteinler içermekte ve kas içine enjekte edilmekteydi. 1987 yılında geliştirilen üriner FSH (ü-FSH), hMG ile aynı miktarda FSH ve üriner protein içerirken, LH miktarı 0,7 IU’dan azdır. Üriner gonadotropinler az ama değişken miktarlarda hCG içerirler. Bir kısmı pazarlama sırasında yeterli LH aktivitesi sağlamak amacı ile eklenmektedir³¹⁹. Göreceli olarak geleneksel hMG gibi ham gonadotropinler belirgin oranda antijenik olabilecek üriner protein içerebilir. Yeni hMG preparatları eskilerinden daha iyi saflaştırılmışlardır ve cilt altına uygulanabilirler³²⁰.

Yaklaşık 30 yıl önce, anti hCG antikorları ile yapılan immünaffinite yöntemi sayesinde üriner LH uzaklaştırılarak daha iyi saflaştırılmış üriner FSH’lar elde edilmiştir. Üriner FSH’ın (75 IU) ilk formları 1 IU’dan az LH içerirler ve halen kas içine enjeksiyon gerekmektedir. Günümüzde artık 0.001 IU’dan az LH içermektedirler ve üriner protein içerikleri de çok az olduğundan cilt altı uygulanabilmektedirler. Genetik mühendisliği sayesinde üretilen in vitro

rekombinant FSH (r-FSH) üretilmiştir. Çin hemstirinin over hücre dizilerine alfa ve beta FSH salgılanmasını kodlayan genler yerleştirilir. Bunlar hormonu sentezlerler ve glikolize olmuş biyoaktif dimerik FSH salgılanmasına yol açar. Son olarak immünkromatografi yöntemi ile anti-FSH monoklonal antikorlar kullanılarak saflaştırılır. Rekombinant FSH preparatları daha kısa yarılanma ömürlü ve daha az asidik FSH içerirler ama östrojen sekresyonunu aynı veya daha güçlü bir şekilde uyarırlar³²¹. Rekombinant gonadotropinlerin avantajı daha az üriner protein içermeleri, daha tutarlı yapıda olmaları ve biyolojik aktivitelerinin bireysel olarak az değişkenlik göstermesi olarak sayılabilir.

Geleneksel olarak, günümüzde de geçerli olan, LH'a yapısal olarak ve biyolojik benzerliğinden dolayı foliküller yeterli olgunluğa ulaştığında, gonadotropinlerle indüklenmiş sikluslarda LH pikini sağlamak için hCG kullanılmaktadır. Her ne kadar insan idrarı ve plasental dokudan salgılanan LH halen yaygın olarak kullanılsa da, rekombinant FSH'da anlatılan teknolojiyle benzer yöntemlerle de üretilebilir³²². Her ne kadar üriner (ü-hCG)ve rekombinant hCG (r-hCG)'ye etkinlik ve doz eşitliği hakkında bazı belirsizlikler olsa da 250 mg rekombinant ürünün, 5000-10000 üriner hCG'ye eşdeğer olduğunu gösteren sonuçlar mevcuttur^{323,324}. Rekombinant preparatlar sayesinde bireysel olarak değiştirebileceğimiz, en iyi oosit kalitesi ve siklus fekunditesini sağlayabilecek rejimler oluşturulabilmesi sağlanmıştır.

2.6.5.1. Gonadotropinler ovulasyon indüksiyonu endikasyonları

Hipogonadotropik hipogonadizmli kadınlar (WHO Grup I) ekzojen gonadotropin tedavisinden fayda görürler. Bu olgularda ilaç seçimi hem FSH hem de LH'ı içeren menotropinler olmalıdır³²⁵. Her ne kadar oosit matürasyonu tek başına FSH ile sağlanıyor olsa da, endojen LH seviyeleri normal steroidogenez, luteinizasyon ve ovulasyon için yeterli değildir. Bu gruptaki olgular düşük dozlara yanıt vermektedirler. Çoğul gebelik ve OHSS riski nedeniyle daha dikkatli monitorize edilmelidirler³²⁶.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Grup I kadınlarda , endojen gonadotropin salınımı oldukça azdır ve menotropin tedavisi overler için tek etkin yöntemdir. Tam tersine, klomifene dirençli PKOS (WHO Grup II) hastalarda serum gonadotropin seviyeleri normaldir. Hatta bazı olgularda LH konsantrasyonları da yüksek saptanmaktadır. Bu popülasyonun tedavisinde endojen ve ekzojen gonadotropinler üst üste gelmektedir. Saflaştırılmış FSH preparatları teorik olarak geleneksel menotropinlere göre teorik bazı avantajlar sağlamaktadır. Bu avantaj; endojen LH

hipersekresyonu oluşma riskini önlemesidir³²⁷. Ancak yapılan çalışmalar göstermiştir ki klomifen dirençli PKOS olgularda saflaştırılmış FSH'ın hMG'ye, rekombinant FSH'ın saflaştırılmış FSH'a göre, gebelik, ovulasyon, OHSS, oul gebelik oranları açısından fark saptanmamıřtır³²⁸.

Gonadotropin ile indüklenmiş PKOS'lu olgularda, endojen gonadotropin sekresyonu baskılanmaktadır. hCG ile ilişkili OHSS riski göz önünde bulundurulduğunda, luteal faz desteği progesteron ile yapılmalıdır^{148,329}.

Açıklanamayan infertil olgularda ekzojen gonadotropinler ile tedavide amaç birden fazla olgun oositin sağlanmasıdır. Sperovulasyon en etkin olarak İÜİ ile kombine edildiğinde verim göstermektedir. Ovulatuar ve endokrinopatisi olmayan bu kadınlarda gonadotropin ve doz seçimi daha kolay olmaktadır^{148,329}.

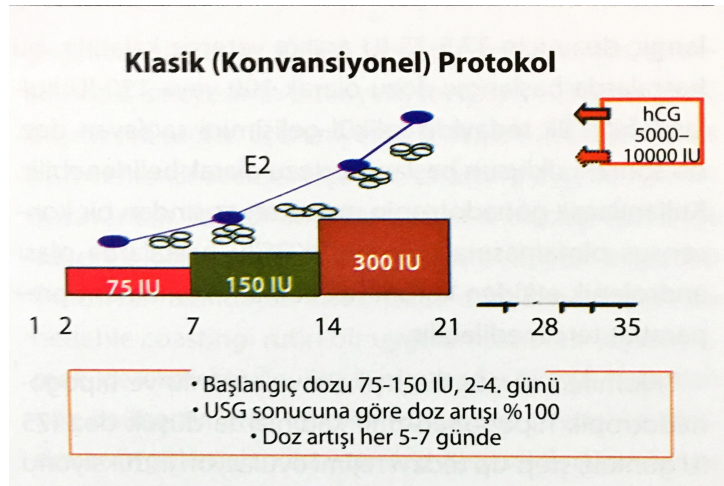
2.6.5.2. Ekzojen gonadotropin tedavi rejimleri

Başarıyla ovulasyonu sağlayacak gonadotropin tedavisinin dozu ve süresi kadınlarda arasında hatta aynı bireyin siklusları arasında değişiklikler göstermektedir. Bu nedenle doz ve süre amprik olarak tayin edilmelidir. Unifolikler gelişim ve süperovulasyon tedavi planındaki asıl amaçlar olmaktadır. PKOS'lu hastalar için ise aniden gelişen aşırı cevabı önleyebilmek amacı ile farklı yaklaşımlar tanımlanmıştır. Bunlar step-up ve step-down protokolleridir. Gonadotropinler ile ovulasyon indüksiyonunda kullanılan belli başlı protokoller aşağıda sırasıyla anlatılmıştır.

2.6.5.2.1. Geleneksel (konvansiyonel, klasik) gonadotropin protokolü

Geleneksel protokolde günlük FSH veya hMG başlangıç dozu menstrüel siklusun 2. veya 4. gününde 75-150 IU'dur. Hastalar ultrason ve serum bazal E2 değerleri ile monitörize edilir. 5-7 gün arasında doz artışı ikiye katlanır (şekil 6). Fakat bu dozda yüksek komplikasyon oranları geliştiği için bu protokol terk edilmiştir. Bu rejim %36'ya varan çoğul gebelik oranı ile ilişkilidir ve OHSS oranı tedavi döngülerinin % 14'dr³³⁰. PKOS olan infertil olgularda bu protokol tercih edilmemektedir.

Şekil 6. Geleneksel protokol



Brown tarafından ortaya atılan FSH eşik değeri, folikül gelişimi olurken geçilmesi gereken FSH dozu olarak tanımlanmaktadır³³¹. Bu değere ulaşıldıktan sonra foliküler gelişim için az bir doz artımı yeterli olacaktır. Daha yüksek dozlarda FSH verilmesi fazla miktarda folikül gelişimine neden olacaktır. Bu deneysel anlayış düşük doz step-up protokolünün teorik olarak temelini oluşturmuştur. Düşük doz step-up protokolü FSH eşik değerine yavaş yavaş ulaşmaya olanak verir, bu rejim fazla uyarı ve çok sayıda preovulatuvar folikül gelişimini engellemektedir.

2.6.5.2.2. Step-up protokolü

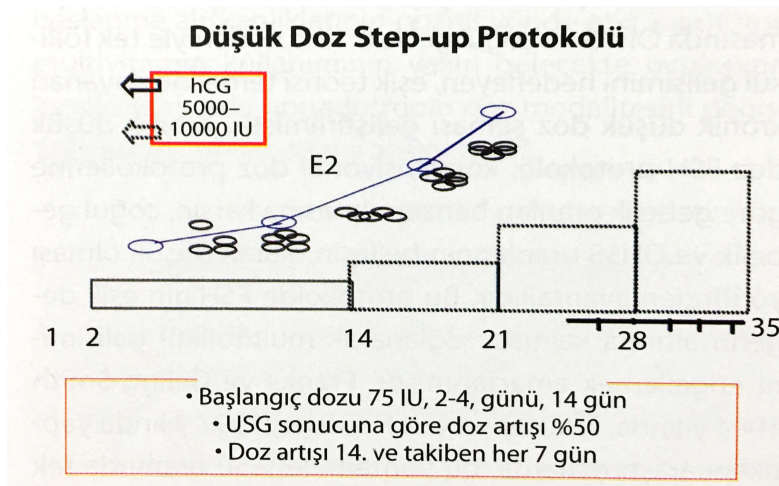
Hem WHO Grup I hem WHO Grup II olgularında düşük doz ile indüksiyona siklusun 2. veya 4. günü 75 IU/gün çerçevesinde başlanabilmektedir. Gelişen foliküllerin sayısını ve çapı 1-2 günde bir transvajinal ultrason ile değerlendirilir. Folikülometri takibinde 10 mm'lik folikül tespit edilene kadar veya serum E2 düzeyi 200 pg/ml'nin altında saptandığında her 5-7 günde bir 37.5-75 IU FSH artımı yapılmaktadır. Dominant folikül çapı 17-20 mm'ye ulaştığında ovulasyonu sağlamak için hCG enjeksiyonu yapılır ve genelde 36-48 saat sonra ovulasyon beklenir. Daha sonraki stimülasyon siklularında hastanın daha önceki sikluslarında elde edilen cevap eşiği ve foliküler gelişim paterni göz önünde bulundurulmalıdır.

Polikistik over sendromlu kadınlar çoğu zaman gonadotropinlere aşırı hassasiyet gösterdiklerinden dolayı erken ve sık yapılan gözlem önemli olmaktadır. Bu olgularda genellikle FSH uyarısına cevap verecek çok sayıda antral folikül vardır³³²⁻³³⁴. OHSS, çoğul gebelik riski, iptal edilen siklusların maliyeti gibi faktörlerin oranını azaltmak adına, düşük

dozları içeren (50-75 IU/gün), daha uzun süren, daha az dozu artışını içeren ‘düşük-yavaş’ tedavi rejimleri kullanılmaktadır^{335,336}. 37.5 IU’lık artışlar, haftalık aralıklarla maksimum 225 IU/güne kadar verilmektedir. 7 gün sonra yapılan ultrasonografide 10 mm’nin üzerinde folikül yoksa 7 gün daha aynı dozda devam edilir. 14. günde hasta tekrar değerlendirilir. 10 mm üzerinde hala folikül yoksa doz 37.5 IU artırılır. İlk doz artışı 14. günden önce yapılmaz. Overlerde 10 mm üzerinde folikül izlenen kadar 7 gün aralarla 37.5 IU dozunda artırılarak devam edilir. Maksimum doz 225 IU/gündür. Kontrollerde 10 mm üzerinde folikül görülürse aynı dozda hCG gününe kadar devam edilir. Eğer tedavinin 35. günü olduğu halde foliküler yanıt alınamazsa siklus iptal edilir (Şekil 7). hCG’den 6-8 gün sonra kan progesteron düzeyi ölçülerek ovulasyonun olup olmadığı belirlenir (5 ng/ml üzeri ovulasyonu gösterir). hCG sonrası 14. gün kanda gebelik testi yapılır. Gebelik oluşmaz ise sonraki siklusa eşik dozun 37,5 IU azaltılmış dozuyla siklusa başlanır. Önceki siklusa çok fazla sayıda follikül gelişimi sağlanırsa sonraki siklusa daha düşük dozlarla başlanıp artırımlar da düşük dozlarda yapılır. Bu protokolde, FSH’ in eşik değerinin altında kalması sağlanarak multifolikül gelişimini engellemek asıl amaçtır. Frauser ve van Heusden, bu yöntem ile %50 oranında tek dominant folikül, %20 oranında 3’ten fazla 16 mm’den büyük folikül gelişimi olduğunu saptamışlardır^{337,338}.

İnsülin direnci olan kadınlar, olmayanlara göre gonadotropin stimülasyonuna daha az duyarlılık göstermektedirler. Gonadotropin tedavisi sırasında veya öncesinde metformin tedavisinin başlanması over yanıtını iyileştirmekte, aşırı folikül gelişiminden dolayı siklus iptal sayısını azaltmaktadır³³⁹.

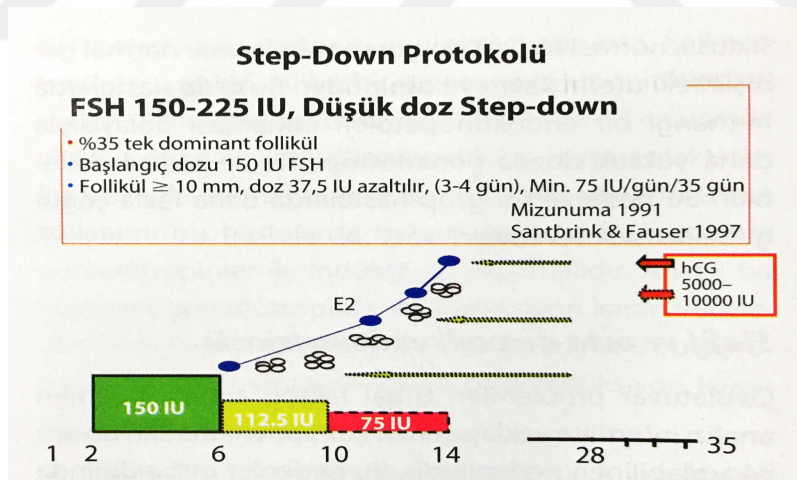
Şekil 7. Düşük doz step-up protokolü



2.6.5.2.3. Step-down protokolü

Bu protokoldeki amaç, spontan siklulardaki FSH paternine yakın bir rejimle ovulasyonu sağlamaktır³⁴⁰. Seçilmiş foliküllerin içindeki duyarlılığı düşük foliküller gerilerken, duyarlılığı daha fazla olan foliküllerin büyümeye devam etmesi için giderek dozların düşürülmesi esasına dayanmaktadır. Siklusun 3.-5. günlerinde 150-225 IU/gün dozu ile başlanan tedavi, transvajinal ultrasonografide dominant folikül (>10 mm) görülünceye kadar devam ettirilir. Fakat 10. günde dahi 10 mm ve üzeri folikül gelişimi izlenmezse siklus iptal edilir. Doz daha sonra 112.5 IU/güne düşürülür. Ardından üç gün sonra 75 IU/gün olacak şekilde bir doz azaltmasına gidilir ve bu doz da ovulasyonu indüklemek için hCG uygulanana kadar devam eder (Şekil 8). Birçok kadının ekzojen gonadotropinlere karşı aşırı duyarlılığı olduğu düşünülürse step-down rejimi için en uygun adaylar birkaç stimüle siklusu olmuş ve cevap verdiği tahmini eşiği bilinen hastalardır³⁴¹. Hasta için en uygun başlangıç dozunun tespit edilebilmesi için ilk siklusta düşük doz step up protokol uygulanıp, bir sonraki siklusta step down protokole bu dozun 37.5 IU fazlası ile başlamak uygun olacaktır.

Şekil 8. Step-down protokolü



2.6.5.2.4. Gonadotropin stimüle edici hormon (GnRH) agonistleri ile adjuvan tedavi

Polikistik over sendromlu birçok kadında artmış LH seviyeleri ekzojen gonadotropin tedavisi sırasında foliküler luteinizasyonun erken olmasına sebep olmaktadır. Bu da gebelik durumunda abortus ile sonuçlanmaktadır. Ekzojen gonadotropin tedavisinden önce uzun süreli GnRH agonist tedavisi endojen LH salısını baskılamakta, böylece prematür luteinizasyonu engellemektedir. Devam eden GnRH agonistinin LH artımını tamamen baskılaması ise ovulasyon sonrası kötü luteal faz fonksiyonunun ortaya çıkmasına neden olmakta ve luteal desteği gerektirmektedir.

2.6.5.2.5. Diğer gonadotropin tedavi protokolleri

Sağlıklı ovulatuar siklusta, preovulatuar foliküller gelişimin son fazlarında FSH giderek azalmaktadır. Bu durumda FSH reseptör miktarının fazla ve FSH'a duyarlılığı yüksek olan foliküller büyümeye devam ederken duyarsız foliküller atreziye uğramaktadır. Östrojen sentezi için gerekli tekal androjenlerin stimülasyonuna ek olarak, LH'ın kendisi, FSH ve östrojen ile indüklenmiş LH reseptörleri aracılığıyla küçükleri değil ancak büyük folikülleri uyarmaktadır. FSH kendisine daha fazla bağımlı folikülleri atreziye götürürken, LH foliküler matürasyonun son basamaklarının kilit hormonu durumuna gelmektedir. PKOS'lu hastalarda mevcut tedavi protokollerindeki amaç OHSS ve çoğul gebelik risk oranlarının azaltılmasına yöneliktir.

Düşük doz hCG veya rekombinant LH selektif olarak daha büyük folikülleri uyarırken diğer foliküllerin atreziye gitmesine neden olmaktadır. Büyük miktardaki FSH dozunu giderek düşürüldüğü step-down protokolün bu prensip üzerine dayanmaktadır. 'Coasting'de amaç; foliküler gelişimin sonundaki FSH uyarımının azaltılması şeklindedir. Büyük foliküller, östrojen plato çizer ve/veya düşerken, LH reseptörlerinin ekspresyonlarının artışı sayesinde düşük LH konsantrasyonlarına rağmen hayatta kalmaktadırlar. Bu durumda büyük foliküller normal siklustaki gibi avantajlı olurken, küçük foliküller artmış intrafoliküler androjen ve azalmış FSH konsantrasyonları nedeni ile atreziye uğrayacaklardır.

Normal bir ovulatuar siklusta LH pikinden önceki maksimum östrodiol düzeyi 200-400 pg/ml'dir. Gonadotropin ile uyarılmış sikluslarda gözlenen her matür folikül için yine bu kadar bir artış beklenmektedir. Klinik değerlendirme için küçük foliküllerin sayısı, çapı ve toplam

östrojen konsantrasyonları göz önünde bulundurulmalıdır. Siklus fekunditesi östradiol konsantrasyonu ile birlikte artmaktadır. Ancak eş zamanlı olarak çoğul gebelik ve OHSS riskinin arttığını da göstermektedir. Gonadotropin rejimleri ile en iyi sonuçlar östrojen konsantrasyonu 500-1500 pg/ml arasında olduğunda elde edilmektedir³⁴².

Tipik bir spontan siklusta rol alan antral foliküller, siklusun 5-7. günleri arasında izlenmektedir. Dominant folikül 8-12. günlerde belirlenmekte ve çapı günde yaklaşık 1-3 mm kadar büyümektedir. Folikül çapı ortalama 20-24 mm'ye ulaştığında ovulasyon oluşmaktadır. Spontan siklusların %5-10' u kadarında iki adet preovulatuvar folikül gelişmektedir³⁴³.

Siklus başında yapılan bazal transvajinal ultrason ile saptanan ovaryan kist varlığında stimülasyon siklusunun başarısı azalmaktadır. Muhtemelen büyüyen ve gerileyen foliküllerin net olarak ayırt edilemesi ve yanlış girişimlere yol açması bu durumu açıklamaktadır. Bazal transvajinal ultrasonografinin, ekzojen gonadotropin ile yapılmış iki ardışık siklus arasında yapılması olağandır. Herhangi bir rezidü over kisti büyüme göstermez ise tedaviye ara vermeye gerek olmadığı belirtilmiştir. Eğer ki birden fazla rezidü kist mevcutsa tedavinin ertelenmesi daha yararlı olacaktır³⁴⁴.

Ekzojen gonadotropin ile stimüle sikluskardaki endometrial gelişim ile ilgili çalışmalar, ovulasyon tetiklemesinin yapılacağı gün endometrial kalınlığının 7 mm'den az olması halinde gebelik başarısının azaldığını ortaya koymuşlardır³⁴⁵.

Gonadotropinlerin, borderline seröz tümör gelişme riskini arttırdığı ancak invaziv over kanseri riskini arttırmadığını ortaya koyan çalışmalar mevcut olmakla birlikte bugünkü temel bilgilerimiz net olarak, borderline ya da invaziv over kanseri riskini arttırmadıkları yönündedir³⁴⁶. Gonadotropinlerin 6 siklus ve üzerinde kullanımının meme kanseri riskini arttırabileceği bildirilmiştir³⁴⁷. Ekzojen gonadotropin tedavisi ile meme ve over kanseri arasında kesinlik kazanmış bir ilişki yoktur. Daha çok çalışmaya ve zamana ihtiyaç duyulmaktadır.

3. MATERYAL VE METHOD

Çalışmamız Ekim 2017- Ekim 2018 tarihleri arası Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İnfertilite Polikliniği'ne başvuran ve infertilite tedavisi olarak gonadotropin kombine intrauterin inseminasyon planlanan primer infertil olgular arasında yapılmıştır. Çalışmaya başlamadan önce Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu onayı alınmıştır. Hasta bilgilerine arşiv dosyalarından ve Probel bilgi sistemi üzerinden ulaşılmıştır. Hastalar tetikleme prtokolüne göre iki grupta incelenmiştir. Grup I [standart doz 250 mcg rekombinant insan koryonik gonadotropini ile tetikleme yapılmış hasta grubu]; n:38 ve Grup II [ovulasyon tetikleme amaçlı Grup I'deki ile aynı doz ve yöntemle yapılmış hCG enjeksiyonuna ilaveten hCG uygulamasından iki saat sonra 0.2 mg GnRH analogu uygulanmış hasta grubu]; n: 36 olarak tanımlanmıştır. Olgu rapor formlarına bu şekilde kaydedilmişlerdir.

Çalışmamıza tüm primer infertil gonadotropin ile kombine intrauterin inseminasyon siklusları alınmıştır. Gonadotropin kombine intrauterin inseminasyon tedavi kararının verilmesinde literatüre uygun olarak aşağıdaki endikasyonlar kabul edilmiştir³⁴⁸: Vajinismus, erkekte ejakülasyon bozukluğu öyküsü, hafif erkek faktör varlığı, polikistik over sendromu (PKOS), açıklanamayan infertilite, laparaskopi ile hafif pelvik adezyon ve evre 1 ya da 2 endometriozis tanısı alan olgular olarak belirlenmiştir. Kadın olguların vücut kitle indeksi (VKİ) hesaplanmıştır. Kadın ve erkek olguların sigara kullanma alışkanlığı (adet/yıl) kaydedilmiştir. Tüm olgularda menstrüel siklusun erken foliküler fazında (Gün 1- Gün 5), serum açlık bazal folikül stimüle edici hormon (FSH), östradiol (E2), lüteinizan hormon (LH), prolaktin (PRL) ve tirotropin stimüle edici hormon (TSH) değerleri kaydedilmiştir. Aynı gün transvajinal ultrason eşliğinde yapılmış bazal antral folikül sayısı ölçümleri , eş zamanlı olarak ölçülmüş endometrial kalınlık ve eşlik eden jinekolojik patolojinin olup olmadığı kaydedilmiştir.

İlk gruba (Grup I; n:38), ovulasyon tetiklemesi subkutan tek doz enjeksiyon şeklinde 250 mcg rekombinant hCG kullanan olgular, ikinci gruba (Grup II; n:36) ovulasyon tetikleme amaçlı Grup I'deki ile aynı doz ve yöntemle yapılan hCG enjeksiyonuna ilaveten, hCG uygulamasından iki saat sonra, GnRH analogu uygulanmış olgular dahil edilmiştir. Her iki grupta da hCG ile ovulasyon tetiklemesi sonrası 32.-36. saatlerde intrauterin inseminasyon uygulanmıştır⁸⁹.

Gonadotropinler ile ovulasyon indüksiyonu; günlük subkutan enjeksiyon şeklinde rekombinant FSH ile yapılmış ve hastaya özgü bireyselleştirilmiş olarak planlanan klasik veya düşük doz

basamaklı artış protokolleri kullanılarak uygulanmıştır³⁵⁰. Klasik protokol PKOS'lu haricindeki olgulara, erken foliküler fazda yapılan transvajinal ultrason sonrasında, hastanın yaşı, VKİ, antral folikül sayısı göz önünde bulundurularak günlük 75-150 IU dozda gonadotropin (r-FSH) başlanmıştır. 2-4 gün ara ile transvajinal ultrason ile folikül gelişim takibi yapılmıştır. 10 mm'nin üzerinde folikül gelişimi olmamış ise gonadotropin dozu başlangıç dozun yarısı olacak şekilde arttırılmıştır. 1-2 adet dominant folikül çapı 17-18 mm'ye ulaştığında ovulasyon tetiklenmiştir.

Düşük doz basamaklı artış protokolü ise literatürde belirtildiği üzere polikistik over sendrom olguları gibi ovaryan stimülasyona aşırı cevap vermesi beklenen ve PKOS gibi OHSS riski bulunan olgularda uygulanmıştır³⁵⁰⁻³⁵³. Erken foliküler fazda günlük 37.5 IU dozda tedaviye başlanmış ve her 10-14 günde gerek görüldüğünde 37.5 IU'lık dozlarda artış yapılmıştır. 1-2 adet dominant folikül çapı 17-18 mm'ye ulaştığında ovulasyon tetiklenmiştir.

Ovulasyon indüksiyon tedavisinin sonunda, ovulasyon tetikleme zamanı üç ve/veya üçten fazla 16 mm ve üzeri preovulatuvar folikül gelişmesi ya da bir adet 16 mm ve üzeri bunun yanında iki adet 14 mm ve üzerinde folikül gelişmesi, 11 mm ve üzeri 10'dan fazla folikül varlığı ve/veya E2 >1000 pg/mL durumlarında çoğul gebelik ve ovaryan hiperstimülasyon sendromu (OHSS) riski nedeni ile ovulasyon tetiklemesi yapılmamış, siklus iptal edilmiş ve çiftler cinsel ilişkide bulunmamaları konusunda uyarılmışlardır³⁵³⁻³⁵⁵.

Semen örnekleri, 2-6 gün cinsel perhiz dönemlerinden sonra mastürbasyon ile elde edilmiştir. Klinikte toplanan tüm sperm örneklerini oda sıcaklığında sıvılaşmaya 20 dakika süre bırakılmıştır. Tüm semen örnekleri aynı laboratuvarında (Dokuz Eylül Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği Laboratuvarı), aynı kişi tarafından (Yard. Doç. Dr. Elvan KOYUN OK) tarafından analiz edilmiş ve inseminasyon için hazırlanmıştır. Standart semen parametreleri 2010 WHO yönergelerine göre, morfolojik inceleme Kruger kriterlerine göre analiz edilmiştir.

Semen numuneleri yoğunluk gradyan ortamı (PureSperm®, Nidacon, International AB, İsveç) ve sperm yıkama ortamı (Sperm Wash®, Nidacon, International AB, İsveç) kullanılarak işlenmiştir. İşlem için % 80 ve % 40 PureSperm® gradyanlarını kullanılmıştır. Tüm prosedürler steril koşullar altında gerçekleştirilmiştir. İşlemler için kullanılan medium 37°C'ye getirilmiştir. Alt tabaka için %80 PureSperm gradyan steril 1 mL pipet kullanılarak konik santrifüj tüpüne

aktarılmıştır. Üst katman için, %40 PureSperm® gradyanı, yeni bir steril 1 mL pipet kullanılarak alt tabakanın üstüne yavaşça dağıtılmıştır. Sıvılaştırılmış semen numunesi daha sonra üst tabakanın üstüne yerleştirmiş ve tüp 15 dakika 1800 rpm'de santrifüj edilmiştir. Üst ve alt tabakalar peleti rahatsız etmeden dikkatle aspire edilmiştir. Sperm yıkama ortamı eklenmiş ve pelet bir 4 mL transfer pipeti kullanılarak yeniden süspanse edilmiştir. Daha sonra tüp, 5 dakika 1500 rpm'de santrifüj edilmiştir. Süpernatant daha sonra uzaklaştırılmış ve peletin tepesinde yavaşça 0.3-0.5 mL sperm yıkama ortama dağıtılmıştır. Tüp daha sonra inkübe edilmiştir. 30 dakika sonra konsantrasyon ve hareketlilik kaydedilmiştir.

Morfoloji Spermac boyama prosedürü (FertiPro®, Beernem, Belçika) ile değerlendirilmiştir. Morfoloji değerlendirilmesi 200 spermatozoanın Spermac ile boyanmasıyla gerçekleştirilmiştir. Bunlar anormal akrozom, baş, orta parça ve kuyruk formlarıdır. Örnekler, Kruger tarafından tarif edilen yöntemle göre, x 1000 büyütmede bir ışık mikroskobu altında değerlendirilmiştir. Normal morfoloji yüzdesi % 4 olarak kaydedilmiştir. Boşalma zamanı, sperm yıkama zamanının başlangıcı ve inkübasyonun başlangıcı kaydedilmiştir.

İnseminasyona hazırlanan spermier için ise inseminasyon günü tekrar sperm örnekleme yapılmıştır. Sperm değerlendirilmesi 'İntrauterin İnseminasyon' kısmında anlatıldığı gibi yapılmıştır.

İntrauterin inseminasyon işlemi için hasta jinekolojik muayene masasında ve litotomi pozisyonunda hazırlanmıştır. Vulva ve vajen serum fizyolojik ile temizlenmiş, hazırlanan 0.3-0.5 ml sperm örneği, inseminasyon kateteri (Gynetics®) yardımı ile servikal osun geçilmesini takiben uterin boşluğa enjekte edilmiştir. İntrauterin inseminasyon işleminin ardından tüm hastalar 10 dakika supin pozisyonunda dinlendirilmiştir.

Literatürde belirtildiği üzere luteal faz desteği amaçlı intravajinal uygulama şeklinde mikronize progesteron uygulanmıştır³⁵⁶.

Tüm hastalardan inseminasyondan iki hafta sonra serumda β -hCG ölçümü yapılarak gebeliğin elde edilip edilmediği değerlendirilmiştir. Serum β -hCG değeri 25 mIU/ml'nin üzerinde olan olgular biyokimyasal gebelik olarak değerlendirilmiştir. Klinik gebelik varlığı, β -hCG değeri pozitifliğinden 3 hafta sonra transvajinal ultrasonda fetal kalp atımlarının tespiti olarak kabul

edilmiştir.

3.1. Serum Biyokimyasal Değerlendirme Yöntemleri ve Görüntüleme Tekniği

Olguların takibinde Medison SonoAce X6 C3-7EP,C2-8 nolu prob transvajinal ultrason kullanılmıştır.

Alınmış kan örneklerinde çalışılan parametreler ve Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda kabul edilen normal değer aralıkları: FSH (3.85-8.78 mIU/mL), LH (1.68-15 mIU/mL), TSH (0,34-5.6 µIU/mL), PRL (3.8 -26.7 ng/mL), E2 (20-150 pg/mL), β-hCG (<5 mIU/mL) olarak belirlenmiştir. FSH, LH, TSH, PRL ve β-hCG kemoiminesans yöntemi ile İmmulite 2000xp cihazı immulite 2000 kitleri kullanılarak ölçüm yapılmıştır.

3.2. İstatistiksel Analiz

Gonadotropin kombine intrauterin inseminasyon rutin tedavisindeki başarı oranı yaklaşık olarak % 15' tir. Kliniğimizin 1 yıllık kayıtlarından minimum 138 hastaya ulaşılabileceği saptanmıştır. Tanımlayıcı olarak her iki gruba ait yaş, VKİ, ek hastalık vb. ölçüm ile elde edilen parametrik koşullar sağlayan değerler, SD (standart deviasyon) ile ifade edilmiştir. Sayım ile elde edilen değişkenler frekans ve yüzde ile gösterilmiştir. Verilerin normallik analizi Kolmogorov Smirnov testi ile yapılmıştır. Normal dağılım gösteren kategorik veriler Chi Square test, normal dağılım göstermeyen kategorik veriler Fischer Exact test, normal dağılım göstermeyen numerik veriler Student t testi ile yapılmıştır. p (p değeri) < .05 anlamlılık sınır değeri olarak alınacak ve SPSS 23.0 istatistik paket program kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Ekim 2017 – Ekim 2018 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı İnfertilite Polikliniği'ne başvurmuş, primer infertil çiftler ile çalışma gerçekleştirildi. Çalışmamızda 74 çifte ait sonuçlar incelendi.

Çalışmaya dahil edilen her iki grubu içeren, kadın olguların ortalama yaşı 28.9 (20-35), erkek olguların yaşı 33.2 (22-47) olarak saptandı. Her iki grup arasında erkek sigara alışkanlığı (paket/yıl) ve kadın sigara alışkanlığı (paket/yıl) fark gözlenmedi. Gruplar arasında infertilite tedavi öyküsü açısından benzer sonuçlar saptandı.

Kadın yaşı, erkek yaşı, VKİ ve infertilite süresi açısından gruplar benzerdi. İnfertilite nedenleri karşılaştırıldığında gruplar arasında fark gözlenmedi. Erkek faktör nedeni; Grup I için %57.9 , Grup II için %58.3 oranında saptanmıştır. Her iki grubun infertilite nedenleri içinde en sık neden olarak erkek faktör saptanmıştır. Endometriozis ise her iki tetikleme grubu içinde en az rastlanan infertilite nedeni olarak tespit edilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. Grupların demografik özellikleri

Özellikler	Grup I (hCG tetikleme)				Grup II (hCG+agonist tetikleme)				p değeri
	n: 38				n: 36				
	Min.	Maks.	Ortalama	±SD	Min.	Maks.	Ortalama	±SD	
Kadın yaşı (sayı)	22	35	28.97	3.95	20	35	28.94	4.52	.48
Erkek yaşı(sayı)	27	47	34.05	4.27	24	46	32.30	5.90	.16
VKİ (%,kg/m ²)	18	35.50	26.10	4.63	18.60	33	25.55	3.67	.56
İnfertilite süresi (yıl)	1	11	3.73	2.06	1	10	2.88	1.70	.20
İnfertilite nedenleri (sayı,%)									.81
➤ Açıklanamayan infertilite	5 ,%13.2				5 ,%13.9				
➤ PKOS	4 ,%10.5				5 ,%13.9				
➤ Erkek faktör	22 ,%57.9				21 ,%58.3				
➤ Endometriozis	1, %2.6				0 ,%0				
➤ Tubal faktör	6 ,%15.8				5 ,%13.9				

Gruplar arasında bazal serum hormon değerleri açısından farklılık saptanmamıştır (Tablo 6).

Tablo 6. Bazal serum hormon değerlerinin karşılaştırılması

Değerler	Grup 1 (hCG tetikleme) n: 38				Grup 2 (hCG+agonist tetikleme) n: 36				p değeri
	Min.	Maks.	Ortalama	±SD	Min.	Maks.	Ortalama	±SD	
FSH (mIU/mL)	3.56	10	7.59	1.47	4.46	10	6.99	1.69	.29
LH (mIU/mL)	2.26	42.44	8.24	6.67	2.36	93	8.83	14.64	.38
E2 (pg/mL)	5.20	60	32.10	2.78	1.90	60	36.99	21.24	.06
PRL (ng/mL)	2.10	20.60	11.24	4.37	1.06	94	15.78	15.82	.24
TSH (μIU/mL)	1.03	2.96	1.82	.48	.71	2.90	1.66	.47	.79

İntrauterin inseminasyon sikluslarını değerlendirirken stimülasyon süresi (gün), toplam gonadotropin dozu (IU/gün), tetikleme günü endometrium kalınlığı (mm) kriterlerine bakıldı. Gruplar arasında bu kriterler açısından fark saptanmamıştır (Tablo 7).

Tablo 7. İntrauterin inseminasyon sikluslarının özelliklerinin karşılaştırılması

	Grup I (hCG tetikleme) n: 38				Grup II (hCG+agonist tetikleme) n: 36				p değeri
	Min.	Maks.	Ortalama	±SD	Min.	Maks.	Ortalama	±SD	
Stimülasyon süresi (gün)	6	21	10.00	3.27	5	19	10	3.48	.47
Toplam gonadotropin dozu (IU/gün)	400	1837.50	712.50	322.90	375	1425	675	249.47	.35
Tetikleme günü endometrium kalınlığı (mm)	6.50	15	10.00	2.03	6	13	9.15	1.47	.06

Tablo 8.'da olguların sperm parametreleri karşılaştırılmıştır. Gruplar arasında sperm parametreleri açısından fark saptanmamıştır.

Tablo 8. Sperm parametrelerinin karşılaştırılması

	Grup I (hCG tetikleme) n: 38				Grup II (hCG+agonist tetikleme) n: 36				p değeri
	Min.	Maks.	Ortalama	±SD	Min.	Maks.	Ortalama	±SD	
Sperm hacmi (ml)	1	8	3	1.65	1	8	3	1.39	.96
Total motil sperm sayısı (10 ⁶ /ml)	5	204	50.59	43.60	5	226	50.03	52.37	.58
Total motilite (%)	11	70	41.68	15.64	22	80	48.36	15.22	.20
Progresif motilite (%)	5	70	37.50	18.29	20	76	42	15.38	.81
Morfoloji (%)	1	4	2.68	1.27	1	5	3.11	1.11	.32
Yıkama sonrası total motil sperm sayısı (10 ⁶ /ml)	1	15	5.16	3.87	1	71.20	5.71	12.16	.30

Tablo 9.' de gösterildiği üzere, Grup I'de biyokimyasal gebelik ve klinik gebelik olgu oranları %13.2, Grup II'de ise bu oranlar %27.8 olarak saptanmış ama gruplar arasında istatistiksel fark ortaya çıkmamıştır ($p = .11$). Grup II'de çoğul gebelik saptanmadı. Grup I'de saptanan 2 olguda dikoryonik diamniotik çoğul gebelik klinik olarak tespit edildi ($p = .16$). Gruplarda OHSS tanı kriterlerine uygun bulgular saptanmamıştır.

Tablo 9. Stimülasyon sikluslarının sonuçlarının karşılaştırılması

	Grup I (hCG tetikleme) n: 38	Grup II (hCG+agonist tetikleme) n: 36	p değeri
hCG pozitif olgu sayısı, yüzdesi	5, %13.2	10, %27.8	.11
Klinik gebelik olgu sayısı, yüzdesi	5, %13.2	10, %27.8	.11
Çoğul gebelik olgu sayısı,yüzdesi	2, %5.3	0, %0	.16

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kadınlarda oosit sayısı, atrezi süreci boyunca doğal ve aşamalı olarak azalır. Özellikle 35 yaşından sonra kadınların gebe kalabilme ihtimali çok daha hızlı azalma göstermektedir³⁵⁷.

J Osaikhuvewuomwan ve ark.'nın çalışmasında, kontrollü ovaryan stimülasyonu ile birlikte İUI uygulanacak hastalar Grup I; 30 yaş, Grup II; 30-34 yaş, Grup III; 34-39 yaş ve Grup IV; 40 yaş ve üzeri olacak şekilde 4 gruba ayrılmıştır. Çalışmanın birincil sonucu olarak biyokimyasal gebelik testini pozitifliği belirlenmiştir. Grup I'de gebelik oranı 6/18 (%33), Grup II'de gebelik oranı 19/83 (%22.9), Grup III'te gebelik oranı 12/90 (%13.3) ve Grup IV'te 2/26 (%7.7) olarak saptanmıştır. 35 yaşından küçük olguların gebelik oranı, 35 yaşından büyük olguların gebelik oranından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fazla bulunmuştur. Aynı çalışmada 35 yaşından büyük olgularda abortus oranının daha fazla olduğu tespit edilmiştir ($p = .094$)³⁵⁷.

Çalışmamıza dahil edilen her iki grubu içeren, kadın olguların ortalama yaşı 28.9 (20-35)' dur. Gruplar arasında kadın yaşı açısından farklılık saptanmamıştır. Erken hafta gebelik kaybı iki grupta da görülmemiştir.

Araştırmalar, baba yaşının öneminin, maternal yaştan anlamlı derecede daha az olduğunu, ancak ileri yaştaki babanın, çocukları etkileyen çeşitli koşullarda rol oynadığını ileri sürmektedir. Bazı çalışmalar ileri baba yaşı için gebelik oranı hesaplarken sınırlama koysalar da, diğerleri baba yaşını devamlı bir değişken olarak kabul ederler ve olguları yaşlarına göre gruplayıp çalışma sonuçlarını analiz ederler³⁵⁸. Çalışmalarda yapılan herhangi bir yaş sınırlaması yanıltıcı olabilir çünkü erkek doğurganlığı birçok faktörden etkilenmektedir. Bu nedenle, ileri baba yaşının tanımı çalışmalarda subjektif olabilmektedir. Babanın 40 yaşında olması, yaş eşiği kullanan çalışmalarda ortak nokta olmaktadır. Kadın olguların özelliklerinin farklılık göstermediği çalışmada, 12 aylık bir dönem içinde gebelik oranı, 30 yaşın altındaki erkeklerle karşılaştırıldığında 40 yaşın üstündeki erkeklerde %30'dan daha az olarak saptanmıştır³⁵⁹.

Çalışmamıza dahil edilen her iki grubu içeren erkek olguların ortalama yaşı 33.2 (22-47)' dur. Gruplar arasında erkek yaşı açısından farklılık saptanmamıştır.

İnfertilite süresi uzadıkça başarı oranları düşmektedir ve siklus başına gebelik oranları da azalmaktadır. İntrauterin inseminasyon olgularında gebelik başarısıyla infertilite süresi arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmada, infertilite süresi 4 yılın altında olan grubun gebelik sonuçları, 10 yılın üzerinde infertilite süresi olan gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır¹¹⁹.

Grup I'in ortalama infertilite süresi 3.73 yıl, Grup II'nin ise 2.88 yıl olarak kaydedilmiştir. Çalışma grupları arasında infertilite süreleri açısından farklılık bulunmamıştır.

İdeal vücut ağırlığının çok üstünde veya altında olan kadınlar, ovulatuvar disfonksiyon ve infertiliteye eğilimlidir. Kesitsel bir çalışma, diğer infertilite faktörleri gruplar arasında homojenize edildiğinde, VKİ >30 kg/m² olan olguların gebelik başarısının, VKİ<30 kg/m² olan olgulara kıyasla yarıya düştüğünü saptanmıştır³⁶⁰. Birçok çalışma göstermiştir ki; VKİ<17 kg/m² ve VKİ>30 kg/m² olan kadınlarda infertilite oranları artmaktadır³⁶¹⁻³⁶³. 18 yaşında (VKİ <18.5 kg/m² olan) düşük kilolu kadınların normal kilolu kadınlara kıyasla gebe kalma süresinde %25'lik bir artış olduğunu saptanmıştır³⁶⁴. 8570 donör sperm ile yapılmış İÜİ olgularını inceleyen retrospektif çalışmada, gebelik oranı VKİ>28 kg/m² olan grupta, VKİ<28 kg/m² olan gruba kıyasla anlamlı olarak daha az saptanmıştır³⁶⁵.

Çalışmamızda Grup I'in VKİ ortalama 26.10 (18-35.50) kg/m² ve Grup II'nin VKİ ortalama 25.55 (18.60-33) kg/m² olarak hesaplanmıştır. İki grup arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

'Genel Bilgiler' kısmında belirtildiği üzere infertilite nedenleri %40-55 oranında kadına, % 30-40 oranında erkek, %10-15 oranında ise açıklanamayan infertilite grubu oluşturmaktadır. Grup I ve II için sırasıyla erkek faktör nedeni %57.9 ve %58.3, açıklanamayan infertilite oranı sırasıyla %13.2 ve %13.9 olarak saptanmıştır. Bunun nedeni olarak ise; sperm parametrelerini kısıtlayan bir değerlendirme yapmamış olmamızdır.

Tablo 6.'de gösterilen serum bazal hormon değerleri 'Genel Bilgiler' ve 'Materyal ve Method' kısmında detaylandırılmıştır. Bu değerler hipotalamus-hipofiz-over aksı üzerindeki etkileri nedeni ile ovulasyonu ve gebelik sonuçlarını etkilemektedir. Çalışmamıza dahil edilen olguların serum bazal hormon değerlerinin birincil sonuçlarını olumsuz yönde etkilemediği

literatüre dayanarak ilgili kısımlarda belirtilmiştir. Gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır.

508 gonadotropin kombine İÜİ siklusu ile yapılan retrospektif çalışmada, hastalar ovulasyon tetiklemesi günü endometrial kalınlıklarına göre 3 gruba ayrılmışlardır (Grup I <8 mm, Grup II 8-12 mm, Grup III >12 mm). Grupların gebelik sonuçları incelendiğinde Grup II'nin sonuçlarının diğer gruplara göre anlamlı olarak daha fazla olduğu saptanmıştır³⁶⁶. Çalışmamızda her iki grubun tetikleme günü ortalama endometrial kalınlığı 10 mm olarak saptanmıştır ve gruplar arasında fark gözlenmemiştir.

Kruger kriterlerine göre sperm morfolojisi %4'ün üzerinde normal kabul edilmektedir. IVF ile ilgili yapılan birçok çalışmada, morfolojinin IVF başarısı üzerine prediktif etkisi olduğu gösterilmiştir³⁶⁷. Ancak, İÜİ prosedüründe sperm morfolojisinin etkisi net değildir. İÜİ ile ilgili birçok çalışmada, sperm morfolojisinin gebelik oranlarına etkileri ile ilgili farklı ve birbiriyle çelişen sonuçlar bildirilmiştir. Lindheim ve ark.³⁶⁸ morfoloji ile gebelik oranlarını ilişkili bulmuşlardır. Lockwood ve ark.³⁶⁹, Karabinus ve ark.³⁷⁰, Check ve ark.³⁷¹ ise morfolojiyi prediktif bulmamışlardır.

Bizim çalışmamızda her iki grupta da morfolojisi %4'ten az olan olgular bulunmaktadır ancak gruplar arasında sperm morfolojisi açısından fark bulunmamaktadır.

Horvath ve arkadaşları hastaları insemine edilen yıkama sonrası total motil sperm sayısı $<1 \times 10^6/\text{ml}$ ve $>1 \times 10^6/\text{ml}$ olarak iki gruba ayırdıklarında sırası ile siklus başına %2.6 ve %11.6 gebelik oranları elde ettiklerini ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu bildirmişlerdir³⁷². Öte yandan Terada ve arkadaşları ise erkek faktörüne bağlı infertilitede İÜİ sikluslarındaki gebelik sonuçları ile yıkama sonrası total motil sperm sayısı arasında ilişki olmadığını bildirmişlerdir³⁷³. Burr ve arkadaşları hastaları semenindeki hareketli sperm sayısına göre $\leq 2 \times 10^6/\text{ml}$ ve $> 2 \times 10^6/\text{ml}$ olarak gruplandırırlarında sırayla siklus başına %13.5 ve %16.8 gebelik oranı elde etmişler fakat bu gebelik oranları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmişlerdir³⁷⁴.

Çalışmamıza dahil edilen erkeklerin yıkama sonrası total sperm sayısı minimum $1 \times 10^6/\text{ml}$ olarak belirlenmiştir. Yıkama sonrası total sperm sayısı Grup I'de ortalama $5.16 \times 10^6/\text{ml}$ ve

Grup II'de ortalama $5.71 \times 10^6/\text{ml}$ olarak tespit edilip gruplar arası sonuçlar benzer olarak saptanmıştır.

Son yıllarda kabul edilen genel görüşe göre; erkek faktörde, İÜİ işleminin uygulanabilmesi için, sperm hazırlığı sonrasında, inseminasyon materyalinde en az, $1-5 \times 10^6/\text{ml}$ arasında total motil sperm sayısının olması önerilmektedir. Huang ve arkadaşları İÜİ uyguladıkları hastaların gebe olan gruptaki sperm hazırlama öncesi hareketli sperm sayısı ortalamasının gebe olmayan gruba göre anlamlı olarak yüksek olduğunu ayrıca hazırlama öncesi hareketli sperm sayısının $5 \times 10^6/\text{ml}$ altı ve üstündeki değerleri kıyasladığında gebelik oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark elde ettiklerini bildirmişlerdir³⁷⁵. Ülkemizdeki Sağlık Bakanlığı Üremeye Yardımcı Tedavi Yöntemleri Yönetmeliği'nce, total motil sperm sayısı $5 \times 10^6/\text{ml}$ altındaki olgulara IVF, $1 \times 10^6/\text{ml}$ altındaki olgulara ICSI önerilmektedir.

Total motil sperm sayısı Grup I için ortalama $50.59 \times 10^6/\text{ml}$ ($5 \times 10^6/\text{ml}$ - $204 \times 10^6/\text{ml}$) ve Grup II için ortalama $50.03 \times 10^6/\text{ml}$ ($5 \times 10^6/\text{ml}$ - $226 \times 10^6/\text{ml}$) olarak hesaplanmıştır. Gruplar arasında total motilite, progresif motilite ve total motil sperm sayısı arasında fark bulunmamıştır.

Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) agonist tetiklemesi, endojen bir gonadotropin flare-up etkisi sonuçlanır. Hipotalamus-hipofizer ekseninde negatif geri besleme yoluyla hipofiz tarafından salgılanan luteinize edici hormon (LH) sekresyonunu doğrudan önleyecek ve luteal faz defektine yol açacaktır. Literatürde belirtildiği üzere progesteron, gebe olmayan uterusu gevşeme etkisi göstermektedir ve embriyonun implantasyon başarısını arttırmaktadır³⁷⁶. Tüm kadın hastalara vajinal progesteron ile luteal faz desteği yapıldığı saptanmıştır.

Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) analogu ile ovulasyon tetiklendiğinde, FSH piki doğal sıklıya uygun olarak taklit edilmektedir. FSH, ovulasyon için granüloza hücrelerindeki LH reseptör sayısını ve oosit nükleusunun matürasyonunu arttırmaktadır. Aynı zamanda, endojen LH yükselişini sağlayarak oosit nükleusunun matürasyonuna katkıda bulunmaktadır. Ovulasyonu tetiklemede hCG ile birlikte GnRH analogu uygulamasının, standart hCG uygulaması ile karşılaştırıldığı çok sayıda IVF çalışması mevcuttur ve tek başına hCG kullanımına göre artmış klinik gebelik oranları ile birlikte olduğu belirtilmiştir¹⁵⁻¹⁸.

Gonadotropin salgılatıcı hormon agonistinin, hCG yerine, son foliküler olgunlaşma için tetikleyici olarak uygulanmasının, luteal uyarım süresini kısaltarak, luteolizi indükleyip

östrojen seviyelerini düşürerek ve VEGF salgılanmasını azaltarak OHSS riskini azaltacağına dair kanıtlar mevcuttur^{377,378}.

Krishina ve ark.³⁷⁹, 207 PKOS olgusuna GnRH antagonist protokolü ile IVF planlamışlardır. Bu prospektif randomize kontrollü çalışmada, bir gruba ovulasyon tetiklemesi zamanı 0.2 mg GnRH agonisti, diğer gruba ise 250 µg of rekombinant hCG uygulamışlardır. GnRH agonisti ile tetiklenen grupta OHSS saptanmamıştır. hCG ile ovulasyon tetiklemesi yapılan grupta %37.6 oranında orta ve şiddetli OHSS saptanmıştır ($p < .001$).

Shapiro ve ark.'nın, IVF sikluslarında GnRH agonisti ile birlikte hCG tetikleme protokolü uyguladıkları hasta grubunda OHSS görülmemiştir. Çalışmada çift tetiklemenin güvenli ve efektif olduğu sonucuna varmışlardır³⁷⁸.

Çalışmamızda gruplar içinde OHSS saptanmamıştır. Çalışmaya alınan hasta sayısının az olması bu durumu açıklamaktadır.

Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) agonisti ve insan koryonik gonadotropini (hCG) ile ovulasyonun ikili tetiklenmesinin, IVF sikluslarının klinik gebelik sonuçlarını etkilemediği ancak elde edilen embriyoların kalitesini ve sayısını arttırdığı ortaya koyulmuştur³⁸⁰.

Ding N ve ark.'nın IVF sikluslarında ikili tetikleme protokünün klinik sonuçlarını inceledikleri randomize kontrollü çalışmada, ikili tetikleme protokolünün gebelik başarısını 1.5 kat arttırdığı ancak elde edilen embriyoların kalitesi ve sayısı üzerinde anlamlı etkisinin olmadığı saptanmıştır³⁸¹.

Eftekar M ve ark.'nın, yaptığı randomize kontrollü çalışmada ise, ikili tetikleme protokolü uygulanan grupta toplanan oosit sayısının ve elde edilen embriyo kalitesinin, sadece hCG ile tetikleme protokolü uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıkta olduğunu belirtilmiştir. İmplantasyon başarısı ve gebelik oranları açısından gruplar arasında fark gözlemlenmemişlerdir³⁸². Öte yandan aynı tetikleme protokollerinin karşılaştırıldığı başka bir randomize kontrollü çalışmada, fertilizasyon oranları ve toplanan oosit sayısı sonuçları gruplar arasında fark göstermemiştir³⁸³.

Gonadotropin salgılatıcı hormon antagonist protokolü ile stimüle edilen IVF sikluslarında son oosit olgunlaşması için tetikleme zamanı düşük doz (0.1 mg triptorelin asetat) gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) agonistinin etkinliğini araştırılmıştır. Her iki grupta luteal faz desteği peroral östradiol ve vajinal progesteron ile yapılmıştır. Son oosit olgunlaşması için 0.2 mg triptorelin asetat ile tetikleme yapılan grubun implantasyon ve gebelik başarısı oranı, 0.1 mg triptorelin asetat ile tetikleme yapılan gruba göre daha başarılı olduğu saptanmıştır. Ancak gruplar arasında istatistiksel olarak fark saptanmamıştır (sırasıyla; %71.4, %46.1)³⁸⁴.

Ancak bazı çalışmalar sadece GnRH agonisti tetiklemesi protokolünün gebelik kayıplarını arttırdığını saptamışlardır^{385,386}. Buna karşın, GnRH agonist tetikleme protoküne 12 veya 35 saat sonra düşük doz hCG eklenmesi ile gebelik kaybını artmadığı gösterilmiştir³⁸⁷.

Klinik ve biyokimyasal gebelik sonuçları açısından çalışmamızda gruplar arasında fark saptanmamıştır ($p = .11$). Grup II' de çoğul gebelik saptanmamıştır. Grup I içinde iki olguda çoğul gebelik (dikoryonik diamniotik ikiz gebelik) saptandı ($p = .16$). Çoğul gebelik saptanan olguların takip formları incelendiğinde tetikleme günü 16 mm ve üzerinde iki adet folikülleri olduğu saptanmıştır.

Ovulasyonu tetiklemede hCG ile birlikte GnRH analogu uygulamasının, standart hCG uygulaması ile karşılaştırıldığı çok sayıda IVF çalışması mevcuttur ve tek başına hCG kullanımına göre artmış klinik gebelik oranları ile birlikte olduğu literatürde belirtilmiştir. Buna karşın, gonadotropin kombine intrauterin inseminasyon sikluslarında hCG/GnRH agonist uygulaması ile birlikte ovulasyon tetiklemesinin etkisini değerlendiren iyi planlanmış herhangi bir randomize kontrollü çalışma mevcut değildir.

Yapılacak prospektif randomize çalışmalara ışık tutması açısından daha fazla olguyu içeren verilere ihtiyaç olduğu görülmektedir.

6. KAYNAKÇA

1. Pfeifer S et al. Optimizing natural fertility: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2013;100(3):631-637.
2. Hull MG, Fleming CF, Hughes AO, McDermott A. The age-related decline in female fecundity: a quantitative controlled study of implanting capacity and survival of individual embryos after in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1996;65(4):783-790.
3. Ziebe S, Loft A, Petersen JH, et al. Embryo quality and developmental potential is compromised by age. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2001;80(2):169-174.
4. Chandra A, Copen CE, Stephen EH. Infertility and impaired fecundity in the United States, 1982-2010: data from the National Survey of Family Growth. *Natl Health Stat Report*. 2013;(67):1-18.
5. Zinaman MJ, Clegg ED, Brown CC, O'Connor J, Selevan SG. Estimates of human fertility and pregnancy loss. *Fertil Steril*. 1996;65(3):503-509.
6. Wilcox AJ, Weinberg CR, O'Connor JF, et al. Incidence of early loss of pregnancy. *N Engl J Med*. 1988;319(4):189-194.
7. Gosden RG. Maternal age: a major factor affecting the prospects and outcome of pregnancy. *Ann N Y Acad Sci*. 1985;442:45-57.
8. Gomez R, Schorsch M, Steetskamp J, et al. The effect of ovarian stimulation on the outcome of intrauterine insemination. *Arch Gynecol Obstet*. 2014;289(1):181-185.
9. Mahani IM, Afnan M. The pregnancy rates with intrauterine insemination (IUI) in superovulated cycles employing different protocols (clomiphen citrate (CC), human menopausal gonadotropin (HMG) and HMG+CC) and in natural ovulatory cycle. *J Pak Med Assoc*. 2004;54(10):503-505.
10. Farquhar CM, Liu E, Armstrong S, Arroll N, Lensen S, Brown J. Intrauterine insemination with ovarian stimulation versus expectant management for unexplained infertility (TUI): a pragmatic, open-label, randomised, controlled, two-centre trial. *Lancet (London, England)*. 2018;391(10119):441-450.
11. Veltman-Verhulst SM, Cohlen BJ, Hughes E, Heineman MJ. Intra-uterine insemination for unexplained subfertility. *Cochrane database Syst Rev*. 2012;(9)
12. Matorras R, Diaz T, Corcostegui B, Ramon O, Pijoan JJ, Rodriguez-Escudero FJ. Ovarian stimulation in intrauterine insemination with donor sperm: a randomized study comparing clomiphene citrate in fixed protocol versus highly purified urinary FSH. *Hum Reprod*. 2002;17(8):2107-2111.
13. Hansen KR, He ALW, Styer AK, et al. Predictors of pregnancy and live-birth in couples with unexplained infertility after ovarian stimulation-intrauterine insemination. *Fertil Steril*. 2016;105(6):1575-1583.e2. doi:10.1016/j.fertnstert.2016.02.020
14. Shupnik MA, Weinmann CM, Notides AC, Chin WW. An upstream region of the rat luteinizing hormone beta gene binds estrogen receptor and confers estrogen responsiveness. *J Biol Chem*. 1989;264(1):80-86.
15. Orvieto R. Triggering final follicular maturation-hCG, GnRH-agonist or both, when and to whom? *J Assist Reprod Genet*. 2016;33(10):1415-1416.
16. Fabris AM, Cruz M, Legidos V, Iglesias C, Munoz M, Garcia-Velasco JA. Dual Triggering With Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist and Standard Dose Human Chorionic Gonadotropin in Patients With a High Immature Oocyte Rate. *Reprod Sci*. 2017;24(8):1221-1225.
17. Chen C-H, Tzeng C-R, Wang P-H, et al. Dual triggering with GnRH agonist plus hCG versus triggering with hCG alone for IVF/ICSI outcome in GnRH antagonist cycles: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2018;298(1):17-26.

18. Elgindy EA, Sibai H, Mostafa MI, Gibreel A, Darwish E, Maghraby H. Towards an optimal luteal support modality in agonist triggered cycles: a randomized clinical trial. *Hum Reprod.* 2018;33(6):1079-1086.
19. Brosens I, Gordts S, Valkenburg M, Puttemans P, Campo R, Gordts S. Investigation of the infertile couple: when is the appropriate time to explore female infertility? *Hum Reprod.* 2004;19(8):1689-1692.
20. Child TJ, Abdul-Jalil AK, Gulekli B, Tan SL. In vitro maturation and fertilization of oocytes from unstimulated normal ovaries, polycystic ovaries, and women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2001;76(5):936-942.
21. Schwartz D, Mayaux MJ. Female fecundity as a function of age: results of artificial insemination in 2193 nulliparous women with azoospermic husbands. Federation CECOS. *N Engl J Med.* 1982;306(7):404-406.
22. Mosher WD, Pratt WF. Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. *Fertil Steril.* 1991;56(2):192-193.
23. Slama R, Hansen OKH, Ducot B, et al. Estimation of the frequency of involuntary infertility on a nation-wide basis. *Hum Reprod.* 2012;27(5):1489-1498.
24. Gnoth C, Godehardt D, Godehardt E, Frank-Herrmann P, Freundl G. Time to pregnancy: results of the German prospective study and impact on the management of infertility. *Hum Reprod.* 2003;18(9):1959-1966.
25. Guttmacher AF. Factors affecting normal expectancy of conception. *J Am Med Assoc.* 1956;161(9):855-860.
26. Wang X, Chen C, Wang L, Chen D, Guang W, French J. Conception, early pregnancy loss, and time to clinical pregnancy: a population-based prospective study. *Fertil Steril.* 2003;79(3):577-584.
27. Pfeifer S et al. Diagnostic evaluation of the infertile female: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2012;98(2):302-307.
28. Sharlip ID, Jarow JP, Belker AM, et al. Best practice policies for male infertility. *Fertil Steril.* 2002;77(5):873-882.
29. The American College of Obstetricians Gynecologists Committee. Female age-related fertility decline. Committee Opinion No. 589. *Fertil Steril.* 2014;101(3):633-634.
30. The American Society for Reproductive Medicine Committee. Revised minimum standards for practices offering assisted reproductive technologies: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2014;102(3):682-686.
31. Hull MG, Glazener CM, Kelly NJ, et al. Population study of causes, treatment, and outcome of infertility. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1985;291(6510):1693-1697.
32. Crosignani PG, Rubin BL. Optimal use of infertility diagnostic tests and treatments. The ESHRE Capri Workshop Group. *Hum Reprod.* 2000;15(3):723-732.
33. Givens CR, Schriock ED, Dandekar P V, Martin MC. Elevated serum progesterone levels on the day of human chorionic gonadotropin administration do not predict outcome in assisted reproduction cycles. *Fertil Steril.* 1994;62(5):1011-1017.
34. Filicori M, Butler JP, Crowley WFJ. Neuroendocrine regulation of the corpus luteum in the human. Evidence for pulsatile progesterone secretion. *J Clin Invest.* 1984;73(6):1638-1647.
35. Miller PB, Soules MR. The usefulness of a urinary LH kit for ovulation prediction during menstrual cycles of normal women. *Obstet Gynecol.* 1996;87(1):13-17.
36. Nielsen MS, Barton SD, Hatasaka HH, Stanford JB. Comparison of several one-step home urinary luteinizing hormone detection test kits to Ovunque. *Fertil Steril.* 2001;76(2):384-387.

37. Martinez AR, Bernardus RE, Vermeiden JP, Schoemaker J. Time schedules of intrauterine insemination after urinary luteinizing hormone surge detection and pregnancy results. *Gynecol Endocrinol*. 1994;8(1):1-5.
38. Balasch J, Fabregues F, Creus M, Vanrell JA. The usefulness of endometrial biopsy for luteal phase evaluation in infertility. *Hum Reprod*. 1992;7(7):973-977.
39. The American Society for Reproductive Medicine Committee. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2012;98(6):1407-1415.
40. Dickey RP, Holtkamp DE. Development, pharmacology and clinical experience with clomiphene citrate. *Hum Reprod Update*. 1996;2(6):483-506.
41. Hendriks DJ, Mol B-WJ, Bancsi LFJMM, te Velde ER, Broekmans FJM. The clomiphene citrate challenge test for the prediction of poor ovarian response and nonpregnancy in patients undergoing in vitro fertilization: a systematic review. *Fertil Steril*. 2006;86(4):807-818.
42. Toner JP, Seifer DB. Why we may abandon basal follicle-stimulating hormone testing: a sea change in determining ovarian reserve using antimullerian hormone. *Fertil Steril*. 2013;99(7):1825-1830.
43. Westrom L. Incidence, prevalence, and trends of acute pelvic inflammatory disease and its consequences in industrialized countries. *Am J Obstet Gynecol*. 1980;138(7 Pt 2):880-892.
44. Patton PE, Williams TJ, Coulam CB. Results of microsurgical reconstruction in patients with combined proximal and distal tubal occlusion: double obstruction. *Fertil Steril*. 1987;48(4):670-674.
45. Wiedemann R, Hepp H. Selection of patients for IVF therapy or alternative therapy methods. *Hum Reprod*. 1989;4(8 Suppl):23-27.
46. Dubuisson JB, Bouquet de Joliniere J, Aubriot FX, Darai E, Foulot H, Mandelbrot L. Terminal tuboplasties by laparoscopy: 65 consecutive cases. *Fertil Steril*. 1990;54(3):401-403.
47. Strandell A, Lindhard A. Why does hydrosalpinx reduce fertility? The importance of hydrosalpinx fluid. *Hum Reprod*. 2002;17(5):1141-1145.
48. Caglayan E, Okyay E, Bodur T, et al. Hysterosalpingography prior to the gonadotropin stimulated intrauterine insemination improves clinical pregnancy rates in women with unexplained infertility. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2017;44(1):65-69.
49. Evers JLH, Land JA, Mol BW. Evidence-based medicine for diagnostic questions. *Semin Reprod Med*. 2003;21(1):9-15. doi:10.1055/s-2003-39990
50. Swart P, Mol BW, van der Veen F, van Beurden M, Redekop WK, Bossuyt PM. The accuracy of hysterosalpingography in the diagnosis of tubal pathology: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 1995;64(3):486-491.
51. Ploteau S, Merlot B, Roman H, Canis M, Collinet P, Fritel X. [Minimal and mild endometriosis: Impact of the laparoscopic surgery on pelvic pain and fertility. CNGOF-HAS Endometriosis Guidelines]. *Gynecol Obstet Fertil Senol*. 2018;46(3):273-277.
52. Ludwin A, Ludwin I, Banas T, Knafel A, Miedzyblocki M, Basta A. Diagnostic accuracy of sonohysterography, hysterosalpingography and diagnostic hysteroscopy in diagnosis of arcuate, septate and bicornuate uterus. *J Obstet Gynaecol Res*. 2011;37(3):178-186.
53. Toya M, Saito H, Ohta N, Saito T, Kaneko T, Hiroi M. Moderate and severe endometriosis is associated with alterations in the cell cycle of granulosa cells in patients undergoing in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril*. 2000;73(2):344-350.

54. Eimers JM, te Velde ER, Gerritse R, van Kooy RJ, Kremer J, Habbema JD. The validity of the postcoital test for estimating the probability of conceiving. *Am J Obstet Gynecol*. 1994;171(1):65-70.
55. Oei SG. The postcoital test: a controversial investigation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1998;77(2):123-124.
56. Forti G, Krausz C. Clinical review 100: Evaluation and treatment of the infertile couple. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(12):4177-4188.
57. 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.
58. Grimbizis GF, Camus M, Tarlatzis BC, Bontis JN, Devroey P. Clinical implications of uterine malformations and hysteroscopic treatment results. *Hum Reprod Update*. 2001;7(2):161-174.
59. Corroenne R, Legendre G, May-Panloup P, et al. Surgical treatment of septate uterus in cases of primary infertility and before assisted reproductive technologies. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. August 2018.
60. Vollenhoven BJ, Lawrence AS, Healy DL. Uterine fibroids: a clinical review. *Br J Obstet Gynaecol*. 1990;97(4):285-298.
61. Whynott RM, Vaught KCC, Segars JH. The Effect of Uterine Fibroids on Infertility: A Systematic Review. *Semin Reprod Med*. 2017;35(6):523-532.
62. Ben-Arie A, Goldchmit C, Laviv Y, et al. The malignant potential of endometrial polyps. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2004;115(2):206-210.
63. DeWaay DJ, Syrop CH, Nygaard IE, Davis WA, Van Voorhis BJ. Natural history of uterine polyps and leiomyomata. *Obstet Gynecol*. 2002;100(1):3-7.
64. Perez-Medina T, Bajo-Arenas J, Salazar F, et al. Endometrial polyps and their implication in the pregnancy rates of patients undergoing intrauterine insemination: a prospective, randomized study. *Hum Reprod*. 2005;20(6):1632-1635.
65. Schenker JG. Etiology of and therapeutic approach to synechia uteri. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1996;65(1):109-113.
66. La Vignera S, Vicari E, Condorelli RA, D'Agata R, Calogero AE. Male accessory gland infection and sperm parameters (review). *Int J Androl*. 2011;34(5 Pt 2):330-47.
67. Adashi EY, Cohen J, Hamberger L, et al. Public perception on infertility and its treatment: an international survey. The Bertarelli Foundation Scientific Board. *Hum Reprod*. 2000;15(2):330-334.
68. Tyler JP, Crockett NG, Driscoll GL. Studies of human seminal parameters with frequent ejaculation. I. Clinical characteristics. *Clin Reprod Fertil*. 1982;1(4):273-285.
69. Pellestor F, Girardet A, Andreo B. Effect of long abstinence periods on human sperm quality. *Int J Fertil Menopausal Stud*. 1994;39(5):278-282.
70. Cao X-W, Lin K, Li C-Y, Yuan C-W. [A review of WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen (5th edition)]. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2011;17(12):1059-1063.
71. The American Society for Reproductive Medicine Committee. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril*. 2008;90(5 Suppl):S60.
72. Moghissi KS, Wallach EE. Unexplained infertility. *Fertil Steril*. 1983;39(1):5-21.
73. Pandian Z, Bhattacharya S, Vale L, Templeton A. In vitro fertilisation for unexplained subfertility. *Cochrane database Syst Rev*. 2005;(2).
74. Hull MG. Effectiveness of infertility treatments: choice and comparative analysis. *Int J Gynaecol Obstet*. 1994;47(2):99-108.

75. Farhi J, Weissman A, Nahum H, Levrán D. Zygote intrafallopian transfer in patients with tubal factor infertility after repeated failure of implantation with in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril*. 2000;74(2):390-393.
76. Lessey BA. Assessment of endometrial receptivity. *Fertil Steril*. 2011;96(3):522-529.
77. Fedorcsak P, Dale PO, Storeng R, et al. Impact of overweight and underweight on assisted reproduction treatment. *Hum Reprod*. 2004;19(11):2523-2528.
78. Wittemer C, Ohl J, Bailly M, Bettahar-Lebugle K, Nisand I. Does body mass index of infertile women have an impact on IVF procedure and outcome? *J Assist Reprod Genet*. 2000;17(10):547-552.
79. Smith JF, Eisenberg ML, Millstein SG, et al. Fertility treatments and outcomes among couples seeking fertility care: data from a prospective fertility cohort in the United States. *Fertil Steril*. 2011;95(1):79-84.
80. Diamond MP, Legro RS, Coutifaris C, et al. Letrozole, Gonadotropin, or Clomiphene for Unexplained Infertility. *N Engl J Med*. 2015;373(13):1230-1240.
81. Custers IM, van Rumste MME, van der Steeg JW, et al. Long-term outcome in couples with unexplained subfertility and an intermediate prognosis initially randomized between expectant management and immediate treatment. *Hum Reprod*. 2012;27(2):444-450.
82. Steures P, van der Steeg JW, Hompes PGA, et al. Intrauterine insemination with controlled ovarian hyperstimulation versus expectant management for couples with unexplained subfertility and an intermediate prognosis: a randomised clinical trial. *Lancet (London, England)*. 2006;368(9531):216-221.
83. Woodward B, Tomlinson M, Kirkman-Brown J. Replacing IUI with IVF for initial treatment of unexplained infertility: why this NICE recommendation is cause for concern. *Hum Fertil (Camb)*. 2016;19(2):80-84.
84. Shields FE. Artificial insemination as related to the female. *Fertil Steril*. 1950;1(3):271-280.
85. Van Voorhis BJ, Stovall DW, Allen BD, Syrop CH. Cost-effective treatment of the infertile couple. *Fertil Steril*. 1998;70(6):995-1005.
86. Philips Z, Barraza-Llorens M, Posnett J. Evaluation of the relative cost-effectiveness of treatments for infertility in the UK. *Hum Reprod*. 2000;15(1):95-106.
87. Goldberg JM, Mascha E, Falcone T, Attaran M. Comparison of intrauterine and intracervical insemination with frozen donor sperm: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 1999;72(5):792-795.
88. O'Brien P, Vandekerckhove P. WITHDRAWN: Intra-uterine versus cervical insemination of donor sperm for subfertility. *Cochrane database Syst Rev*. 2007;(4):CD000317.
89. P.G. Crosignani et al. Intrauterine insemination. *Hum Reprod Update*. 2009;15(3):265-277.
90. Dickey RP, Olar TT, Taylor SN, Curole DN, Rye PH. Relationship of follicle number and other factors to fecundability and multiple pregnancy in clomiphene citrate-induced intrauterine insemination cycles. *Fertil Steril*. 1992;57(3):613-619.
91. McGovern P, Quagliarello J, Arny M. Relationship of within-patient semen variability to outcome of intrauterine insemination. *Fertil Steril*. 1989;51(6):1019-1023.
92. Pittrof RU, Shaker A, Dean N, Bekir JS, Campbell S, Tan SL. Success of intrauterine insemination using cryopreserved donor sperm is related to the age of the woman and the number of preovulatory follicles. *J Assist Reprod Genet*. 1996;13(4):310-314.
93. Soffer Y, Golan A, Herman A, Pansky M, Caspi E, Ron-El R. Prediction of in vitro fertilization outcome by sperm penetration assay with TEST-yolk buffer preincubation. *Fertil Steril*. 1992;58(3):556-562.

94. Bjorndahl L, Kvist U. Sequence of ejaculation affects the spermatozoon as a carrier and its message. *Reprod Biomed Online*. 2003;7(4):440-448.
95. De Jonge C, LaFromboise M, Bosmans E, Ombelet W, Cox A, Nijs M. Influence of the abstinence period on human sperm quality. *Fertil Steril*. 2004;82(1):57-65.
96. Holstein A-F, Schulze W, Davidoff M. Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. *Reprod Biol Endocrinol*. 2003;1:107.
97. Alvarez C, Castilla JA, Martinez L, Ramirez JP, Vergara F, Gaforio JJ. Biological variation of seminal parameters in healthy subjects. *Hum Reprod*. 2003;18(10):2082-2088.
98. Weiske WH. Pregnancy caused by sperm from vasa efferentia. *Fertil Steril*. 1994;62(3):642-643.
99. Sobrero AJ, Macleod J. The immediate postcoital test. *Fertil Steril*. 1962;13:184-189.
100. Zavos PM, Goodpasture JC. Clinical improvements of specific seminal deficiencies via intercourse with a seminal collection device versus masturbation. *Fertil Steril*. 1989;51(1):190-193.
101. Pound N, Javed MH, Ruberto C, Shaikh MA, Del Valle AP. Duration of sexual arousal predicts semen parameters for masturbatory ejaculates. *Physiol Behav*. 2002;76(4-5):685-689.
102. Meschede D, Keck C, Zander M, Cooper TG, Yeung CH, Nieschlag E. Influence of three different preparation techniques on the results of human sperm morphology analysis. *Int J Androl*. 1993;16(6):362-369.
103. Poland ML, Moghissi KS, Giblin PT, Ager JW, Olson JM. Variation of semen measures within normal men. *Fertil Steril*. 1985;44(3):396-400.
104. Koyun E, Okyay RE, Dogan OE, Kovali M, Dogan SS, Gulekli B. The effect of intrauterine insemination time on semen parameters. *J Turkish Ger Gynecol Assoc*. 2014;15(2):82-85.
105. Auger J, Kunstmann JM, Czyglik F, Jouannet P. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *N Engl J Med*. 1995;332(5):281-285.
106. Cooper TG, Brazil C, Swan SH, Overstreet JW. Ejaculate volume is seriously underestimated when semen is pipetted or decanted into cylinders from the collection vessel. *J Androl*. 2007;28(1):1-4.
107. Iwamoto T, Nozawa S, Yoshiike M, et al. Semen quality of 324 fertile Japanese men. *Hum Reprod*. 2006;21(3):760-765.
108. Weiske WH, Salzler N, Schroeder-Printzen I, Weidner W. Clinical findings in congenital absence of the vasa deferentia. *Andrologia*. 2000;32(1):13-18.
109. Daudin M, Bieth E, Bujan L, Massat G, Pontonnier F, Mieuxet R. Congenital bilateral absence of the vas deferens: clinical characteristics, biological parameters, cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations, and implications for genetic counseling. *Fertil Steril*. 2000;74(6):1164-1174.
110. von Eckardstein S, Cooper TG, Rutscha K, Meschede D, Horst J, Nieschlag E. Seminal plasma characteristics as indicators of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations in men with obstructive azoospermia. *Fertil Steril*. 2000;73(6):1226-1231.
111. Wilton LJ, Temple-Smith PD, Baker HW, de Kretser DM. Human male infertility caused by degeneration and death of sperm in the epididymis. *Fertil Steril*. 1988;49(6):1052-1058.
112. Bonde JP, Ernst E, Jensen TK, et al. Relation between semen quality and fertility: a population-based study of 430 first-pregnancy planners. *Lancet (London, England)*. 1998;352(9135):1172-1177.

113. MacLeod J, Wang Y. Male fertility potential in terms of semen quality: a review of the past, a study of the present. *Fertil Steril*. 1979;31(2):103-116.
114. Fredricsson B, Bjork G. Morphology of postcoital spermatozoa in the cervical secretion and its clinical significance. *Fertil Steril*. 1977;28(8):841-845.
115. Liu DY, Garrett C, Baker HWG. Low proportions of sperm can bind to the zona pellucida of human oocytes. *Hum Reprod*. 2003;18(11):2382-2389.
116. Eggert-Kruse W, Kohler A, Rohr G, Runnebaum B. The pH as an important determinant of sperm-mucus interaction. *Fertil Steril*. 1993;59(3):617-628.
117. Jouannet P, Ducot B, Feneux D, Spira A. Male factors and the likelihood of pregnancy in infertile couples. I. Study of sperm characteristics. *Int J Androl*. 1988;11(5):379-394.
118. Mortimer D. Sperm preparation methods. *J Androl*. 2000;21(3):357-366.
119. Mollaahmadi L, Keramat A, Ghiasi A, Hashemzadeh M. The relationship between semen parameters in processed and unprocessed semen with IUI success rate. *J Turkish Ger Gynecol Assoc*. September 2018.
120. Ok EK, Dogan OE, Okyay RE, Gulekli B. The effect of post-wash total progressive motile sperm count and semen volume on pregnancy outcomes in intrauterine insemination cycles: a retrospective study. *J Turkish Ger Gynecol Assoc*. 2013;14(3):142-145.
121. Prakash P, Leykin L, Chen Z, et al. Preparation by differential gradient centrifugation is better than swim-up in selecting sperm with normal morphology (strict criteria). *Fertil Steril*. 1998;69(4):722-726.
122. Carrell DT, Kuneck PH, Peterson CM, Hatasaka HH, Jones KP, Campbell BF. A randomized, prospective analysis of five sperm preparation techniques before intrauterine insemination of husband sperm. *Fertil Steril*. 1998;69(1):122-126.
123. Gould JE, Overstreet JW, Hanson FW. Assessment of human sperm function after recovery from the female reproductive tract. *Biol Reprod*. 1984;31(5):888-894.
124. Wilcox AJ, Weinberg CR, Baird DD. Post-ovulatory ageing of the human oocyte and embryo failure. *Hum Reprod*. 1998;13(2):394-397.
125. I. Probit analysis. Temporal relationships between ovulation and defined changes in the concentration of plasma estradiol-17 beta, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and progesterone. World Health Organization, Task Force on Methods for th. *Am J Obstet Gynecol*. 1980;138(4):383-390.
126. Vlahos NF, Coker L, Lawler C, Zhao Y, Bankowski B, Wallach EE. Women with ovulatory dysfunction undergoing ovarian stimulation with clomiphene citrate for intrauterine insemination may benefit from administration of human chorionic gonadotropin. *Fertil Steril*. 2005;83(5):1510-1516.
127. Aydin Y, Hassa H, Oge T, Tokgoz VY. A randomized study of simultaneous hCG administration with intrauterine insemination in stimulated cycles. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2013;170(2):444-448.
128. Zeyneloglu HB, Arici A, Olive DL, Duleba AJ. Comparison of intrauterine insemination with timed intercourse in superovulated cycles with gonadotropins: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 1998;69(3):486-491.
129. Chavkin DE, Molinaro TA, Roe AH, Sammel MD, Dokras A. Donor sperm insemination cycles: are two inseminations better than one? *J Androl*. 2012;33(3):375-380.
130. Silverberg KM, Johnson J V, Olive DL, Burns WN, Schenken RS. A prospective, randomized trial comparing two different intrauterine insemination regimens in controlled ovarian hyperstimulation cycles. *Fertil Steril*. 1992;57(2):357-361.
131. Ragni G, Maggioni P, Guermandi E, et al. Efficacy of double intrauterine insemination in controlled ovarian hyperstimulation cycles. *Fertil Steril*. 1999;72(4):619-622.

132. Ransom MX, Blotner MB, Bohrer M, Corsan G, Kemmann E. Does increasing frequency of intrauterine insemination improve pregnancy rates significantly during superovulation cycles? *Fertil Steril*. 1994;61(2):303-307.
133. Haagen EC, Hermens RPMG, Nelen WLD, Braat DDM, Grol RPTM, Kremer JAM. Subfertility guidelines in Europe: the quantity and quality of intrauterine insemination guidelines. *Hum Reprod*. 2006;21(8):2103-2109.
134. Polat I, Ekiz A, Yildirim G, et al. Ultrasound-guided intrauterine insemination versus blind intrauterine insemination: a randomized controlled trial. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2015;42(5):657-662.
135. Zhu W-J, Li X-M, Chen X-M. [Effects of catheter depth and infused semen volume on the pregnancy of intrauterine insemination]. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2003;9(8):572-574.
136. Miller PB, Acres ML, Proctor JG, Higdon HL 3rd, Boone WR. Flexible versus rigid intrauterine insemination catheters: a prospective, randomized, controlled study. *Fertil Steril*. 2005;83(5):1544-1546. doi:10.1016/j.fertnstert.2004.11.069
137. van Rijswijk J, Caanen MR, Mijatovic V, et al. Immobilization or mobilization after IUI: an RCT. *Hum Reprod*. 2017;32(11):2218-2224.
138. Saleh A, Tan SL, Biljan MM, Tulandi T. A randomized study of the effect of 10 minutes of bed rest after intrauterine insemination. *Fertil Steril*. 2000;74(3):509-511.
139. Hill MJ, Whitcomb BW, Lewis TD, et al. Progesterone luteal support after ovulation induction and intrauterine insemination: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2013;100(5):1373-1380.
140. van der Linden M, Buckingham K, Farquhar C, Kremer JAM, Metwally M. Luteal phase support for assisted reproduction cycles. *Cochrane database Syst Rev*. 2015;(7).
141. Matorras R, Rubio K, Iglesias M, Vara I, Exposito A. Risk of pelvic inflammatory disease after intrauterine insemination: a systematic review. *Reprod Biomed Online*. 2018;36(2):164-171.
142. The American Society for Reproductive Medicine Practice Committee. Multiple gestation associated with infertility therapy: an American Society for Reproductive Medicine Practice Committee opinion. *Fertil Steril*. 2012;97(4):825-834.
143. Fauser BCJM, Devroey P, Macklon NS. Multiple birth resulting from ovarian stimulation for subfertility treatment. *Lancet (London, England)*. 2005;365(9473):1807-1816.
144. Dieterich M, Bolz M, Reimer T, Costagliola S, Gerber B. Two different entities of spontaneous ovarian hyperstimulation in a woman with FSH receptor mutation. *Reprod Biomed Online*. 2010;20(6):751-758.
145. Golan A, Ron-el R, Herman A, Soffer Y, Weinraub Z, Caspi E. Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review. *Obstet Gynecol Surv*. 1989;44(6):430-440.
146. Taylor AE, Whitney H, Hall JE, Martin K, Crowley WFJ. Midcycle levels of sex steroids are sufficient to recreate the follicle-stimulating hormone but not the luteinizing hormone midcycle surge: evidence for the contribution of other ovarian factors to the surge in normal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80(5):1541-1547.
147. Lyons CA, Wheeler CA, Frishman GN, Hackett RJ, Seifer DB, Haning RVJ. Early and late presentation of the ovarian hyperstimulation syndrome: two distinct entities with different risk factors. *Hum Reprod*. 1994;9(5):792-799.
148. Whelan JG 3rd, Vlahos NF. The ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril*. 2000;73(5):883-896.

149. Delvigne A. Symposium: Update on prediction and management of OHSS. Epidemiology of OHSS. *Reprod Biomed Online*. 2009;19(1):8-13.
150. Lewis CG, Warnes GM, Wang XJ, Matthews CD. Failure of body mass index or body weight to influence markedly the response to ovarian hyperstimulation in normal cycling women. *Fertil Steril*. 1990;53(6):1097-1099.
151. Delvigne A, Dubois M, Battheu B, et al. The ovarian hyperstimulation syndrome in in-vitro fertilization: a Belgian multicentric study. II. Multiple discriminant analysis for risk prediction. *Hum Reprod*. 1993;8(9):1361-1366.
152. Cappa F, Pasqua C, Tobia M, Ventura T. [Ascites and hydrothorax due to endogenous hyperstimulation of H.C.G. in a case of hydatidiform mole destruens with secondary irreversible kidney insufficiency due to disseminated intravascular coagulation]. *Riv Ital Ginecol*. 1976;56(5-6):363-368.
153. Tummon I, Gavrilova-Jordan L, Allemand MC, Session D. Polycystic ovaries and ovarian hyperstimulation syndrome: a systematic review*. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2005;84(7):611-616.
154. Ocal P, Sahmay S, Cetin M, Irez T, Guralp O, Cepni I. Serum anti-Mullerian hormone and antral follicle count as predictive markers of OHSS in ART cycles. *J Assist Reprod Genet*. 2011;28(12):1197-1203.
155. Asch RH, Li HP, Balmaceda JP, Weckstein LN, Stone SC. Severe ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproductive technology: definition of high risk groups. *Hum Reprod*. 1991;6(10):1395-1399.
156. Navot D, Bergh PA, Laufer N. Ovarian hyperstimulation syndrome in novel reproductive technologies: prevention and treatment. *Fertil Steril*. 1992;58(2):249-261.
157. Namavar Jahromi BMD, Parsanezhad MEMD, Shomali ZMD, et al. Ovarian Hyperstimulation Syndrome: A Narrative Review of Its Pathophysiology, Risk Factors, Prevention, Classification, and Management. *Iran J Med Sci*. 2018;43(3):248-260.
158. Fiedler K, Ezcurra D. Predicting and preventing ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): the need for individualized not standardized treatment. *Reprod Biol Endocrinol*. 2012;10:32.
159. Enskog A, Henriksson M, Unander M, Nilsson L, Brannstrom M. Prospective study of the clinical and laboratory parameters of patients in whom ovarian hyperstimulation syndrome developed during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1999;71(5):808-814.
160. Soares SR, Gomez R, Simon C, Garcia-Velasco JA, Pellicer A. Targeting the vascular endothelial growth factor system to prevent ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod Update*. 2008;14(4):321-333.
161. Lara Ricalde R, Aznar Ramos R. [Oral contraceptives and metabolic changes]. *Ginecol Obstet Mex*. 1986;54:212-215.
162. Schenker JG. Prevention and treatment of ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod*. 1993;8(5):653-659.
163. Aboulghar MA, Mansour RT. Ovarian hyperstimulation syndrome: classifications and critical analysis of preventive measures. *Hum Reprod Update*. 2003;9(3):275-289.
164. Agrawal R. What's new in the pathogenesis and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome? *Hum Fertil (Camb)*. 2000;3(2):112-115.
165. Yen SS, Llerena O, Little B, Pearson OH. Disappearance rates of endogenous luteinizing hormone and chorionic gonadotropin in man. *J Clin Endocrinol Metab*. 1968;28(12):1763-1767.

166. Jellad S, Haj Hassine A, Basly M, Mrabet A, Chibani M, Rachdi R. Vascular endothelial growth factor antagonist reduces the early onset and the severity of ovarian hyperstimulation syndrome. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2017;46(1):87-91.
167. McClure N, Healy DL, Rogers PA, et al. Vascular endothelial growth factor as capillary permeability agent in ovarian hyperstimulation syndrome. *Lancet (London, England)*. 1994;344(8917):235-236.
168. Pellicer A, Albert C, Mercader A, Bonilla-Musoles F, Remohi J, Simon C. The pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome: in vivo studies investigating the role of interleukin-1beta, interleukin-6, and vascular endothelial growth factor. *Fertil Steril*. 1999;71(3):482-489.
169. Rizk B, Aboulghar M, Smitz J, Ron-El R. The role of vascular endothelial growth factor and interleukins in the pathogenesis of severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod Update*. 1997;3(3):255-266.
170. Chen CD, Wu MY, Chen HF, Chen SU, Ho HN, Yang YS. Prognostic importance of serial cytokine changes in ascites and pleural effusion in women with severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril*. 1999;72(2):286-292.
171. Agrawal R, Tan SL, Wild S, et al. Serum vascular endothelial growth factor concentrations in in vitro fertilization cycles predict the risk of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril*. 1999;71(2):287-293.
172. Abramov Y, Barak V, Nisman B, Schenker JG. Vascular endothelial growth factor plasma levels correlate to the clinical picture in severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril*. 1997;67(2):261-265.
173. Wang T-H, Horng S-G, Chang C-L, et al. Human chorionic gonadotropin-induced ovarian hyperstimulation syndrome is associated with up-regulation of vascular endothelial growth factor. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(7):3300-3308.
174. Bates DO, Lodwick D, Williams B. Vascular endothelial growth factor and microvascular permeability. *Microcirculation*. 1999;6(2):83-96.
175. Villasante A, Pacheco A, Ruiz A, Pellicer A, Garcia-Velasco JA. Vascular endothelial cadherin regulates vascular permeability: Implications for ovarian hyperstimulation syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(1):314-321.
176. Serour GI, Aboulghar M, Mansour R, Sattar MA, Amin Y, Aboulghar H. Complications of medically assisted conception in 3,500 cycles. *Fertil Steril*. 1998;70(4):638-642.
177. Blumenfeld Z. The Ovarian Hyperstimulation Syndrome. *Vitam Horm*. 2018;107:423-451.
178. The American Society for Reproductive Medicine Practice Committee. Ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril*. 2008;90(5 Suppl):188-93.
179. Shmorgun D, Claman P. The diagnosis and management of ovarian hyperstimulation syndrome. *J Obstet Gynaecol Can*. 2011;33(11):1156-1162.
180. Levin I, Almog B, Avni A, Baram A, Lessing JB, Gamzu R. Effect of paracentesis of ascitic fluids on urinary output and blood indices in patients with severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril*. 2002;77(5):986-988.
181. Maslovitz S, Jaffa A, Eytan O, et al. Renal blood flow alteration after paracentesis in women with ovarian hyperstimulation. *Obstet Gynecol*. 2004;104(2):321-326.
182. Tang H, Mourad S, Zhai S-D, Hart RJ. Dopamine agonists for preventing ovarian hyperstimulation syndrome. *Cochrane database Syst Rev*. 2016;11.
183. Tsunoda T, Shibahara H, Hirano Y, et al. Treatment for ovarian hyperstimulation syndrome using an oral dopamine prodrug, docarpamine. *Gynecol Endocrinol*. 2003;17(4):281-286.

184. Rollene NL, Amols MH, Hudson SBA, Coddington CC. Treatment of ovarian hyperstimulation syndrome using a dopamine agonist and gonadotropin releasing hormone antagonist: a case series. *Fertil Steril*. 2009;92(3):1169.e15-7.
185. Manno M, Tomei F, Marchesan E, Adamo V. Cabergoline: a safe, easy, cheap, and effective drug for prevention/treatment of ovarian hyperstimulation syndrome? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2005;122(1):127-128.
186. Gulekli B. Does intravenous albumin prevent severe ovarian hyperstimulation syndrome? *Fertil Steril*. 1999;71(2):387-388.
187. Wilkes MM, Navickis RJ. Patient survival after human albumin administration. A meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med*. 2001;135(3):149-164.
188. Mathur RS, Jenkins JM. Is ovarian hyperstimulation syndrome associated with a poor obstetric outcome? *BJOG*. 2000;107(8):943-946.
189. Abramov Y, Elchalal U, Schenker JG. Obstetric outcome of in vitro fertilized pregnancies complicated by severe ovarian hyperstimulation syndrome: a multicenter study. *Fertil Steril*. 1998;70(6):1070-1076.
190. Kamath MS, Maheshwari A, Bhattacharya S, Lor KY, Gibreel A. Oral medications including clomiphene citrate or aromatase inhibitors with gonadotropins for controlled ovarian stimulation in women undergoing in vitro fertilisation. *Cochrane database Syst Rev*. 2017;11
191. Delvigne A, Rozenberg S. Epidemiology and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): a review. *Hum Reprod Update*. 2002;8(6):559-577.
192. Binder H, Dittrich R, Einhaus F, et al. Update on ovarian hyperstimulation syndrome: Part 1--Incidence and pathogenesis. *Int J Fertil Womens Med*. 2007;52(1):11-26.
193. Nandi A, Bhide P, Hooper R, et al. Intrauterine insemination with gonadotropin stimulation or in vitro fertilization for the treatment of unexplained subfertility: a randomized controlled trial. *Fertil Steril*. 2017;107(6):1329-1335.e2.
194. Liu J, Li T-C, Wang J, Wang W, Hou Z, Liu J. The impact of ovarian stimulation on the outcome of intrauterine insemination treatment: an analysis of 8893 cycles. *BJOG*. 2016;123 Suppl:70-75.
195. Rath SK, Sharma RK, Tarneja P, Chattopadhyay AB, Wadhwa RD. Ovarian hyperstimulation syndrome during induction of ovulation for intrauterine insemination. *Med journal, Armed Forces India*. 2001;57(3):210-212.
196. van der Linden M, Buckingham K, Farquhar C, Kremer JA, Metwally M. Luteal phase support for assisted reproduction cycles. *Cochrane database Syst Rev*. 2011;(10)
197. Agrawal R, Conway G, Sladkevicius P, et al. Serum vascular endothelial growth factor and Doppler blood flow velocities in in vitro fertilization: relevance to ovarian hyperstimulation syndrome and polycystic ovaries. *Fertil Steril*. 1998;70(4):651-658.
198. Schmidt DW, Maier DB, Nulsen JC, Benadiva CA. Reducing the dose of human chorionic gonadotropin in high responders does not affect the outcomes of in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2004;82(4):841-846.
199. Tsoumpou I, Muglu J, Gelbaya TA, Nardo LG. Symposium: Update on prediction and management of OHSS. Optimal dose of HCG for final oocyte maturation in IVF cycles: absence of evidence? *Reprod Biomed Online*. 2009;19(1):52-58.
200. Youssef MA, Al-Inany HG, Aboulghar M, Mansour R, Abou-Setta AM. Recombinant versus urinary human chorionic gonadotrophin for final oocyte maturation triggering in IVF and ICSI cycles. *Cochrane database Syst Rev*. 2011;(4).
201. Acevedo B, Gomez-Palomares JL, Ricciarelli E, Hernandez ER. Triggering ovulation with gonadotropin-releasing hormone agonists does not compromise embryo implantation rates. *Fertil Steril*. 2006;86(6):1682-1687.

202. Youssef MAFM, Van der Veen F, Al-Inany HG, et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist versus HCG for oocyte triggering in antagonist-assisted reproductive technology. *Cochrane database Syst Rev.* 2014;(10).
203. Babayof R, Margalioth EJ, Huleihel M, et al. Serum inhibin A, VEGF and TNFalpha levels after triggering oocyte maturation with GnRH agonist compared with HCG in women with polycystic ovaries undergoing IVF treatment: a prospective randomized trial. *Hum Reprod.* 2006;21(5):1260-1265.
204. Griesinger G, Diedrich K, Devroey P, Kolibianakis EM. GnRH agonist for triggering final oocyte maturation in the GnRH antagonist ovarian hyperstimulation protocol: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2006;12(2):159-168.
205. Corbett S, Shmorgun D, Claman P. The prevention of ovarian hyperstimulation syndrome. *J Obstet Gynaecol Can.* 2014;36(11):1024-1033.
206. Moron FJ, de Castro F, Royo JL, et al. Bone morphogenetic protein 15 (BMP15) alleles predict over-response to recombinant follicle stimulation hormone and iatrogenic ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS). *Pharmacogenet Genomics.* 2006;16(7):485-495.
207. Hanevik HI, Hilmarsen HT, Skjelbred CF, Tanbo T, Kahn JA. A single nucleotide polymorphism in BMP15 is associated with high response to ovarian stimulation. *Reprod Biomed Online.* 2011;23(1):97-104.
208. Abir R, Fisch B. Invited commentary: a single nucleotide polymorphism in BMP15 is associated with high response to controlled ovarian hyperstimulation. *Reprod Biomed Online.* 2011;23(1):77-80.
209. Montanelli L, Delbaere A, Di Carlo C, et al. A mutation in the follicle-stimulating hormone receptor as a cause of familial spontaneous ovarian hyperstimulation syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(4):1255-1258.
210. Vasseur C, Rodien P, Beau I, et al. A chorionic gonadotropin-sensitive mutation in the follicle-stimulating hormone receptor as a cause of familial gestational spontaneous ovarian hyperstimulation syndrome. *N Engl J Med.* 2003;349(8):753-759.
211. Smits G, Olatunbosun O, Delbaere A, Pierson R, Vassart G, Costagliola S. Ovarian hyperstimulation syndrome due to a mutation in the follicle-stimulating hormone receptor. *N Engl J Med.* 2003;349(8):760-766.
212. Chae HD, Park EJ, Kim SH, Kim CH, Kang BM, Chang YS. Ovarian hyperstimulation syndrome complicating a spontaneous singleton pregnancy: a case report. *J Assist Reprod Genet.* 2001;18(2):120-123.
213. Palomba S, Falbo A, La Sala GB. Effects of metformin in women with polycystic ovary syndrome treated with gonadotrophins for in vitro fertilisation and intracytoplasmic sperm injection cycles: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BJOG.* 2013;120(3):267-276.
214. Tso LO, Costello MF, Albuquerque LET, Andriolo RB, Macedo CR. Metformin treatment before and during IVF or ICSI in women with polycystic ovary syndrome. *Cochrane database Syst Rev.* 2014;(11).
215. Cluroe AD, Synek BJ. A fatal case of ovarian hyperstimulation syndrome with cerebral infarction. *Pathology.* 1995;27(4):344-346.
216. Stewart JA, Hamilton PJ, Murdoch AP. Thromboembolic disease associated with ovarian stimulation and assisted conception techniques. *Hum Reprod.* 1997;12(10):2167-2173.
217. Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI, Amin YM. Moderate ovarian hyperstimulation syndrome complicated by deep cerebrovascular thrombosis. *Hum Reprod.* 1998;13(8):2088-2091.

218. Tang OS, Ng EH, Wai Cheng P, Chung Ho P. Cortical vein thrombosis misinterpreted as intracranial haemorrhage in severe ovarian hyperstimulation syndrome: case report. *Hum Reprod*. 2000;15(9):1913-1916.
219. Abramov Y, Elchalal U, Schenker JG. Pulmonary manifestations of severe ovarian hyperstimulation syndrome: a multicenter study. *Fertil Steril*. 1999;71(4):645-651.
220. Arya R, Shehata HA, Patel RK, et al. Internal jugular vein thrombosis after assisted conception therapy. *Br J Haematol*. 2001;115(1):153-155.
221. Dulitzky M, Cohen SB, Inbal A, et al. Increased prevalence of thrombophilia among women with severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril*. 2002;77(3):463-467.
222. Mashiach S, Bider D, Moran O, Goldenberg M, Ben-Rafael Z. Adnexal torsion of hyperstimulated ovaries in pregnancies after gonadotropin therapy. *Fertil Steril*. 1990;53(1):76-80.
223. Hibbard LT. Adnexal torsion. *Am J Obstet Gynecol*. 1985;152(4):456-461.
224. Treloar AE, Boynton RE, Behn BG, Brown BW. Variation of the human menstrual cycle through reproductive life. *Int J Fertil*. 1967;12(1 Pt 2):77-126.
225. Mais V, Kazer RR, Cetel NS, Rivier J, Vale W, Yen SS. The dependency of folliculogenesis and corpus luteum function on pulsatile gonadotropin secretion in cycling women using a gonadotropin-releasing hormone antagonist as a probe. *J Clin Endocrinol Metab*. 1986;62(6):1250-1255.
226. Guzeloglu-Kayisli O, Kayisli UA, Taylor HS. The role of growth factors and cytokines during implantation: endocrine and paracrine interactions. *Semin Reprod Med*. 2009;27(1):62-79.
227. Dissen GA, Garcia-Rudaz C, Ojeda SR. Role of neurotrophic factors in early ovarian development. *Semin Reprod Med*. 2009;27(1):24-31.
228. Van Deerlin PG, Cekleniak N, Coutifaris C, Boyd J, Strauss JF 3rd. Evidence for the oligoclonal origin of the granulosa cell population of the mature human follicle. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(9):3019-3024.
229. Oktay K, Briggs D, Gosden RG. Ontogeny of follicle-stimulating hormone receptor gene expression in isolated human ovarian follicles. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(11):3748-3751.
230. Hall JE, Schoenfeld DA, Martin KA, Crowley WFJ. Hypothalamic gonadotropin-releasing hormone secretion and follicle-stimulating hormone dynamics during the luteal-follicular transition. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992;74(3):600-607.
231. McNatty KP, Smith DM, Makris A, Osathanondh R, Ryan KJ. The microenvironment of the human antral follicle: interrelationships among the steroid levels in antral fluid, the population of granulosa cells, and the status of the oocyte in vivo and in vitro. *J Clin Endocrinol Metab*. 1979;49(6):851-860.
232. Kobayashi M, Nakano R, Ooshima A. Immunohistochemical localization of pituitary gonadotrophins and gonadal steroids confirms the "two-cell, two-gonadotrophin" hypothesis of steroidogenesis in the human ovary. *J Endocrinol*. 1990;126(3):483-488.
233. Andersen CY. Characteristics of human follicular fluid associated with successful conception after in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;77(5):1227-1234.
234. Goodman AL, Hodgen GD. The ovarian triad of the primate menstrual cycle. *Recent Prog Horm Res*. 1983;39:1-73.
235. Tilly JL, Kowalski KI, Schomberg DW, Hsueh AJ. Apoptosis in atretic ovarian follicles is associated with selective decreases in messenger ribonucleic acid transcripts for gonadotropin receptors and cytochrome P450 aromatase. *Endocrinology*. 1992;131(4):1670-1676.

236. Ottowitz WE, Dougherty DD, Fischman AJ, Hall JE. [18F]2-fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography demonstration of estrogen negative and positive feedback on luteinizing hormone secretion in women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(8):3208-3214.
237. Andersen CY, Byskov AG. Estradiol and regulation of anti-Mullerian hormone, inhibin-A, and inhibin-B secretion: analysis of small antral and preovulatory human follicles' fluid. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(10):4064-4069.
238. Streuli I, Fraisse T, Pillet C, Ibecheole V, Bischof P, de Ziegler D. Serum antimullerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids. *Fertil Steril.* 2008;90(2):395-400.
239. van Rooij IAJ, Broekmans FJM, Scheffer GJ, et al. Serum antimullerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. *Fertil Steril.* 2005;83(4):979-987.
240. Richards JS, Jahnsen T, Hedin L, et al. Ovarian follicular development: from physiology to molecular biology. *Recent Prog Horm Res.* 1987;43:231-276.
241. Pauerstein CJ, Eddy CA, Croxatto HD, Hess R, Siler-Khodr TM, Croxatto HB. Temporal relationships of estrogen, progesterone, and luteinizing hormone levels to ovulation in women and infrahuman primates. *Am J Obstet Gynecol.* 1978;130(8):876-886.
242. Couzinet B, Brailly S, Bouchard P, Schaison G. Progesterone stimulates luteinizing hormone secretion by acting directly on the pituitary. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;74(2):374-378.
243. Yong EL, Baird DT, Yates R, Reichert LEJ, Hillier SG. Hormonal regulation of the growth and steroidogenic function of human granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;74(4):842-849.
244. Zelinski-Wooten MB, Hutchison JS, Chandrasekher YA, Wolf DP, Stouffer RL. Administration of human luteinizing hormone (hLH) to macaques after follicular development: further titration of LH surge requirements for ovulatory changes in primate follicles. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;75(2):502-507.
245. Hoff JD, Quigley ME, Yen SS. Hormonal dynamics at midcycle: a reevaluation. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983;57(4):792-796.
246. Priddy AR, Killick SR, Elstein M, et al. The effect of prostaglandin synthetase inhibitors on human preovulatory follicular fluid prostaglandin, thromboxane, and leukotriene concentrations. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;71(1):235-242.
247. Dickson SE, Fraser HM. Inhibition of early luteal angiogenesis by gonadotropin-releasing hormone antagonist treatment in the primate. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(6):2339-2344.
248. Anasti JN, Kalantaridou SN, Kimzey LM, George M, Nelson LM. Human follicle fluid vascular endothelial growth factor concentrations are correlated with luteinization in spontaneously developing follicles. *Hum Reprod.* 1998;13(5):1144-1147.
249. Cella F, Giordano G, Cordera R. Serum leptin concentrations during the menstrual cycle in normal-weight women: effects of an oral triphasic estrogen-progestin medication. *Eur J Endocrinol.* 2000;142(2):174-178.
250. Duncan WC, McNeilly AS, Illingworth PJ. The effect of luteal "rescue" on the expression and localization of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in the human corpus luteum. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(7):2470-2478.
251. Friden BE, Runesson E, Hahlin M, Brannstrom M. Evidence for nitric oxide acting as a luteolytic factor in the human corpus luteum. *Mol Hum Reprod.* 2000;6(5):397-403.

252. Roseff SJ, Bangah ML, Kettel LM, et al. Dynamic changes in circulating inhibin levels during the luteal-follicular transition of the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*. 1989;69(5):1033-1039.
253. Michele Curtis. Agents stimulating gonadal function in the human. Report of a WHO scientific group. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 1973;514:1-30.
254. Laven JSE, Imani B, Eijkemans MJC, Fauser BCJM. New approach to polycystic ovary syndrome and other forms of anovulatory infertility. *Obstet Gynecol Surv*. 2002;57(11):755-767.
255. R. Azziz et al. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod*. 2004;19(1):41-47.
256. Norman RJ, Davies MJ, Lord J, Moran LJ. The role of lifestyle modification in polycystic ovary syndrome. *Trends Endocrinol Metab*. 2002;13(6):251-257.
257. de Wilde MA, Veltman-Verhulst SM, Goverde AJ, et al. Preconception predictors of gestational diabetes: a multicentre prospective cohort study on the predominant complication of pregnancy in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2014;29(6):1327-1336.
258. Boomsma CM, Eijkemans MJC, Hughes EG, Visser GHA, Fauser BCJM, Macklon NS. A meta-analysis of pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update*. 2006;12(6):673-683.
259. De Vos M, Devroey P, Fauser BCJM. Primary ovarian insufficiency. *Lancet (London, England)*. 2010;376(9744):911-921.
260. Loutradis D, Drakakis P, Vomvolaki E, Antsaklis A. Different ovarian stimulation protocols for women with diminished ovarian reserve. *J Assist Reprod Genet*. 2007;24(12):597-611.
261. Gleicher N, Weghofer A, Barad DH. The role of androgens in follicle maturation and ovulation induction: friend or foe of infertility treatment? *Reprod Biol Endocrinol*. 2011;9:116.
262. Martin K, Santoro N, Hall J, Filicori M, Wierman M, Crowley WFJ. Clinical review 15: Management of ovulatory disorders with pulsatile gonadotropin-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab*. 1990;71(5):1081A-1081G.
263. Lunenfeld B. Historical perspectives in gonadotrophin therapy. *Hum Reprod Update*. 2004;10(6):453-467.
264. Paulson RJ, Hatch IE, Lobo RA, Sauer M V. Cumulative conception and live birth rates after oocyte donation: implications regarding endometrial receptivity. *Hum Reprod*. 1997;12(4):835-839.
265. Weil C. The safety of bromocriptine in hyperprolactinaemic female infertility: a literature review. *Curr Med Res Opin*. 1986;10(3):172-195.
266. The American Society for Reproductive Medicine Practice Committee. Use of clomiphene citrate in infertile women: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2013;100(2):341-348.
267. Glasier AF, Irvine DS, Wickings EJ, Hillier SG, Baird DT. A comparison of the effects on follicular development between clomiphene citrate, its two separate isomers and spontaneous cycles. *Hum Reprod*. 1989;4(3):252-256.
268. Hammerstein J. Mode of action of clomiphene. I. Inhibitory effect of clomiphene citrate on the formation of progesterone from acetate-1-14C by human corpus luteum slices in vitro. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1969;60(4):635-644.
269. 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):334-340.

270. Eden JA, Place J, Carter GD, Jones J, Alaghband-Zadeh J, Pawson ME. The effect of clomiphene citrate on follicular phase increase in endometrial thickness and uterine volume. *Obstet Gynecol.* 1989;73(2):187-190.
271. Dehbashi S, Parsanezhad ME, Alborzi S, Zarei A. Effect of clomiphene citrate on endometrium thickness and echogenic patterns. *Int J Gynaecol Obstet.* 2003;80(1):49-53.
272. Thompson LA, Barratt CL, Thornton SJ, Bolton AE, Cooke ID. The effects of clomiphene citrate and cyclofenil on cervical mucus volume and receptivity over the periovulatory period. *Fertil Steril.* 1993;59(1):125-129.
273. Gelety TJ, Buyalos RP. The effect of clomiphene citrate and menopausal gonadotropins on cervical mucus in ovulatory cycles. *Fertil Steril.* 1993;60(3):471-476.
274. Roumen FJ. [Decreased quality of cervix mucus under the influence of clomiphene: a meta-analysis]. *Ned Tijdschr Geneesk.* 1997;141(49):2401-2405.
275. Kettel LM, Roseff SJ, Berga SL, Mortola JF, Yen SS. Hypothalamic-pituitary-ovarian response to clomiphene citrate in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 1993;59(3):532-538.
276. Badawy A, Gibreal A. Clomiphene citrate versus tamoxifen for ovulation induction in women with PCOS: a prospective randomized trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011;159(1):151-154.
277. Gulekli B, Ozaksit G, Turhan NO, Senoz S, Oral H, Gokmen O. Tamoxifen: an alternative approach in clomiphene resistant polycystic ovarian syndrome patients. *J Pak Med Assoc.* 1993;43(5):89-90.
278. Schliep KC, Mumford SL, Hammoud AO, et al. Luteal phase deficiency in regularly menstruating women: prevalence and overlap in identification based on clinical and biochemical diagnostic criteria. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(6):E1007-14.
279. Dehbashi S, Vafaei H, Parsanezhad MD, Alborzi S. Time of initiation of clomiphene citrate and pregnancy rate in polycystic ovarian syndrome. *Int J Gynaecol Obstet.* 2006;93(1):44-48.
280. Wu CH, Winkel CA. The effect of therapy initiation day on clomiphene citrate therapy. *Fertil Steril.* 1989;52(4):564-568.
281. Hammond MG, Halme JK, Talbert LM. Factors affecting the pregnancy rate in clomiphene citrate induction of ovulation. *Obstet Gynecol.* 1983;62(2):196-202.
282. Imani B, Eijkemans MJ, te Velde ER, Habbema JD, Fauser BC. Predictors of chances to conceive in ovulatory patients during clomiphene citrate induction of ovulation in normogonadotropic oligoamenorrheic infertility. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(5):1617-1622.
283. Imani B, Eijkemans MJ, te Velde ER, Habbema JD, Fauser BC. Predictors of patients remaining anovulatory during clomiphene citrate induction of ovulation in normogonadotropic oligoamenorrheic infertility. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(7):2361-2365.
284. Rossing MA, Daling JR, Weiss NS, Moore DE, Self SG. Ovarian tumors in a cohort of infertile women. *N Engl J Med.* 1994;331(12):771-776.
285. Helen Carcio et al. ACOG Practice Bulletin. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists number 34, February 2002. Management of infertility caused by ovulatory dysfunction. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol.* 2002;99(2):347-358.
286. Abu Hashim H, Ombar O, Abd Elaali I. Intrauterine insemination versus timed intercourse with clomiphene citrate in polycystic ovary syndrome: a randomized controlled trial. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2011;90(4):344-350.

287. Dickey RP, Taylor SN, Curole DN, Rye PH, Pyrzak R. Incidence of spontaneous abortion in clomiphene pregnancies. *Hum Reprod.* 1996;11(12):2623-2628.
288. Scialli AR. The reproductive toxicity of ovulation induction. *Fertil Steril.* 1986;45(3):315-323.
289. Cole PA, Robinson CH. Mechanism and inhibition of cytochrome P-450 aromatase. *J Med Chem.* 1990;33(11):2933-2942.
290. Winer EP, Hudis C, Burstein HJ, et al. American Society of Clinical Oncology technology assessment on the use of aromatase inhibitors as adjuvant therapy for women with hormone receptor-positive breast cancer: status report 2002. *J Clin Oncol.* 2002;20(15):3317-3327.
291. Buzdar A, Howell A. Advances in aromatase inhibition: clinical efficacy and tolerability in the treatment of breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2001;7(9):2620-2635.
292. Mauras N, Lima J, Patel D, et al. Pharmacokinetics and dose finding of a potent aromatase inhibitor, aromasin (exemestane), in young males. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(12):5951-5956.
293. Bedaiwy MA, Mousa NA, Esfandiari N, Forman R, Casper RF. Follicular phase dynamics with combined aromatase inhibitor and follicle stimulating hormone treatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(3):825-833.
294. Casper RF, Mitwally MFM. A historical perspective of aromatase inhibitors for ovulation induction. *Fertil Steril.* 2012;98(6):1352-1355.
295. Malloch L, Rhoton-Vlasak A. An assessment of current clinical attitudes toward letrozole use in reproductive endocrinology practices. *Fertil Steril.* 2013;100(6):1740-1744.
296. Al-Fozan H, Al-Khadouri M, Tan SL, Tulandi T. A randomized trial of letrozole versus clomiphene citrate in women undergoing superovulation. *Fertil Steril.* 2004;82(6):1561-1563.
297. Cortinez A, De Carvalho I, Vantman D, Gabler F, Iniguez G, Vega M. Hormonal profile and endometrial morphology in letrozole-controlled ovarian hyperstimulation in ovulatory infertile patients. *Fertil Steril.* 2005;83(1):110-115.
298. Casper RF, Mitwally MFM. Review: aromatase inhibitors for ovulation induction. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(3):760-771.
299. Legro RS, Brzyski RG, Diamond MP, et al. Letrozole versus clomiphene for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med.* 2014;371(2):119-129.
300. Franik S, Eltrop SM, Kremer JA, Kiesel L, Farquhar C. Aromatase inhibitors (letrozole) for subfertile women with polycystic ovary syndrome. *Cochrane database Syst Rev.* 2018;5.
301. The American College of Obstetricians and Gynecologists Committee. ACOG Committee Opinion No. 738: Aromatase Inhibitors in Gynecologic Practice. *Obstet Gynecol.* 2018;131(6):e194-e199.
302. Legro et al. ACOG Practice Bulletin No. 194: Polycystic Ovary Syndrome. *Obstet Gynecol.* 2018;131(6):e157-e171.
303. Tiboni GM. Aromatase inhibitors and teratogenesis. *Fertil Steril.* 2004;81(4):1158-9; author reply 1159.
304. Bishai R, Arbour L, Lyons C, Koren G. Intrauterine exposure to clomiphene and neonatal persistent hyperplastic primary vitreous. *Teratology.* 1999;60(3):143-145.
305. Akbari Sene A, Ghorbani S, Ashrafi M. Comparison of the pregnancy outcomes and the incidence of fetal congenital abnormalities in infertile women treated with letrozole and clomiphene citrate. *J Obstet Gynaecol Res.* 2018;44(6):1036-1041.

306. Tulandi T, Martin J, Al-Fadhli R, et al. Congenital malformations among 911 newborns conceived after infertility treatment with letrozole or clomiphene citrate. *Fertil Steril*. 2006;85(6):1761-1765.
307. Sharma S, Ghosh S, Singh S, et al. Congenital malformations among babies born following letrozole or clomiphene for infertility treatment. *PLoS One*. 2014;9(10):e108219.
308. Liu A, Zheng C, Lang J, Chen W. Letrozole versus clomiphene citrate for unexplained infertility: a systematic review and meta-analysis. *J Obstet Gynaecol Res*. 2014;40(5):1205-1216.
309. Martin KA, Hall JE, Adams JM, Crowley WFJ. Comparison of exogenous gonadotropins and pulsatile gonadotropin-releasing hormone for induction of ovulation in hypogonadotropic amenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;77(1):125-129.
310. Filicori M, Flamigni C, Dellai P, et al. Treatment of anovulation with pulsatile gonadotropin-releasing hormone: prognostic factors and clinical results in 600 cycles. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;79(4):1215-1220.
311. Homburg R, Eshel A, Armar NA, et al. One hundred pregnancies after treatment with pulsatile luteinising hormone releasing hormone to induce ovulation. *BMJ*. 1989;298(6676):809-812.
312. Friedman E, Adams EF, Hoog A, et al. Normal structural dopamine type 2 receptor gene in prolactin-secreting and other pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;78(3):568-574.
313. Factor SA. Dopamine agonists. *Med Clin North Am*. 1999;83(2):415-43, vi-vii.
314. Isik AZ, Gulekli B, Zorlu CG, Ergin T, Gokmen O. Endocrinological and clinical analysis of hyperprolactinemic patients with and without ultrasonically diagnosed polycystic ovarian changes. *Gynecol Obstet Invest*. 1997;43(3):183-185.
315. Ciccarelli E, Giusti M, Miola C, et al. Effectiveness and tolerability of long term treatment with cabergoline, a new long-lasting ergoline derivative, in hyperprolactinemic patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 1989;69(4):725-728.
316. Webster J, Piscitelli G, Polli A, Ferrari CI, Ismail I, Scanlon MF. A comparison of cabergoline and bromocriptine in the treatment of hyperprolactinemic amenorrhea. Cabergoline Comparative Study Group. *N Engl J Med*. 1994;331(14):904-909.
317. Bankowski BJ, Zacur HA. Dopamine agonist therapy for hyperprolactinemia. *Clin Obstet Gynecol*. 2003;46(2):349-362.
318. Lunenfeld B, Isersky C, Shelesnyakmc. Immunologic studies on gonadotropins. I. Immunogenic properties and immunologic characterization of human chorionic gonadotropin preparations (HCG) and their homologous antisera. *J Clin Endocrinol Metab*. 1962;22:555-563.
319. Stokman PG, de Leeuw R, van den Wijngaard HA, Kloosterboer HJ, Vemer HM, Sanders AL. Human chorionic gonadotropin in commercial human menopausal gonadotropin preparations. *Fertil Steril*. 1993;60(1):175-178.
320. van de Weijer BHM, Mulders JWM, Bos ES, Verhaert PDEM, van den Hooven HW. Compositional analyses of a human menopausal gonadotrophin preparation extracted from urine (menotropin). Identification of some of its major impurities. *Reprod Biomed Online*. 2003;7(5):547-557.
321. Filicori M, Cognigni GE, Pocognoli P, et al. Comparison of controlled ovarian stimulation with human menopausal gonadotropin or recombinant follicle-stimulating hormone. *Fertil Steril*. 2003;80(2):390-397.
322. Ludwig M, Doody KJ, Doody KM. Use of recombinant human chorionic gonadotropin in ovulation induction. *Fertil Steril*. 2003;79(5):1051-1059.

323. Chang P, Kenley S, Burns T, et al. Recombinant human chorionic gonadotropin (rhCG) in assisted reproductive technology: results of a clinical trial comparing two doses of rhCG (Ovidrel) to urinary hCG (Profasi) for induction of final follicular maturation in in vitro fertilization-embryo t. *Fertil Steril*. 2001;76(1):67-74.
324. The International Recombinant Human Chorionic Gonadotropin Study Group. Induction of ovulation in World Health Organization group II anovulatory women undergoing follicular stimulation with recombinant human follicle-stimulating hormone: a comparison of recombinant human chorionic gonadotropin (rhCG) and urinary hCG. *Fertil Steril*. 2001;75(6):1111-1118.
325. Danforth DR. Endocrine and paracrine control of oocyte development. *Am J Obstet Gynecol*. 1995;172(2 Pt 2):747-752.
326. Couzinet B, Lestrat N, Brailly S, Forest M, Schaison G. Stimulation of ovarian follicular maturation with pure follicle-stimulating hormone in women with gonadotropin deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 1988;66(3):552-556.
327. Nugent D, Vandekerckhove P, Hughes E, Arnot M, Lilford R. Gonadotrophin therapy for ovulation induction in subfertility associated with polycystic ovary syndrome. *Cochrane database Syst Rev*. 2000;(4).
328. Bayram N, van Wely M, van Der Veen F. Recombinant FSH versus urinary gonadotrophins or recombinant FSH for ovulation induction in subfertility associated with polycystic ovary syndrome. *Cochrane database Syst Rev*. 2001;(2):CD002121.
329. Dodson WC, Haney AF. Controlled ovarian hyperstimulation and intrauterine insemination for treatment of infertility. *Fertil Steril*. 1991;55(3):457-467.
330. Fauser BC, Van Heusden AM. Manipulation of human ovarian function: physiological concepts and clinical consequences. *Endocr Rev*. 1997;18(1):71-106.
331. Brown JB. Pituitary control of ovarian function--concepts derived from gonadotrophin therapy. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 1978;18(1):46-54.
332. 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. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81(11):3821-3824.
333. Homburg R, Levy T, Ben-Rafael Z. A comparative prospective study of conventional regimen with chronic low-dose administration of follicle-stimulating hormone for anovulation associated with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 1995;63(4):729-733.
334. White DM, Hardy K, Lovelock S, Franks S. Low-dose gonadotropin induction of ovulation in anovulatory women: still needed in the age of IVF. *Reproduction*. 2018;156(1):F1-F10.
335. Homburg R, Howles CM. Low-dose FSH therapy for anovulatory infertility associated with polycystic ovary syndrome: rationale, results, reflections and refinements. *Hum Reprod Update*. 1999;5(5):493-499.
336. Hedon B, Hugues JN, Emperaire JC, et al. A comparative prospective study of a chronic low dose versus a conventional ovulation stimulation regimen using recombinant human follicle stimulating hormone in anovulatory infertile women. *Hum Reprod*. 1998;13(10):2688-2692.
337. Franks S, Gilling-Smith C. Advances in induction of ovulation. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 1994;6(2):136-140.
338. van Santbrink EJ, Fauser BC. Urinary follicle-stimulating hormone for normogonadotropic clomiphene-resistant anovulatory infertility: prospective, randomized comparison between low dose step-up and step-down dose regimens. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(11):3597-3602.

339. De Leo V, la Marca A, Ditto A, Morgante G, Cianci A. Effects of metformin on gonadotropin-induced ovulation in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 1999;72(2):282-285.
340. van Santbrink EJ, Donderwinkel PF, van Dessel TJ, Fauser BC. Gonadotrophin induction of ovulation using a step-down dose regimen: single-centre clinical experience in 82 patients. *Hum Reprod*. 1995;10(5):1048-1053.
341. Imani B, Eijkemans MJC, Faessen GH, Bouchard P, Giudice LC, Fauser BCJM. Prediction of the individual follicle-stimulating hormone threshold for gonadotropin induction of ovulation in normogonadotropic anovulatory infertility: an approach to increase safety and efficiency. *Fertil Steril*. 2002;77(1):83-90.
342. Muechler EK, Kohler D, Huang KE. Monitoring of ovulation induction with HMG-HCG therapy by plasma estrogen and progesterone. *Int J Fertil*. 1981;26(4):273-278.
343. de Crespigny LC, O'Herlihy C, Robinson HP. Ultrasonic observation of the mechanism of human ovulation. *Am J Obstet Gynecol*. 1981;139(6):636-639.
344. Akin JW, Shepard MK. The effects of baseline ovarian cysts on cycle fecundity in controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril*. 1993;59(2):453-455.
345. Isaacs JDJ, Wells CS, Williams DB, Odem RR, Gast MJ, Strickler RC. Endometrial thickness is a valid monitoring parameter in cycles of ovulation induction with menotropins alone. *Fertil Steril*. 1996;65(2):262-266.
346. Ness RB, Cramer DW, Goodman MT, et al. Infertility, fertility drugs, and ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies. *Am J Epidemiol*. 2002;155(3):217-224.
347. Burkman RT, Tang M-TC, Malone KE, et al. Infertility drugs and the risk of breast cancer: findings from the National Institute of Child Health and Human Development Women's Contraceptive and Reproductive Experiences Study. *Fertil Steril*. 2003;79(4):844-851.
348. Allahbadia GN. Intrauterine Insemination: Fundamentals Revisited. *J Obstet Gynaecol India*. 2017;67(6):385-392.
349. Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BCJM, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L. ESHRE consensus on the definition of "poor response" to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod*. 2011;26(7):1616-1624.
350. Dale O, Tanbo T, Lunde O, Abyholm T. Ovulation induction with low-dose follicle-stimulating hormone in women with the polycystic ovary syndrome. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1993;72(1):43-46.
351. Polson DW, Mason HD, Saldahna MB, 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 (Oxf)*. 1987;26(2):205-212.
352. Seibel MM, Kamrava MM, McArdle C, Taymor ML. Treatment of polycystic ovary disease with chronic low-dose follicle stimulating hormone: biochemical changes and ultrasound correlation. *Int J Fertil*. 1984;29(1):39-43.
353. Dickey RP, Taylor SN, Lu PY, Sartor BM, Rye PH, Pyrzak R. Risk factors for high-order multiple pregnancy and multiple birth after controlled ovarian hyperstimulation: results of 4,062 intrauterine insemination cycles. *Fertil Steril*. 2005;83(3):671-683.
354. Tur R, Barri PN, Coroleu B, Buxaderas R, Martinez F, Balasch J. Risk factors for high-order multiple implantation after ovarian stimulation with gonadotrophins: evidence from a large series of 1878 consecutive pregnancies in a single centre. *Hum Reprod*. 2001;16(10):2124-2129.
355. Douglas T. et al. Consensus on infertility treatment related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2008;89(3):505-522.

356. Miralpeix E, Gonzalez-Comadran M, Sola I, Manau D, Carreras R, Checa MA. Efficacy of luteal phase support with vaginal progesterone in intrauterine insemination: a systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet.* 2014;31(1):89-100.
357. Balasch J, Gratacos E. Delayed childbearing: effects on fertility and the outcome of pregnancy. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2012;24(3):187-193.
358. Ramasamy R, Chiba K, Butler P, Lamb DJ. Male biological clock: a critical analysis of advanced paternal age. *Fertil Steril.* 2015;103(6):1402-1406.
359. Ford WC, North K, Taylor H, Farrow A, Hull MG, Golding J. Increasing paternal age is associated with delayed conception in a large population of fertile couples: evidence for declining fecundity in older men. The ALSPAC Study Team (Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood). *Hum Reprod.* 2000;15(8):1703-1708.
360. Polotsky AJ, Hailpern SM, Skurnick JH, Lo JC, Sternfeld B, Santoro N. Association of adolescent obesity and lifetime nulliparity--the Study of Women's Health Across the Nation (SWAN). *Fertil Steril.* 2010;93(6):2004-2011.
361. McKinnon CJ, Hatch EE, Rothman KJ, et al. Body mass index, physical activity and fecundability in a North American preconception cohort study. *Fertil Steril.* 2016;106(2):451-459.
362. Rich-Edwards JW, Goldman MB, Willett WC, et al. Adolescent body mass index and infertility caused by ovulatory disorder. *Am J Obstet Gynecol.* 1994;171(1):171-177.
363. Grodstein F, Goldman MB, Cramer DW. Body mass index and ovulatory infertility. *Epidemiology.* 1994;5(2):247-250.
364. Luke B, Brown MB, Missmer SA, Bukulmez O, Leach R, Stern JE. The effect of increasing obesity on the response to and outcome of assisted reproductive technology: a national study. *Fertil Steril.* 2011;96(4):820-825.
365. Na L, Chen Y, Zhai H, Liao A, Huang D. Effects of maternal body mass index on pregnancy outcome after 8570 artificial insemination cycles with donor's sperm. *Gynecol Endocrinol.* July 2018:1-5.
366. Zhang K, Shi Y, Wang E, et al. Ovarian stimulated cycle: not a better alternative for women without ovulation disorder in intrauterine insemination. *Oncotarget.* 2017;8(59):100773-100780.
367. Nyboe Andersen A, Goossens V, Bhattacharya S, et al. Assisted reproductive technology and intrauterine inseminations in Europe, 2005: results generated from European registers by ESHRE: ESHRE. The European IVF Monitoring Programme (EIM), for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). *Hum Reprod.* 2009;24(6):1267-1287.
368. Lindheim SR, Barad DH, Zinger M, et al. Abnormal sperm morphology is highly predictive of pregnancy outcome during controlled ovarian hyperstimulation and intrauterine insemination. *J Assist Reprod Genet.* 1996;13(7):569-572.
369. Lockwood GM, Deveneau NE, Shridharani AN, Strawn EY, Sandlow JI. Isolated abnormal strict morphology is not a contraindication for intrauterine insemination. *Andrology.* 2015;3(6):1088-1093.
370. Karabinus DS, Gelety TJ. The impact of sperm morphology evaluated by strict criteria on intrauterine insemination success. *Fertil Steril.* 1997;67(3):536-541.
371. Check ML, Bollendorf A, Check JH, Katsoff D. Reevaluation of the clinical importance of evaluating sperm morphology using strict criteria. *Arch Androl.* 2002;48(1):1-3.
372. Horvath PM, Bohrer M, Shelden RM, Kemmann E. The relationship of sperm parameters to cycle fecundity in superovulated women undergoing intrauterine insemination. *Fertil Steril.* 1989;52(2):288-294.

373. Terada Y, Fukaya T, Haraya H, Yajima A. Sperm motility characteristics and pregnancy outcome of artificial insemination with husband's semen for male infertility. *Tohoku J Exp Med*. 1995;177(4):337-341.
374. Molina I, Mari M, Martinez JV, Novella-Maestre E, Pellicer N, Peman J. Bacterial and fungal contamination risks in human oocyte and embryo cryopreservation: open versus closed vitrification systems. *Fertil Steril*. 2016;106(1):127-132.
375. Huang HY, Lee CL, Lai YM, et al. The impact of the total motile sperm count on the success of intrauterine insemination with husband's spermatozoa. *J Assist Reprod Genet*. 1996;13(1):56-63.
376. Mueller A, Siemer J, Schreiner S, et al. Role of estrogen and progesterone in the regulation of uterine peristalsis: results from perfused non-pregnant swine uteri. *Hum Reprod*. 2006;21(7):1863-1868.
377. Casper RF. Reducing the Risk of OHSS by GnRH Agonist Triggering. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(12):4396-4398.
378. Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, Aguirre M, Thomas S. Gonadotropin-releasing hormone agonist combined with a reduced dose of human chorionic gonadotropin for final oocyte maturation in fresh autologous cycles of in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2008;90(1):231-233.
379. Krishna D et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist trigger is a better alternative than human chorionic gonadotropin in PCOS undergoing IVF cycles for an OHSS Free Clinic: A Randomized control trial. *J Hum Reprod Sci*. 2016;9(3):164-172
380. Zhou X, Guo P, Chen X, Ye D, Liu Y, Chen S. Comparison of dual trigger with combination GnRH agonist and hCG versus hCG alone trigger of oocyte maturation for normal ovarian responders. *Int J Gynaecol Obstet*. 2018;141(3):327-331.
381. Ding N, Liu X, Jian Q, Liang Z, Wang F. Dual trigger of final oocyte maturation with a combination of GnRH agonist and hCG versus a hCG alone trigger in GnRH antagonist cycle for in vitro fertilization: A Systematic Review and Meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2017;218:92-98.
382. Eftekhari M, Mojtahedi MF, Miraj S, Omid M. Final follicular maturation by administration of GnRH agonist plus HCG versus HCG in normal responders in ART cycles: An RCT. *Int J Reprod Biomed (Yazd, Iran)*. 2017;15(7):429-434.
383. Mahajan N, Sharma S, Arora PR, Gupta S, Rani K, Naidu P. Evaluation of dual trigger with gonadotropin-releasing hormone agonist and human chorionic gonadotropin in improving oocyte maturity rates: A prospective randomized study. *J Hum Reprod Sci*. 2016;9(2):101-106. doi:10.4103/0974-1208.183506
384. Gulekli B, Gode F, Sertkaya Z, Isik AZ. Gonadotropin-releasing hormone agonist triggering is effective, even at a low dose, for final oocyte maturation in ART cycles: Case series. *J Turkish Ger Gynecol Assoc*. 2015;16(1):35-40.
385. Humaidan P, Bredkjaer HE, Bungum L, et al. GnRH agonist (buserelin) or hCG for ovulation induction in GnRH antagonist IVF/ICSI cycles: a prospective randomized study. *Hum Reprod*. 2005;20(5):1213-1220.
386. Kolibianakis EM, Schultze-Mosgau A, Schroer A, et al. A lower ongoing pregnancy rate can be expected when GnRH agonist is used for triggering final oocyte maturation instead of HCG in patients undergoing IVF with GnRH antagonists. *Hum Reprod*. 2005;20(10):2887-2892.
387. Humaidan P, Bungum L, Bungum M, Yding Andersen C. Rescue of corpus luteum function with peri-ovulatory HCG supplementation in IVF/ICSI GnRH antagonist cycles in which ovulation was triggered with a GnRH agonist: a pilot study. *Reprod Biomed Online*. 2006;13(2):173-178.