



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

**İNTRASİTOPLAZMİK SPERM İNJEKSİYON (ICSI)-EMBRİYO
TRANSFERİ (ET) PLANLANAN ZAYIF OVER YANITLI
OLGULARDA ESNEK ÇOKLU DOZ GNRH ANTAGONİST İLE
KOMBİNE EDİLMİŞ MİKRODOZ FLARE-UP GNRH AGONİST
PROTOKOLUNUN ESNEK ÇOKLU DOZ GNRH ANTAGONİST
PROTOKOLÜ İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Gayem İnayet ÇELİK

Antalya, 2013



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

**İNTRASİTOPLAZMİK SPERM İNJEKSİYON (ICSI)-EMBRİYO
TRANSFERİ (ET) PLANLANAN ZAYIF OVER YANITLI
OLGULARDA ESNEK ÇOKLU DOZ GNRH ANTAGONİST İLE
KOMBİNE EDİLMİŞ MİKRODOZ FLARE-UP GNRH AGONİST
PROTOKOLUNUN ESNEK ÇOKLU DOZ GNRH ANTAGONİST
PROTOKOLÜ İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Gayem İnayet ÇELİK

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Münire ERMAN AKAR

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir ”

Antalya, 2013

TEŞEKKÜR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndaki asistanlık eğitimim boyunca bilgi, beceri ve deneyimlerinden yararlandığım, manevi desteğini hiçbir zaman benden esirgemeyen tez hocam ve anabilim dalı başkanımız Prof.Dr. Münire ERMAN AKAR'a,

Asistanlık eğitimim boyunca deneyimlerinden faydalandığım değerli öğretim üyelerim; Prof.Dr. Ömür TAŞKIN, Prof.Dr. Mine ÜNER, Prof.Dr. Tayup ŞİMŞEK, Prof.Dr. İnanç MENDİLCİOĞLU, Doç.Dr. Mehmet ŞİMŞEK, Yrd.Doç.Dr. Mehmet SAKINCI'ya,

Asistanlık dönemimde tüm bilgi ve deneyimini benimle paylaşan ve gelişmemde sonsuz emeği olan Uzm.Dr. Tayfun TOPTAŞ'a,

Tez hazırlama sürecinde tüm yardımlarından ve zor zamanlarımda manevi desteklerinden dolayı tüm tüp bebek ünitesi ailesine,

Eğitimimde ve hayat deneyimimde gelişmemi sağlayan tüm asistan arkadaşlarıma,

Eğitim sürecinde hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan annem, babam, kız kardeşim, eşim ve küçük oğluma,

En içten teşekkürlerimi sunarım...

Asistanlık eğitimimin son döneminde kaybettiğim sevgili babam

Halil İbrahim Turgay'ın anısına ithafen...

İÇİNDEKİLER

Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	<u>Sayfa</u>
Şekiller Dizini	iii
Tablolar Dizini	iv
	v
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. İnfertilite Nedenleri	4
2.1.1. Ovaryen faktör : Ovulatuvar disfonksiyon	5
2.1.2. Erkek faktörü	8
2.1.3. Servikal faktör	8
2.1.4. Uterin faktör	9
2.1.5. Tubal faktör	10
2.1.6. Açıklanamayan infertilite	10
2.2. Reprodüktif Yaşlanmanın Fizyolojisi	11
2.2.1. Yaşla ilişkili fertilite azalmasının mekanizması	12
2.3. Over Rezerv Testleri	13
2.4. Tedavi	16
2.4.1. Ovaryen stimülasyon seçenekleri	17
3. MATERYAL VE METOD	24
3.1. Kötü over yanıtı olacağı düşünülen hastaların seçiminde kullanılan kriterler	24
3.2. Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri	24
3.3. Siklus iptali için kriterler	24
3.4. Tedavi protokollerinin uygulanışı	25
3.4.1. Esnek çoklu doz GnRH antagonist ile kombine edilmiş mikrod doz flare-up GnRH agonist protokolu (grup 1)	25
3.4.2. Esnek çoklu doz GnRH antagonist protokolu (grup 2)	27
3.5. İstatistiksel Analiz	28
4. BULGULAR	29
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇLAR	45
7. ÖZET	46
8. ABSTRACT	48
9. KAYNAKLAR	50

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ART	Yardımcı üreme teknikleri
BBT	Bazal Vücut Isısı
Cancel	Siklus iptal
CC	Klomifen Sitrat
DNA	Deoksiribonükleik asit
E₂	Estradiol
ET	Embriyo transferi
FSH	Folikül stimüle edici hormon
G1	Grade 1 Embriyo
G2	Grade 2 Embriyo
G3	Grade 3 Embriyo
G4	Grade 4 Embriyo
GIFT	Laparoskopik Tubal Oosit ve Sperm (gamet) Transferi
GnRH	Gonadotropin salgılayıcı hormon
GnRHa	Gonadotropin salgılayıcı hormon agonisti
Grup 1	Esnek Çoklu Doz GnRH Antagonist İle Kombine Edilmiş Mikrodoz Flare-up GNRH Agonist Protokolü
Grup 2	Esnek Çoklu Doz GnRH Antagonist
hCG	İnsan koryonik gonadotropin
hMG	İnsan Menopozal Gonadotropin
HSG	Histerosalpingografi
ICSI	İntrasitoplazmik sperm injeksiyonu
IUI	Intra Uterin İnseminasyon
IVF	In vitro fertilizasyon
KOH	Kontrollü ovaryen hiperstimülasyon
LH	Luteinize edici hormon

M1	Metafaz 1
M2	Metafaz 2
mcg	Mikrogram
MESA	Mikrocerrahi Epididimal Sperm Aspirasyonu
OHSS	Over Hiperstimölasyon Sendromu
OKS	Oral Kontrasepsiyon
p.o	Peroral
P1	Profaz 1 (GV: germinal vezikül)
PCOS	Polikistik Over Sendromu
PGT	İmplantasyon Öncesi Genetik Tanı
PID	Pelvik İnflamatuar hastalık
rFSH	Rekombinant Follikül stimüle edici hormon
rLH	Rekombinant Luteinize edici hormon
s.c	Subkutan
SHBG	Seks Hormon Bağlayıcı Globulin
SPSS	Statistics Package For Social Sciences Version
TESE	Testiküler sperm ekstraksiyonu
TET	Tubal Embriyo Transferi
TV-USG	Transvajinal Ultrasonografi
üFSH	Üriner Follikül stimüle edici hormon
ZIFT	Tubal Zigot Transferi

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Esnek çoklu doz GnRH antagonist ile kombine edilmiş mikrod doz flare-up GnRH agonist protokolu uygulamasının şematizasyonu	26

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Semen analizi normal referans değerleri (WHO)	8
3.1. Her iki grup için kaydedilen değişkenler	25
4.1. Her iki çalışma grubunun karakteristik özelliklerinin karşılaştırılması	29
4.2. Her iki grubun KOH sonuçlarının karşılaştırılması	30
4.3. Her iki çalışma grubunun laboratuvar sonuçlarının karşılaştırılması	30
4.4. Her iki grubun cancel oranları	31
4.5. Her iki grubun gebelik oranlarının karşılaştırılması	31
4.6. Her iki grup için canlı doğum ile sonuçlanan gebelik oranı	32
5.1. Kötü over yanıt tanımı için mevcut kriterler	34
5.2. POR (zayıf ovaryen yanıt) tanımlamada kullanılan kriterler	35
5.3. Zayıf over yanıtı hastalarda tedavi seçenekleri	36
5.4. Agonist-Antagonist protokol (Berger ve ark.)	43

1. GİRİŞ

İnfertilite, 1 yıllık korunmasız ilişkiye rağmen konsepsiyonun gerçekleşmemesi olarak tanımlanmaktadır. Sağlıklı genç çiftlerin yaklaşık %85-90'ında ilk bir yıl içerisinde gebelik gerçekleşmektedir. Dolayısıyla infertilite genç çiftlerin %10-15'ini ilgilendiren bir sorundur.

Popülasyon demografisindeki değişiklikler, biyolojik olarak daha az fertil olan ileri yaş kadınların da gebe kalmaya çalışmasına yol açmaktadır. Bu sayede son 20 yılda infertiliteye yönelik tedavilerde ciddi yenilikler ve ilerlemeler olmuştur.

Ovaryen stimülasyona zayıf cevap veren hastaların, ivmelenmiş rezerv azalması ile fertilitenin tamamen kaybolması arasındaki geçiş döneminde olan hastalar olduğu düşünülmektedir. Zayıf cevaplı olgular infertil hasta grubunun %8-9'unu teşkil etmesine rağmen, tedavinin en zor ve en umut kırıcı popülasyonunu oluşturmaktadır.

Bu hastalarda optimum sitümilasyon protokolü bilinmemekle beraber, amaç, IVF-ET programına alabilmek için kontrollü ovarian sitümilasyon ile multiple matür oosit elde edilmesidir.

Bu çalışmayı yapmamızdaki amaç; zayıf cevaplı olarak tanımlanan olgularda sıklıkla uygulanan esnek çoklu doz GnRH antagonist protokolü ile esnek çoklu doz GnRH antagonist ile kombine edilmiş mikrod doz flare-up GNRH agonist protokolünün etkinliğini karşılaştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

İnfertilite 1 yıllık korunmasız ilişkiye rağmen konsepsiyonun gerçekleşmemesi olarak tanımlanmaktadır. Sağlıklı genç çiftlerin yaklaşık %85-90'ında ilk bir yıl içerisinde gebelik gerçekleşmektedir (1). Dolayısıyla infertilite üreme yaş grubundaki çiftlerin %10-15'ini ilgilendiren bir sorundur.

Popülasyon demografisindeki değişiklikler, biyolojik olarak daha az fertil olan ileri yaş kadınların da gebe kalmaya çalışmasına yol açmaktadır. Fertilitenin yaşla beraber azaldığının bilinmesi nedeniyle infertil çiftler kaderlerine küsmeyip, tüm tedavi seçeneklerini denemektedirler. Bu sayede son yıllarda infertiliteye yönelik tedavilerde ART (assisted reproductive techniques-yardımcı üreme teknikleri) de ciddi yenilikler ve ilerlemeler olmuştur. Özellikle tubal hasar ve erkek faktörüne bağlı infertilite tedavisinde, prognoz önemli ölçüde iyileşmiştir.

- Kadınlar arasında artmış kariyer ve eğitim düzeyi
- Geç yapılan evlilikler ve boşanma sıklığının artması
- Kontrasepsiyon teknikleri ve aile planlaması servislerinin gelişmesi
- Çocuk doğurma yaşının artması
- Aile biriminin giderek küçülmesi
- İnfertiliteye neden olabilen cinsel yolla bulaşan hastalıkların sıklığının artması, fertilitenin popülasyonlar genelinde azalmasına yol açmıştır.

Kadın fertilitesi ve yaşlanma arasındaki ilişki, infertilite nedenleri arasında en iyi tanımlanmış olanıdır. Kontrasepsiyonun yasaklandığı doğal yaşamı seçen topluluklarda yapılan çalışmalar infertilitenin yaşla beraber azaldığını gösteren en iyi kanıtlardır (2).

Ancak, ileri kadın yaşının over rezervi üzerindeki olumsuz etkisinin dışında, çocuğu olan kadınların tekrar gebe kalmak istememesi, yaşla beraber cinsel istek ve cinsel ilişki sıklığının azalması ve de fertilitayı etkileyen hastalıkların (myom, endometriozis, pelvik enfeksiyon) sıklığının yaşla beraber artması, kadın fertilitésinin azalmasına ayrıca katkıda bulunmaktadır.

Çalışmalardan elde edilen bilgilere göre, doğurganlık kapasitesi 20-24 yaşları arasında en yüksek seviyesindedir. Yaşın ilerlemesi ile doğurganlık kapasitesi giderek azalmaktadır.

- 25-29 yaşlarında, fertilite %4-8 oranında
- 30-34 yaşlarında, fertilite %15-19 oranında
- 35-39 yaşlarında, fertilite %26-46 oranında
- 40-45 yaşlarında, fertilite %95 oranında azalır (3).

Son 15 yılda, “tüm yaş gruplarında elde edilen gebelik oranları” artmış da olsa Asiste Reprodüktif Teknoloji Cemiyeti ve Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi’nin 1989’dan beri topladığı veriler doğrultusunda, “yaş”ın, ART başarısını etkileyen tek ve en önemli neden olduğu bildirilmiştir. Yaş ilerledikçe, elde edilen oosit ve embryo sayısı azalır, embryo fragmentasyon oranı artar ve implantasyon oranı azalır (4, 5).

Canlı doğum oranlarında yaşa bağlı azalma, azalmış fertilite ile birlikte artmış gebelik kaybıyla da ilişkilidir. 2000 yılında yapılan IVF sonuçlarının incelendiği bir çalışmada; 35 yaş altında spontan abortus oranının %20’nin altında, 40 yaşta %30 ve 44 yaş ve üzerinde %60 olduğu bildirilmiştir (6).

Sağlıklı genç bayanlarda günlük idrar örneklerinde hCG ölçümünün yapıldığı uzun süreli araştırmalar, gerçek spontan gebelik kayıp oranlarının (klinik olarak fark edilmemiş gizli kayıp oranını da içeren) yüksek olduğunu göstermiştir (7-9). Tüm gebeliklerin %60 kadarı ilk 12 haftada düşük ile sonuçlanmaktadır ve tüm erken gebelik kayıplarının %20-40’ı fark edilmemektedir.

Sonuç olarak; ileri yaş kadınlarda erken gebelik kayıpları gençlerden yüksek değil dense bile, 40 yaşın üzerinde tüm gebelik kayıp riski %50’nin üzerinde olup %75 kadar yüksek olabilmektedir (8-10).

Yaş faktörü (özellikle 35 yaş ve üzeri), infertilite üzerine bağımsız olarak çok etkilidir. Bunun dışında;

- 1 yıl veya daha uzun süreli korunmasız ilişkiye giren ve gebe kalamayan çiftler,
- Yaştan bağımsız olarak, infertilite süresi uzun olan çiftler,
- Düzensiz ya da az sıklıkta adet gören kadınlar,
- Pelvik enfeksiyon ya da endometriozis hikayesi olan kadınlar,
- Semen analizi bozukluğu bilinen ya da şüphelenilen erkek hastalar, infertilite değerlendirmesine alınmalıdır.

İnfertil çift değerlendirilirken normal doğurganlık hakkında çifti bilgilendirmek gerekir. Siklus fekunditesi insanlarda %20 civarındadır, cinsel ilişki zamanlaması yapılmasına rağmen %35'i geçmemektedir (9, 11-13). Gebelik oranları ise (14);

- İlk 3 ayda %57,
- İlk 6 ayda %72,
- İlk 1 yıl %85,
- 2. yıl %93'tür.

Normal spermin kadın genital sistemindeki kalış süresi ve bir yumurtayı dölleme yeteneği 3-5 gün arası iken, oosit salınımından sonra yaklaşık 12-24 saat başarıyla fertilize olabilme yeteneğine sahiptir (15). Hemen hemen tüm gebelik sikluslarında ilişki ovulasyonun bitiminden sonraki 6 gün içinde olmaktadır (11-13). Çoğu çift için, öneri haftada 2 kez ilişki sıklığı olmalıdır, böylece gereksiz stres engellenecek ve ilişki fertilitenin en yüksek olduğu döneme rastlayacaktır (16). Seyrek ilişkiye giren çiftlere ise zamanlanmış ilişkinin önerilmesi gereklidir.

İnfertilitede spontan tedavi oranı kadının yaşı, infertilite süresi, daha önceki gebelik hikayesi ve nedenlere göre değişmektedir. Tedavisiz canlı doğum olasılığı artan yaş ve infertilite süresi ile azalmaktadır (17, 18). Kadın yaşının her yıl artışı ile birlikte tedavisiz gebelik olasılığı %5 azalırken, infertilite süresinin her yılında %15-25 azalma olmaktadır (19). Spontan gebeliklerin büyük bölümü ilk 3 yıl içerisinde olmaktadır ve bu süreden sonra tedavisiz başarı için prognoz kötü olmaktadır. Daha önce gebelik öyküsü olan kadınlarda prognoz hiç gebe kalmayanlara göre daha iyidir. İnfertilite sebebi de prognozda belirleyicidir. Nedeni açıklanamamış infertilite ve ovulatuvar disfonksiyonda prognoz iyi olmaktadır. Erkek faktörü, tubal hastalık ve endometriozis olanlarda prognoz hastalığın şiddeti ile ilişkilidir.

2.1. İnfertilite Nedenleri

Fertilizasyon ve takibinde spontan gebeliğin gerçekleşmesi için birtakım faktörlerin olması gerekir:

- Sperm servikse ya da yakınına bırakılmalı, oradan uterus içine girebilmeli, tüplere ilerleyebilmeli ve oositi fertilize edebilecek kapasitede olmalı (erkek faktörü)
- Düzenli ve siklik matür oosit ovulasyonu olmalı (ovaryen faktör)

- Serviks spermi tutabilmeli, besleyebilmeli, uterus içine ve tubalara iletebilmeli (servikal faktör)
- Fallop tüpleri ovule olmuş yumurtayı yakalayabilmeli, sperm ve embriyoları efektif olarak taşıyabilmeli (tubal faktör)
- Uterus embriyo implantasyonuna, bebeğin gelişim ve büyümesine uygun olmalı (uterin faktör)

İnfertiliteye neden olan belli başlı sebepleri aşağıdaki gibi sıralayabiliriz:

- Ovulatuvar disfonksiyon : %15 (gençlerde daha sık)
- Tuba - peritoneal patoloji : %30-40 (genç ve yaşlı çiftlerde eşit oranda)
- Erkek faktörü : %30-40 (yaşlı çiftlerde daha sık)
- Uterin patoloji
- Açıklanamayan infertilite: (yaşlı çiftlerde daha sık)

2.1.1. Ovaryen faktör: Ovulatuvar disfonksiyon

Normal bir sperm, kadın genital sisteminde 3-5 gün kalabilir ve bu süre içinde oositi fertilize edebilir. Oosit için bu süre 12-24 saattir (15). Ovulasyon ile birlikte fertilite azalır ve ovulasyondan sonra fertil dönem sonlanır. Bu yüzden fertilitenin en yüksek olduğu dönemi tespit etmeye yönelik bir takım testler aşağıda sıralanmıştır:

- Menstruel hikaye
- Bazal vücut sıcaklığı ölçümü
- Serum progesteron konsantrasyonu ölçümü
- Üriner LH ölçümü
- Endometrial biopsi
- Transvajinal ultrasonografi ile ovulasyonun gözlenmesi

2.1.1.1. Menstruel hikaye

Normal olarak ovule olan kadınlar genellikle düzenli adet görürler. Adet miktarı ve süresi genellikle sabittir ve genellikle premenstrüel ve menstrüel semptomlar eşlik eder.

2.1.1.2. Bazal vücut sıcaklığı (BBT)

Foliküler fazda düşüktür, ovulasyondan sonra luteal fazda 0.4 - 0.8 derece artar ve menstruasyondan hemen önce tekrar bazal seviyelerine düşer. Ovulatuvar kadında

bazal vücut sıcaklığında izlenen bu bifazik patern, sabah yapılan ölçümlerle kolaylıkla tespit edilebilir. Bazal vücut sıcaklığının en düşük seviyesi, ovulasyondan bir gün önce ya da ovulasyon günü izlenir. Termojenik kayma yani bazal vücut ısısının yükselmeye başlaması, progesteron konsantrasyonunun 5 ng/ml'nin üzerinde olduğunda gerçekleşir. Bu dönem LH yükselişinden 1-5 gün sonra başlar ve ovulasyondan sonraki dördüncü güne kadar sürer.

BBT en yüksek dereceye ulaştığında fertil period bitmiştir. Dolayısıyla en fertil dönem bazal vücut sıcaklığının midsiklus peakinden 7 gün önceki dönemdir. Siklusları düzenli olan kadınlarda, en erken ve en geç BBT kaymasının başladığı intervali içeren zaman diliminde gūnaşırı ilişki önerilerek en fertil periodun atlanması engellenmiş olur. BBT'nin diğer ovulasyon testlerine üstünlüğü maliyetinin düşük olmasıdır. Ancak bazı kadınlarda, düzenli ovulasyon olmasına rağmen bifazik patern gözlenmediğı de unutulmamalıdır.

2.1.1.3. Serum progesteron konsantrasyonu

Foliküler fazda genelde 1 ng/ml'nin altındadır. Progesteron konsantrasyonları LH yükseliş günü hafifçe artarak 1-2 ng/ml olur. Bu artış ovulasyondan 7-8 gün sonrasına kadar devam eder ve menstruasyondan hemen önce azalmaya başlar. 3ng/ml üzerindeki değerler ovulasyon olduğunun göstergesidir. Serum progesteron ölçümü için en uygun zaman, progesteronun en yüksek değerlerine ulaştığı, menstruasyondan bir hafta öncesidir (ideal 28 günlük sikluslarda 21. gün midluteal dönem). Progesteronun miktarı ve süresi korpus luteumun fonksiyonel kapasitesini, dolayısıyla luteal fonksiyonun kalitesini gösterir.

Ovulasyondan sonraki 5-9. günler arasında alınan üç ölçümün toplamının 30 ng/ml olması ya da tek bir ölçümün 10 ng/ml olması luteal faz eksikliğinin olmadığını göstergesidir (20).

2.1.1.4. Üriner LH sekresyonu

Siklus ortası LH tırmanışı, 48-50 saat süren kısa süreli bir olaydır. LH'ın yarı ömrü kısadır ve idrardan hızla temizlenmektedir. LH artışını doğru olarak saptamak için beklenen artıştan 2-3 gün önce başlayarak her gün test yapılmalıdır. Saat 16 ve 22 arasında yapılması önerilir çünkü LH tipik olarak sabah saatlerinde salınır ve ancak birkaç saat sonra idrarda tespit edilebilir. En fertil dönem LH tırmanışının

(surge) olduğu gün ya da bir sonraki gündür. LH tırmanışından sonraki gün, planlanmış ilişki ve inseminasyon için en uygun gündür (21-23).

2.1.1.5. Endometriyal biyopsi

Korpus luteumun fonksiyonel kapasitesini ve end-organ yanıtını değerlendiren bir testtir. Progesteronun, endometriyum üzerinde yaptığı değişiklikler gözlenerek ovulasyonun gerçekleşip gerçekleşmediği izlenir. Foliküler faz boyunca, endometriyum dominant ovaryen folikülden salgılanan östrojen ile proliferatif patern göstermektedir. Anovulatuvar kadınlarda endometriyum hep proliferasyon göstermektedir, artmış östrojen etkisiyle hiperplastik duruma geçmektedir. Luteal fazda ise korpus luteumdan salgılanan progesteron etkisiyle sekretuar değişim olacaktır.

Endometriyal biopsi diğer tanı yöntemlerinden daha fazla bilgi sağlamaz, ancak endometrial hiperplaziyi, kronik endometriti ya da luteal faz eksikliğini tanımak açısından faydalıdır.

İnfertil kadınlarda, luteal faz eksikliğinin görülme prevalansı %5-10 civarında olup, bu oran tekrarlayan gebelik kaybı olan kadınlarda daha yüksektir (24, 25). Histolojik tarih ve örnekleme tarihleri arasındaki fark 2 günün altında ise, corpus luteum fonksiyonları normaldir. Histolojik tarih ve örnekleme tarihleri arasında 2 günden fazla fark varsa luteal faz yetmezliğinden bahsedilebilir. Örnekleme, premenstruel dönemde yapılmalıdır (26, 27). Luteal faz yetmezliği en az iki örnekleme yapılmalıdır, çünkü normal ovule olan kadınlarda da sporadik olarak luteal faz defekti gerçekleşebilir.

2.1.1.6. Transvajinal ultrasonografi

Ovumun atılmasından önceki ve sonraki olayların değerlendirilmesine dayanır. Gelişiminin son dönemlerinde preovulatuvar folikül günde 2 mm büyür. Ovulasyondan sonra folikül küçülür, kenarları belirsizleşir, internal eko dansitesi ve cul-de-sac'daki sıvı miktarı artar (28, 29). Özellikle eksojen gonadotropinler ile ovulasyon indüksiyonu yapılan vakalarda, TV-USG önemlidir.

- İnfertilite incelenmesinde ovulasyonun değerlendirilmesinde adı geçen metodlar kullanılabilir ve birbirlerine üstünlükleri yoktur. Oligomenore veya amenoresi olan kadınlara ovulatuvar fonksiyon bozukluğu için ek

değerlendirme yapılmasına gerek yoktur fakat endometriyal hiperplaziyi ekarte etmek için endometriyal biyopsi uygulanmalıdır. Sadece ovulatuvar fonksiyon saptanacaksa BBT kayıtları ya da serum progesteron konsantrasyonu yeterli olacaktır. Düzensiz cinsel ilişkisi olan veya inseminasyon planlanan çiftlerde ise, idrar LH düzeyi monitorizasyonu uygun seçenektir. Klinik duruma göre seçenekler değişecektir.

2.1.2. Erkek faktörü

Erkek infertilitesi, çoğunlukla anormal semen analizi ile saptanır. Değerlendirmede en az 4 hafta ara ile uygun yapılmış 2 semen analizinin olması gerekir. Konsantrasyon, motilite ve morfoloji özellikle önemlidir. Bu parametrelerden bir tanesi bozuksa, infertilite olasılığı 2-3 kat, iki tanesi bozuksa 5-7 kat, üçü de bozuksa 16 kat artar (30).

Tablo 2.1. Semen analizi normal referans değerleri (WHO) (31, 32).

Volume	1.5-5.0 ml
pH	>7.2
Viskozite	<3 (0-4)
Sperm konsantrasyonu	>20 milyon/ml
Total sperm sayısı	>40 milyon/ ejakulat
Motilite yüzdesi	>%50
İleri hareket	>2 (0-4)
Normal morfoloji	>%50 normal >%30 normal >%14 normal
Yuvarlak hücre	< 5 milyon /ml
Sperm aglutinasyon	<2 (0-3)

2.1.3. Servikal faktör

Erkek faktörü dışında sperm ve mukus ilişkisi de incelenmelidir. Servikal mukus, vajina ve ejakulattan spermleri yakalayarak diğer seminal proteinleri ayırır, anormal morfolojili spermleri filtre eder (33), biyokimyasal olarak hazır hale getirir ve sperm için rezervuar görevi yapar. Östrojen, servikal mukus salınımını artırır ve viskositesini azaltır, servikal mukus berraklaşır sperm geçişine izin verir (34). Progesteron ise viskositeyi artırır. Post-coital test (sims-hühner) infertilite

araştırmalarında kullanılmış fakat kanıtlanmış tanısal değeri olmaması ve test sonuçlarının tedavi seçimini etkilememesi nedeni ile rutin uygulanması gereksizdir (35).

2.1.4. Uterin faktör

Uterin anomaliler infertilitenin nadir nedenlerindendir, fakat tespit edilmedikleri takdirde tedavi ile gebelik olursa sonuçları olumsuz etkileyecektir. Fertiliteyi olumsuz etkileyen uterin anormallikler, konjenital malformasyonlar, leiomyomlar ve intrauterin adezyonlardır; endometriyal poliplerin reproduktif önemi net olarak belirtilmiştir. İnfertilitenin değerlendirilmesinde tek fonksiyonel anormallik kronik endometrittir.

Uterin kavitenin değerlendirilmesinde 3 temel metod vardır; histerosalfingografi (HSG), standart transvajinal ultrasonografi veya sonohisterografi ve histeroskopidir. HSG geleneksel ve ilk tercih edilen yöntemdir; tubal yeterlilik hakkında da fikir vermektedir.

2.1.4.1. Konjenital uterin malformasyonlar

Gebelik kaybı ve obstetrik komplikasyonlar ile ilişkilidir fakat gebe kalabilme potansiyeli etkilenmemektedir.

Septat uterus, fertil ve infertil kadınlarda eşit oranda (%1) görölmektedir, ancak tekrarlayan gebelik kaybı olanlarda daha fazladır (%3, 5). En sık görölen ve infertilite ile en fazla ilişkisi olan konjenital malformasyondur.

2.1.4.2. Edinsel uterin malformasyonlar

Myoma Uteri: İnfertiliteyi etkilediği kesinlikle bilinen, en kötü yerleşimli myom kornual myomdur. Myomların fertiliteyi etkileme mekanizmaları; tüpün interstisyel segmentini bozan kornual tıkanma, ovum veya sperm transportu veya embriyo implantasyonuna engel olan bozulmuş uterin kontraktilite ve fokal endometriyal ülserasyona neden olan bölgesel kan akımında azalmadır. Gebelik ve implantasyon oranları submuköz myomlarda düşükken, endometriyal kaviteye bası yapmayan ve orta düzeyde büyüklüğü olan (5-7 cm) intramural ve subseröz myomlarda normaldir (36-41). Posterior duvarda yerleşimli myomlar, adezyon riskini arttırdığı için infertilite açısından risklidir.

- **Asherman Sendromu:** En sık görülen semptomlar; hipomenore, amenore veya dismenore gibi menstrüel disfoksiyon ve infertilitedir. Tekrarlayan gebelik kayıpları, plasenta acreata ve varyantları diğer semptomlardır. Patofizyolojisi; travma sonrası endometrium damarlanması ve fonksiyonunda bozulmadır. Mukozal, fibromuskuler, ya da konnektif dokudan meydana gelen bantlar vardır. Histeroskopik adezyolizis sonrası, normal menstruasyon düzeni %70-90 oranında, gebelik ise %25-70 oranında sağlanır (42).
- **Endometrial Polip:** Prevelansı %3-5'dir. İnfertilite üzerine etkisi belirsizdir (43).
- **Kronik Endometrit:** Klinik servisit, kronik veya reküren bakteriyal vajinositis veya pelvik infeksiyon düşünülen infertil hastalarda ayrıntılı tanı ve tedavi yöntemleri uygulanmalıdır.

2.1.5. Tubal faktör

İnfertil çiftlerin %30-35'inde rastlanır (44). PID (pelvik enflamatuvar hastalık) tubal faktör infertilite ve ektopik gebeliklerin en sık nedenidir. PID öyküsü, septik abortus, rüptüre apandisit, tubal cerrahi, ektopik gebelik, endometriyosise bağlı inflamasyon, inflamatuvar barsak hastalıkları veya cerrahi travma tubal hasara bağlı infertilite etyolojisini oluşturur. İlk PID atağından sonra tubal adezyon riski %10-15, ikinci PID'den sonra tubal adezyon riski %23-35, üçüncü ataktan sonra ise %54-75'tir (45-49). Laparoskopik adezyolizis sonrası, ilk bir yıl içerisinde, gebelik şansı %50, hafif dereceli distal oklüzyonlarda gebelik şansı %80, orta dereceli oklüzyonlarda %30, ciddi oklüzyonlarda ise %15 dir (50).

2.1.6. Açıklanamayan infertilite

İnfertil çiftlerin %10-30'unda infertilite nedeni açıklanamaz. Bu hastalar, normal semen ve normal ovulatuvar fonksiyona sahip, normal uterus yapısı ve bilateral tubal açıklığı olan hastalardır. Ortalama siklus fekundabilitesi normalde %20-25 iken bu hastalarda siklus fekunditesi %2-4'tür. Tedavi siklus fekunditesini arttırmaya yöneliktir (51).

2.2. Reprodüktif Yaşlanmanın Fizyolojisi

Fetal hayatta germ hücreleri mitoz ile bölünerek, 16-20. gebelik haftasında, 6-7 milyon oogoniayı oluşturur. Bu haftadan sonra germ hücre popülasyonu gen düzeyinde apoptozis ile gittikçe azalır (52). İlk mayoz bölünmeden sonra germ hücre sayısı, doğumda 1-2 milyon olup, pubertede 300 - 500 bin civarındadır. 35-40 yıllık reprodüktif hayat boyunca sadece 400-500 oosit ovule olur. Geri kalan oositler ise atreziye uğrar. Reprodüktif dönem boyunca, 37-38 yaşına kadar, folikül sayısında azalma oranı sabittir ancak bu olay menapozdan 10-15 yıl önce ivme kazanır. Menapozda, overde yaklaşık 1000'den az folikül kalmıştır (53, 54). İleri yaş kadınlardaki menstruel özellikler kalan folikül sayısı ile ilişkilidir. Düzenli siklusu olan ileri yaş kadınların folikül sayısı düzensiz siklusu olan perimenopozal kadınlardan 10 kat fazladır, menopoz sonrasında ise folikül gözlenmez (55). Yaştan bağımsız olarak menstruel düzensizlik ile menopoz arası süre yaklaşık 5 yıldır (56). Menopoz yaştan bağımsız olarak, kalan folikül sayısının yaklaşık 1000'in altına düştüğü zaman oluşmaktadır. Over dokusunu tahrip eden bir hastalık olmadığı sürece doğumdaki toplam folikül sayısı ve foliküllerin ortadan kalkma yaşı genetik olarak belirlenmektedir (57-63). Kadınlarda foliküler kayıpta hızlanma ve fertilitede azalma 37-38 yaşında başlamaktadır ve yaklaşık 13 yıl sonra menopoza girmektedirler (ortalama 51 yaş). Epidemiyolojik çalışmalar genel popülasyondaki kadınların %10'unun 45 yaşında menopoza girdiğini ve bunun da daha az foliküler havuzla doğmaları nedeni ile olduğunu belirtmektedir. Soyağacı analizleri erken menapoz (40-45 yaş) ve erken ovaryen yetmezlik durumlarının genetik özelliklerinin benzer olduğunu ve anne babadan dominant kalıtımla geçtiğini göstermektedir (64, 65).

Ovaryen stimülasyona zayıf cevap veren hastaların, ivmelenmiş rezerv azalması ile fertilitenin tamamen kaybolması arasındaki geçiş döneminde olan hastalar olduğu düşünülmektedir. Foliküler azalmanın başladığı dönemde, henüz menstruel düzensizlikler oluşmadan önce, FSH seviyesi artmaya başlar. LH konsantrasyonu ise değişmez. Bu menotropik yükselişin nedeni, foliküllerdeki azalmaya bağlı ovaryen hormonların ve inhibin-B'nin azalması ve hipofizer FSH sekresyonu üzerindeki negatif feedback inhibisyonun yeterince gerçekleşmemesi ile açıklanabilir. FSH konsantrasyonundaki artışla birlikte hatta biraz daha önce dolaşımda foliküler faz inhibin-B seviyeleri azalmaktadır (66-70). Daha sonra luteal faz inhibin-A seviyeleri

düŖer. İki inhibin de selektif olarak hipofizer FSH salınımını inhibe eden peptidler olduğundan folikül havuzundan salınan inhibin azaldıkça, özellikle erken foliküler fazda, FSH konsantrasyonu artar. İnhibin üretimindeki azalma, azalan folikül sayısını veya kalan foliküllerin azalan fonksiyonel kapasitesini gösterir. Hipofizer FSH salınımını tetikleyen aktivinler, ovaryen rezerv üzerine etkili diğer peptidlerdir. Activin- A'nın yaşı ilerleyen kadınlarda arttığı gösterilmiştir. Ancak menopozda, artan FSH seviyeleri üzerine ne derece etkili olduğu bilinmemektedir (71, 72, 80). Ovaryen steroid hormonların rolü yoktur. FSH konsantrasyonundaki ilk artış ancak birkaç yıl sonra estradiol seviyesinde ölçülebilir bir azalma yapacaktır (67, 74). Yaşlanan kadınlarda foliküler faz E2 seviyesi, genç kadınlarla aynı, hatta daha yüksektir. Luteal faz progesteron düzeyleri de yaşlı ve genç hastalarda benzerdir (75, 76). Yaş ve FSH seviyesi arttıkça foliküler faz kısalmır, LH seviyesi ve luteal faz süresi ise değişmez. Sikluslar düzenli olsa da siklus uzunluğu ve siklus variabilitesi azalmıştır (77). FSH arttıkça ve foliküler faz kısaldıkça E2 seviyeleri daha erken artmaya başlar. FSH artışı foliküler gelişimin daha hızlı ve erken olmasına neden olur. Folikülün erkenden iyi gelişmesi ve dominant folikülün erken seçimi, E2 seviyesinde erken akut artışlara neden olur (78, 79). Yaklaşık 42 yaşında foliküler faz ve siklus uzunluğu en kısa dönemine ulaşmaktadır. Daha sonraki premenopozal 8-10 yılda ortalama siklus uzunluk ve değişkenliği, ovulasyondaki azalmayla artmaktadır (77). Yaşla ilişkili olan ilerleyici folikül azalmasına bağlı menstrüel siklus özelliklerindeki değişiklikler over hacminde azalma ve erken foliküler fazda TV USG ile gözlenen antral folikül sayısındaki azalmayla ilişkilidir (79-85).

2.2.1. Yaşla ilişkili fertilite azalmasının mekanizması

Artan yaşla (yaklaşık 38 yaşından sonra) foliküllerin gonadotropin stimulasyonuna duyarlılığı progresif olarak azalır ve dolayısıyla bu hastalarda multiple foliküler gelişimi sağlamak için kullanılan ilaç dozu ve tedavi süresi artar. Ancak yapılan çalışmalar göstermektedir ki, foliküler gelişme ve büyüme bir kez başladığında, yaşa bağlı herhangi bir foliküler fonksiyon bozukluğu izlenmez. Genç ve yaşlı bayanlarda preovulatar folikül boyutu ve inhibin düzeyleri benzerken, foliküler sıvı progesteron düzeyleri ve östrojen/androjen oranları yaşlı bayanlarda yüksek olmaktadır (67).

Siklusları devam eden ileri yaştaki kadınlar da gençler kadar düzenli hatta daha sık ovule olurlar. Artan FSH değerleri ile gonadotropin uyarısına karşı azalan sensitiviteyi kompanse ederler. Yaşlanan kadınlarda preovulatuvar foliküller daha erken yola koyulmasına rağmen normal hızda gelişir ve normal boyuta ulaşır. Foliküler sıvı karakteristikleri de bu foliküllerin sağlıklı olduklarını göstermektedir. Bütün bu olumlu verilere rağmen reproduktif yaşlanmaya bağlı fertilitenin azalması ve spontan gebelik kayıplarının artmasının nedeni progresif foliküler azalma ve oositlerdeki yaşa bağlı anomali riskindeki artıştır.

IVF sikluslarında fertilize olmayan oositlerin sitogenetik analizlerinde, artan yaşla birlikte oosit anöploid oranının arttığı görülmektedir. Yaklaşık 35 yaşına kadar anöploid oosit sıklığı düşük ve değişiklik en az düzeyde iken (yaklaşık %10), 40 yaşında %30, 43 yaşında %50, 45 yaşından sonra yaklaşık %100'e yükselmektedir (86). Öploid ve anöploid abortusların sıklığı anne yaşı ile birlikte artmaktadır. Anormal kromozomlu abortus olasılığı 20 yaşında %35'in altında iken 42 yaşın üzerinde %80'e yükselmektedir (87). En sık gözlenen kromozom anormallik trisomilerdir, bunları poliploidiler ve monosomi X (45,X) izlemektedir.

2.3. Over Rezerv Testleri

Yaş ve ovaryen rezerv testleri, IVF başarısı açısından bağımsız ve önemli belirleyicilerdir.

Ovaryen rezerv testi endikasyonları (88, 89);

- _ 35 yaşın üzerinde,
- _ Yaştan bağımsız olarak açıklanamayan infertilite,
- _ Ailede erken menapoz hikayesi,
- _ Geçirilmiş ovaryen cerrahi (ovaryen kistektomi veya drilling, unilateral ooferektomi, kemoterapi ya da radyasyon),
- _ Sigara içimi (doza bağlı olarak ivmelenmiş foliküler azalmaya, menstruel düzensizliklere, gamet ya da embriyoda mutageneze neden olur),
- _ Eksojen gonadotropin stimülasyonuna kötü yanıtı olan hastalar.

Reproduktif yaşlanmayla birlikte fertilitenin azalması ve yaşlanmanın erken döneminde FSH seviyelerinin yükselmesi, ovaryen rezervi değerlendirmek açısından FSH'nın iyi bir prognostik faktör olarak kullanılmasını sağlamıştır. Gerçekten siklusun 3. günü yapılan FSH ölçümü günümüzde en yaygın kullanılan ve kolay uygulanabilen ovaryen rezerv testidir. 3. gün FSH değeri ve FSH/LH oranı arttıkça, tepe estradiol seviyesi, toplanılan oosit sayısı, gebelik ve canlı doğum sayısı azalır (90-96). Birçok laboratuvar 3.gün serum FSH değerlerinin 10-15 IU/L'nin üzerinde olmasını anormal kabul etmektedir.

Erken foliküler faz E2 seviyesi, ovaryen rezervi değerlendirmede ek bilgi sağlar. FSH gibi, 3. gün E2 düzeyinin yüksek olması (80 pg/ml'nin üzeri), fekundabilitenin azaldığını ifade eder (97-99). Serum E2 seviyesindeki erken artışlar, folikülün erken gelişimini ve dominant folikülün erken seçimini gösterir. Erken E2 artışının yanıltıcı tarafı, FSH artışını maskeleyerek aslında düşük olan ovaryen cevabı yüksek olarak göstermesidir. Dolayısıyla, 3. gün E2 ve FSH'nın beraber değerlendirilmesi yalancı negatifliği azaltır. Hem FSH hem E2'nin arttığı durumlarda, ovaryen uyarıma yanıtın kötü olduğu görülecektir.

Klomifen sitrat testi, ovaryen rezervi değerlendirmek açısından sensitif ve provakatif bir testtir. Test; klomifen sitrat tedavisinden (100 mg/gün siklusun 5-9. günleri) önce (3. gün FSH ve E2) ve sonra (10. gün FSH), siklusun bazal ve stimule olmuş değerlerini gösterir (100). Klomifen uygulamasının ardından, normal cevap olarak gonadotropin seviyelerinde artış beklenmektedir. Genç fertil kadında LH, FSH'dan daha fazla artarken, düşük ovaryen rezervi olan kadınlarda FSH, LH'tan daha fazla artar. Bu farklılığın mekanizması tam olarak anlaşılmamıştır, ancak yaşılan kadınlardaki küçük foliküllerin daha az inhibin-B ve östradiol ürettiği ve bu nedenle klomifenin indüklediği hipofizer FSH salınımı üzerine daha az negatif feedback inhibisyonu oluşturduğu öne sürülmüştür (69, 82). Başarılı gebelik oranları 3. ve 10. gün FSH seviyeleri ile ters orantılıdır. 3. gün FSH düzeyi normal olan kadınlarda yüksek 10. gün düzeyleri bulunması prognozun kötü olduğunun göstergesidir. 10. gün östradiol düzeylerinin prognostik değeri yoktur (101-103).

Yaştan bağımsız olarak 3. gün FSH seviyesi yüksekliği veya anormal klomifen sitrat testi, IVF başarısı açısından kötü prognoz işaretidir (<%10) (101, 102). Ovaryen rezerv testi kötü olan kadınlarda, hasta genç bile olsa prognoz kötüdür. Ancak normal

testi olan kadınlarda sonuçlar yaşla beraber değerlendirilmelidir. Test sonucunun normal olması, yaşa bağlı prognozu kötü olan hastanın sonucunu iyileştirmez.

Özellikle yaşlanan kadınlarda bazal FSH seviyelerinde varyasyonlar çoktur ancak gonadotropin stimülasyonuna cevapta varyasyon beklenmez. Test sonucu anormal olan kadınlarda tedavi için optimal siklusu belirlemek adına testleri tekrarlamamanın anlamı yoktur; çünkü anormal test sonucunda prognoz genelde kötüdür. Ancak normal testi olanlarda, tekrar testler yapılarak komplike ve pahalı bir tedavi önlenmiş olur (104-106).

Ovaryen rezervi ölçmeye yönelik diğer metodlar ise aşağıda sıralanmıştır:

- Ovaryen volum ve erken foliküler faz antral folikül sayımları (81, 85, 107)
- Bazal ve klomifene veya eksojen FSH stimülasyonuna bağlı inhibin – B seviyesi ölçümü (108-111)
- HMG veya GnRH agonist ile stimülasyon sonrası FSH , E2 , inhibin-B seviyeleri ölçümü (112-115)
- Bazal, GnRH agonist veya gonadotropin ile stimüle edilmiş, antimüllerian hormon seviyesi (AMH ölçümü) (116)
- TV USG ile saptanan antral folikül sayısı foliküler havuz rezervini gösterir (117, 118) “yaş ve gonadotropin stimülasyonu ile koreledir. 10 veya altında folikül, siklus iptali riskini artırır” (119),
- Bazal ve stimüle inhibin-B seviyelerinin düşüklüğü, ovaryen rezervinin de düşük olduğunu gösterir (109-111).

GnRH agonist stimülasyon testi ve eksojen FSH ovaryen rezervi testi, klomifen sitrat testinden daha sensitif değildir, ayrıca daha pahalı yöntemlerdir (120).

Ovaryen rezerv testleri prognozu, tedavi kararlarını ve yönetimi etkiler. Eksojen gonadotropin uyarısına overin cevabını değerlendirir, dolayısıyla IVF başarısı konusunda da yönlendiricidir. Klomifen sitrat testi tarama testi olarak kullanıldığında, anormal test prevalansı %10 civarındadır. Bu oran yaşla ve açıklanamayan infertilitesi olanlarda artar. Ancak yaştan, diğer infertilite nedenlerinden veya tedavi tipinden bağımsız olarak da klomifen sitrat testinin anormal olması kötü prognoza işaret eder (121).

2.4. Tedavi

Normal çiftlerde siklus fekundabilitesi %20-25 oranındadır. İnfertil çiftlerde ise bu oran daha düşüktür. Tedavi siklus fekundabilitesini arttırmaya yöneliktir.

Ortalama siklus fekundabilitesi (122);

Tedavi yok ise	%1,3 – 4,1
IUI	%3,8
Klomifen sitrat kullanımı	%5,6
Klomifen sitrat kullanımı+ IUI	%8,3
Gonadotropinler	%7,7
Gonadotropinler+ IUI	%17,1
IVF	%20,7

IVF, ART teknikleri arasında en sık uygulanandır. Ciddi tubal hastalık, ciddi endometriozis, ciddi erkek faktörü, multifaktöryel infertilite, ovaryen yetmezlik, yaşa bağlı ya da açıklanamayan infertilite olgularında gebelik şansını artırır. Yıllar geçtikçe teknikler ilerlemiştir. ART artık ejakulat ile ICSI veya mikrocerrahi epididimal sperm aspirasyonu(MESA) veya testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE) ile elde edilmiş spermelerin intrastoplazmik olarak enjekte edildiği yöntemleri, yardımcı embriyo tutunma tekniğini (asiste hatching) ve implantasyon öncesi genetik tanıyı (PGT) içermektedir.

ART'nin diğer çeşitleri laparaskopi ile yapılan tubal oosit ve sperm transferi (GIFT), zigot transferi (ZIFT) veya embriyo transferi (TET) olup, sınırlı kullanım alanları mevcuttur.

IVF, eksojen gonadotropinler ile kontrollü ovaryen hiperstimulasyonu, TV USG altında overlerden oosit toplanmasını, laboratuvar koşullarında fertilizasyonu, embriyoların transservikal olarak uterusu transferini içerir.

IVF'in prognozu maternal yaş, ovaryen rezerv ve geçmiş reproduktif performansla direkt ilişkilidir. Endometriozisi olan hastalarda IVF başarısı, tubal faktör infertilitesine oranla daha kötüdür (123). Üçüncü gün FSH değeri yüksekliği ve CC testinin anormal olması, yaştan bağımsız olarak IVF prognozunu kötü yönde etkiler. Sigara içen tüm kadınlarda sigara içimi IVF öncesi kesilmelidir çünkü, sigara içimi başarı şansını yarı yarıya düşürmektedir (124-126).

2.4.1. Ovaryen stimölasyon seçenekleri

2.4.1.1. Doğal siklus

Siklus iptal oranları yüksektir (%25-75), siklus başına başarı şansı düşüktür. (127-130) Ayrıca doğal sikluslarda sadece bir oosit ve bir embryo elde edilir. Doğal sikluslar, ovaryen stimölasyona zayıf cevap veren hastalarda (1-2 folikül ile) ya da stimölasyonu tolere edemeyecek durumdaki hastalarda kullanılır. Eksojen hCG enjeksiyonu önder folikül yeterli olgunluğa eriştiğinde yapılır. Tedaviye GnRH antagonistinin eklenmesi, prematur LH yükselmesini önleyerek IVF sonuçlarını iyileştirir.

2.4.1.2. Klomifen sitrat ile ovulasyon indüksiyonu

Siklusun 3. günü 100 mg/gün dozunda başlanır, 5-8 gün devam edilir. Normal ovulatar kadınlarda 2 veya daha fazla folikül geliştirir. Doğal sikluslara oranla siklus iptali oranları daha düşüktür. Toplanan oosit, transfer edilen embryo ve gebelik oranları daha yüksektir. Prematur LH yükselmesini engellemek için GnRH antagonisti tedaviye eklenebilir (131).

2.4.1.3. Klomifen sitrat ve eksojen gonadotropin tedavisi

Multifoliküler gelişim sağlanır. Beş gün 100 mg/gün dozunda klomifen sitrat tedavisine ek olarak, düşük doz eksojen gonadotropin tedavisi başlanır. Transfer ve kriyoprezervasyon için long protokole oranla daha az oosit ve embryo elde edilir, ancak gebelik oranları daha az değildir ve OHSS riski daha düşüktür. Çok kullanılmamasının nedeni total reproduktif potansiyelinin az olmasıdır. Erken LH yükselmesini engellemek için GnRH antagonisti de tedaviye eklenebilir (132-134).

2.4.1.4. Uzun (Long) protokol (uzun etkili GnRH agonisti ile down regulasyon sonrası eksojen gonadotropin uygulaması)

Uzun etkili GnRH agonistleri, endojen hipofizer gonadotropin sekresyonunu suprese eder. Böylece eksojen gonadotropin stimölasyonu sırasında gelişebilecek prematur LH yükselişi engellenmiş olur. Bu uygulama sayesinde hastanın uyumunu zorlaştıran sık sık LH ölçümüne gerek kalmadığı gibi, siklusların %20'sinin iptaline neden olan prematur lüteinizasyon da engellenmiş olur (135-137). GnRH agonist down regulasyonundan sonra siklusların sadece <%2'sinden azında prematur LH

yükselmesi izlendiğinden, foliküller yeterince büyüyene kadar stimulusya devam edilebilir. GnRH agonisti kullanılan çalışmalarda, sadece gonadotropin kullanılanlara oranla toplanan yumurta sayısı ve gebelik oranlarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (138,139).

GnRH agonist tedavisine, midluteal fazda (ovulasyondan 1 hafta sonra) başlanır. Bu dönemde endojen gonadotropinler en düşük seviyelerindedir. GnRH agonist tedavisi (örneğin 1 mg/gün dozunda leuprolid asetat) adet dönemine ya da gonadotropin stimulusyonuna kadar uygulanır. Daha sonra hCG uygulama gününe kadar yarı dozda devam edilir. GnRH agonist uygulaması ile depolanmış hipofizer gonadotropinler birden salınır (flare etki). Ancak bu hafif artışın, foliküler gelişimi sağlayabilecek bir etkisi yoktur (140, 141).

GnRH agonistleri; löprolid asetat (subkutan), nafarelin asetat (intranasal), buserelin (subkutan veya intranasal), triptorelin (subkutan). Bütün agonistlerin etkilerinin eşit olduğu bildirilmiştir (142). Leuprolid ve goserelin'in depo formları da vardır ancak gonadotropin total doz ve süresini uzatmak gerekebilir (143).

Standart tedaviye iyi cevap vermeyen hastalarda; GnRH agonist dozu yarısından fazla azaltılabilir (144,145), gonadotropin uygulamasının 5. günü agonistler kesilebilir, stimulusya başlandığında agonistler tamamen kesilebilir. Böylece gonadotropin stimulusyonuna cevap iyileşir (146-150). Gonadotropin stimulusyonuna başlamadan önce serum östrodiol seviyelerini ve ovaryen foliküler aktiviteyi değerlendirmek gerekir. Östrodiol 40 pg/ml'den az olmalı, bazal TV- USG ile 10-15 mm'den büyük foliküler kist izlenmemelidir.

Gonadotropinin klasik başlama dozu 225-300 IU/gün'dür. Kullanımda olan gonadotropinler üriyer FSH, rekombinant FSH, üriyer menotropin (hMG) dir. Hepsi subkutan uygulanır (151). Step-up ya da step-down protokolü kullanılabilir ancak step-down protokolü daha çok tercih edilen protokoldür.

Sitümulasyona cevap, E2 ve TV-USG ile takip edilir. İlk E2 ölçümü gonadotropin uygulamasından 3-5 gün sonra yapılır ve 1-3 gün arayla tekrarlanır. Birçok kadına 7-12 gün sitümulasyon gerekir. Amaç, 17-18 mm çapında, en az iki ve 14-16 mm çapında birkaç tane folikül sağlamak ve kohortun büyüklüğüne ve matüritesine uygun E2 seviyelerine ulaşmaktır (Örn: 14 mm'lik folikül için yaklaşık 200 pg/ml E2).

Endometrial gelişim de incelenmektedir. HCG uygulama günü endometrial kalınlık 8-9 mm ya da trilaminar görünümdeyse prognozun çok iyi olduğu, endometrium 6-7 mm'nin altında ise ve homojen görünümdeyse prognozun kötü olduğu bildirilmiştir (152-158). Endometrium kalınlığının çok arttığı (<14 mm) vakalarda da prognozun kötü olduğu bildirilmiştir (156,159). Tam tersini savunan çalışmalarda mevcuttur (160,161). Sonuç olarak, sitümlasyon protokollerindeki değişiklikler ve siklus iptalinin endometrial kalınlık ve görünümüne göre fark etmesi net değildir (162).

Hedeflenen cevap ortaya çıktıktan sonra, son foliküler maturasyon için 5000-10000 IU hCG uygulanır, rekombinant formu 250 mcg'dır (163,164).

2.4.1.5. Yüksek cevaplı olgular (High responders)

Masif ovaryen büyüme, çeşitli boyutlarda birçok folikül ve belirgin derecede artmış E2 seviyeleri (>3000 pg/ml) ile kendisini gösterir. Ovaryen hiperstimülasyon sendromu (OHSS) riski artmıştır (165-167).

Takipte;

- _ Siklusu iptal etmek
- _ Coasting uygulamak (Agonist tedavisine devam edilse de gonadotropinlere 1-3 gün ara verilir. E2 seviyeleri normale dönünce HCG uygulanır. Coasting ile büyük foliküller büyümeye devam ederken, küçük ve orta boyuttaki foliküllerin gelişimi engellenmiş olur). Coasting uygulanan siklusların sadece %20-30'u iptal edilmektedir, ayrıca OHSS riski de azaltılmış olur (168-170).
- _ Siklusun tamamlanıp oosit toplanması ve fertilizasyon işlemlerinin uygulanması sonrası embriyoların saklanması hem siklustan yararlanılmasını sağlar, hem de OHSS riskini azaltır (170, 171).
- _ Transferin geciktirilip oosit toplanmasından 5 gün sonraya bırakılması; bu arada OHSS semptomları takip edilir (172).

Yüksek cevaplıların bir sonraki siklusta prognozları genelde iyidir. Siklusun iptali ve daha konservatif tedavi ile yeni siklusa başlamak maliyeti azaltacak, başarı şansını arttıracaktır (173). Hem oral kontrasepsiyon (günlük 25 mg), hem de GnRH agonist ile yapılan (hapın 21. gününden itibaren 1.0 mg, cilt altı) çift baskılama bu kadınlarda bir sonraki siklusda düşük dozdaki gonadotropin uyarımına (adetin 3. günü 150 IU/gün) iyi yanıt verilmesini sağlamaktadır (174).

2.4.1.6. Zayıf cevaplı olgular (Poor responders)

Zayıf cevaplı olguların yönetimi zordur. Bu kavram; bir önceki siklusta 3 veya daha az oosit elde edilen olgular, 16 mmden büyük 3 veya daha az follikül olduğu için siklus iptal edilen, tek dominant folikül olan, tepe E2 seviyesinin en fazla 500 pg /ml olan olguları kapsar.

Bu hastalarda daha şiddetli ve alternatif rejimler uygulanmalıdır:

- _ Yüksek doz gonadotropin (450 IU/gün – dozun daha da arttırılması etkiyi arttırmaz) uygulanan uzun protokoller (175-177),
- _ GnRH agonist dozunu düşürmek ya da gonadotropin başlamadan ya da başladıktan kısa bir süre sonra GnRH agonistini kesmek (146-149, 178),
- _ Standard ya da mikrod doz GnRH agonist flare protokolü uygulaması (144, 179, 180),
- _ Uzun süreli GnRH agonisti yerine GnRH antagonisti kullanmak (181),
- _ Klomifen sitrat + eksojen gonadotropinin ardışık kullanımı (182).

2.4.1.7. GnRH agonist ve eksojen gonadotropinlerle ardışık olarak yapılan- kısa veya flare protokoller

Kısa veya flare protokoller hem uzun dönemli bir GnRH agonistinin ilk başta ortaya koyduğu agonistik etkisini, hem de daha uzun tedavi döneminde uyarılan endojen gonadotropin salgısındaki baskılamayı sağlaması açısından uygun alternatif yaklaşımlardır (179, 183).

Kısa protokolda leuprolid asetat 1 mg / gün dozunda, siklusun 2-4. günlerinde uygulanır. Daha sonra doz 0.5 mg/ gün dozuna düşürülür. Siklusun 3. günü ise 150-450 IU gün dozunda gonadotropin stimülasyonuna başlanır. hCG zamanı diğer protokollerdeki ile aynıdır.

Gebelik ve canlı doğum oranları düşük gibi görünse de flare protokolü folliküler cevabı geliştirir ve siklus iptal oranını azaltır. Dezavantajı, menstrasyonun OKS ile kontrol edilmediği hastalarda, hastayı sık sık kontrole çağırma gerekliliğidir. Flare protokolüyle, corpus luteumun geç kurtarılmasına bağlı serum progesteron ve androjen seviyeleri artmaktadır. Bu durum, oosit kalitesi, fertilizasyon ve gebelik üzerine ters etki göstermektedir (184).

Kısa protokol varyasyonları

-Ultra kısa protokol

3 gün agonist uygulamasıyla flare cevap alınır daha sonra agonistler kesilerek sadece gonadotropinlerle tedaviye devam edilir. Endojen gonadotropin baskılanması için yeterince uzun süre GnRH agonisti kullanılmadığı için prematür LH yükselmesi daha sık gözlenir. Bu protokol nadiren kullanılır, çünkü sonuçlar klasik kısa ve uzun protokole göre daha kötüdür (185, 186).

- Oral kontraseptifler (OKS) ile mikrod doz GnRH agonist flare protokolü

14-21 günlük OKS supresyonunu takiben mikrod doz olarak hazırlanmış leuprolid asetat, siklusun 1. günü, 40 mcg günde 2 kez olacak şekilde başlanır. Siklusun 1.gününden hCG gününe kadar uygulanır.

Leuprolid tedavisinin 3.günü yüksek doz (300-450 IU/ gün) gonadotropin başlanır. Bu tedavi kısa protokole göre daha avantajlıdır. Uygulanan GnRH agonist dozu düşük olduğundan ve OKS ile cevap verebilecek corpus luteum oluşması engellendiğinden serum progesteron ve androjen konsantrasyonlarında artış olmaz (187, 188).

Serum FSH değerinde dramatik artışlar izlenen, zayıf cevaplı olgular için iyi bir protokoldür. Siklus iptal oranı azalır, serum tepe E2 seviyesi, transfer oranı, klinik ve devam eden gebelik oranları artar (180, 189).

2.4.1.8. GnRH antagonist eklenerek yapılan gonadotropin uyarısı

GnRH agonistleri reseptör down regülasyonu ile gonadotropinlerin GnRH'a karşı desensitize olmasını sağlar, böylece gonadotropin sekresyonu önce stimüle sonra inhibe olur. Antagonistler ise GnRH reseptörlerini doza bağlı kompetitif şekilde bloke eder, flare etki yaratmaz ve gonadotropinleri suprese eder (190).

Antagonistlerin agonistlere göre avantajları çoktur:

- Tedavi süresi agonistlere oranla daha azdır.
- Kullanılmasındaki amaç LH yükselmesini engellemek olduğundan ve etkisini hemen gösterdiğinden, antagonist tedavisi foliküler gelişimin geç dönemine kadar ertelenebilir (gonadotropin tedavisinin 5-7 gününden sonraya kadar). Hatta E2 seviyeleri yükseldikten sonra bile uygulanabilir. GnRH agonist tedavisi ile gözlenen östrojen eksikliğine bağlı semptomlar görülmez (191).
- Agonistlerin, gonadotropin stimülasyonuna karşı ovaryen cevabı suprese eden etkileri de olmayacağından, kullanılan gonadotropin dozu ve süresi azalır. Dolayısıyla standart uzun protokolden fayda görmeyen zayıf cevaplı olgularda antagonist tedavisi fayda sağlar (191-193).
- Agonistlerin flare etkisi olmayacağından folikül kisti oluşmaz.
- OHSS riski, agonistlerden daha azdır (194-196).

Dezavantajları:

- Hasta uyumunun çok iyi olması gerekmektedir.
- Antagonistler, endojen gonadotropin sekresyonunu agonistlerden daha iyi baskılar. Bu nedenle agonistlerle sağlanan ve folikülogenez için az da olsa gereken LH konsantrasyonları antagonistler ile sağlanamaz.
- Serum E2 seviyeleri azalır ya da plato yapar (154, 191, 197).
- Foliküler büyüme etkilenmemiş görünse de düşük doz hMG gerekebilir (75 IU).
- Gebelik oranları GnRH agonistlerinin kullanıldığı uzun protokollere oranla biraz daha düşüktür. Çünkü GnRH antagonistleri folikülogenezde rol oynayan hücrelerin mitotik programlanmasına, blastomer oluşumuna ve endometrial gelişim üzerine etkilidir (198, 199).

Ganirelix ve cetrorelix klinik kullanımda olan GnRH antagonistleridir. Prematür LH yükselmesini önleyen minimum doz 0.25 mg/gün'dür. Subkutan olarak uygulanır (200,201).

Tedavi, gonadotropin stimülasyonunun 5-6. gününden sonra başlar (sabit protokol- bu protokolle agonistler kadar kuvvetli şekilde LH yükselmesi önlenabilir) ya da hastanın cevabına göre düzenlenir (esnek protokol-önde giden folikül 13-14 mm olduğunda tedaviye başlanır- bu protokol ovaryen stimülasyonu kolaylaştırır) (202, 203).Tedavi kişiselleştirildiğinde, kullanılan total gonadotropin dozu daha az olup, sonuçlar daha başarılı olmaktadır.

Multiple-doz antagonist uygulamasına diğer bir alternatif ise tek ve yüksek doz cetrorelix uygulamasıdır (3 mg). Bu, LH pikini 96 saat süresince engeller. Stimülasyonun 6-7. gününde verildiğinde HCG uygulama günü kurtarılmış olur (%75-90 hastada). Geriye kalan hastalarda, günlük antagonist (0.25 mg/gün) uygulanması gerekir. hCG uygulandığı gün tedavi sona erdirilir (204-206). Tek doz uygulaması da önde giden folikül 13-14 mm'e varınca yapılır.

3. MATERİYAL VE METOD

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Üreme Tıbbı ve İnfertilite Ünitesi Tüp Bebek Merkezi'nde gerçekleştirildi. Akdeniz Üniversitesi Etik Kurulu'ndan onay alındı. Çalışmamıza Ocak 2006 ile Haziran 2012 tarihleri arasında tüp bebek ünitesinde ICSI-ET programına alınan tüm hastalar retrospektif olarak tarandı, kötü over yanıtı hastalarda; KOH programında esnek çoklu doz GnRH antagonist protokolü ve esnek çoklu doz GnRH antagonist ile kombine edilmiş mikrod doz flare-up GnRH agonist protokolü uygulanmış hastalar seçildi.

3.1. Kötü Over Yanıtlı Olacağı Düşünülen Hastaların Seçiminde Kullanılan Kriterler

- Primer ya da sekonder infertilite
- Düzenli menstruel siklusa sahip hastalar (25-32 gün)
- Menstruasyonun 3. günü yapılan transvajinal USG ile bir overdeki antral folikül sayısı 8 ve altı olan hastalar (grade I over) veya
- Bazal FSH değeri 9 ve üstü olan hastalar veya
- Daha önce en az bir tane iptal edilmiş IVF siklusu bulunan hastalar, daha önceki stimülasyon protokolü ile 3 adetten fazla > 16 mm folikül elde edilemeyen hastalar, daha önceki denemede hCG günü östradiol seviyesi < 500 pmol/L olan hastalar POR olarak kabul edildi.

3.2. Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri

- 40 yaş üstü hastalar
- Testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE) ile sperm elde edilmiş ya da negatif olan olgular şeklinde kabul edildi.

3.3. Siklus İptali İçin Kriterler

- Prematür LH piki: KOH sırasında LH >12 mIU/ml olması,
- E₂ seviyesinde düşüş: iki kontrol günü arasında %50 den fazla olması,
- 6 gün stimülasyon uygulanmasına rağmen cevap alınamayan hastalar,

- Oosit toplanamaması veya M2 oosit elde edilememesi veya embriyo gelişmemesi durumu olarak kabul edildi.

Esnek çoklu doz GnRH antagonist ile kombine edilmiş mikrod doz flare-up GnRH agonist protokolü (grup1) uygulanan 41, esnek çoklu doz GnRH antagonist protokolü (grup 2) uygulanan 85 hasta olmak üzere toplam 126 kötü over yanıtı hasta seçildi. Bu hastalara ait olan genel karakteristik özellikleri, KOH protokolüne cevapları ve embriyolojik ve klinik cevapları her hasta için kaydedildi.

Tablo 3.1. Her iki grup için kaydedilen değişkenler.

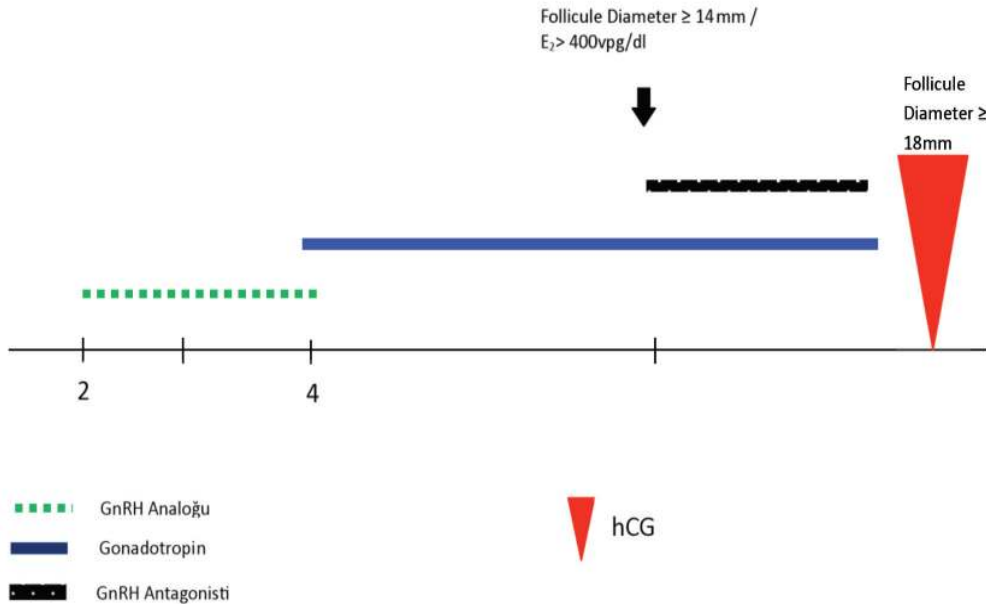
Yaş
İnfertilite süresi (yıl)
3. gün FSH düzeyi
3. gün E2 düzeyi
3. gün her iki overdeki antral folikül sayısı
Önceki siklus sayısı
Önceki cancel olan siklus sayısı
Stimulasyon süresi
Cancel durumu
Toplam gonadotropin dozu
GnRH antagonist başlama zamanı
hCG günü E2düzeyi
hCG günü elde edilen >16mm den büyük folikül sayısı
Toplanan oosit sayısı
Oosit maturasyon düzeyi (M1, M2, P1 ve dejenere)
Elde edilen embriyo sayısı
Embriyoların grade durumları (G1,G2,G3,G4)
Transfer edilen embriyo sayısı
Klinik gebelik durumu
Canlı doğum ile sonuçlanan gebelikler

3.4. Tedavi Protokollerinin Uygulanışı

3.4.1. Esnek çoklu doz GnRH antagonist ile kombine edilmiş mikrod doz flare-up GnRH agonist protokolü (grup-1)

Tüm hastalarda erken foliküler fazda (adetin 2-4.günleri) serum estradiol (E2) ve LH düzeylerine bakıldı (sabah 08.30–09.00) ve aynı gün transvajinal

ultrasonografi (Logiq200pro, Korea, General Electric) yapıldı (sabah 09.00–10.00). Arzu edilen yumurtalık baskılanması için basal TV-USG sonrası 10 mm’den büyük kist saptanmaması halinde GnRH agonisti olarak leuprolid asetat (lucrin flakon 1 mg, Abbott, Fransa) başlandı. Lucrin özel olarak tüp bebek ünitesinde sulandırıldı (1 cc lucrin’e karşılık 10 cc SF). Sabah-akşam 8Ü (2x40 mikrogram) s.c uygulandı. İki gün sonra yüksek doz (300-600 IU/ ort. 450 IU) gonadotropin ile stimulusyona başlandı. Over yanıtına göre uygulama, doz ve takip bireyselleştirildi. E2 ile LH takibi daima birlikte yapıldı. Stimulusyonda r-FSH [(Puregon; Organon, Hollanda) ya da (Gonal-F; Serono, İtalya)] ve/veya u-FSH (Menogon, Ferring, İsviçre) kullanıldı. Gonadotropin başlanması ile birlikte lucrin dozu yarıya düşölerek (akşam 40 mcg) GnRH antagonist başlama gününe kadar devam edildi. Takiplerde dominant foliköl 14 mm ve üzeri saptandığında ya da dominant foliköl 12 mm ve üzeri iken E2 düzeyi 400 ve üzeri olduğunda, prematür LH pikini önlemek amacıyla GnRH antagonist Cetrotelx flakon (Cetrotide flakon 0.25 mg, Serono, Almanya) 1x1 s.c veya Ganirelilx flakon (Orgalutran flakon 0.25 mg, Organon, Hollanda) 1x1 s.c. başlandı. GnRH antagonist başlanması ile birlikte GnRH agonist stoplandı. GnRH antagonistine hCG inleksiyon gününe kadar devam edildi.



Şekil 3.1. Esnek çoklu doz GnRH antagonist ile kombine edilmiş mikrodaz flare-up GnRH agonist protokolü uygulanişının şematizasyonu (207)

3.4.2. Esnek çoklu doz GnRH antagonist protokolü (grup-2)

Hastalara diğer protokolde olduğu gibi erken foliküler fazda (adetin 2-4. günleri) serum estradiol (E2) ve LH düzeylerine bakıldı (sabah 08.30–09.00) ve aynı gün transvajinal ultrasonografi yapıldı (sabah 09.00–10.00). Aynı gün yüksek doz (300-600 IU/ort.450 IU) gonadotropin başlandı. Dominant folikül 12 mm ve üzerinde saptandığında, prematür LH pikini önlemek amacıyla GnRH antagonisti Cetrorelix flakon (Cetrotide flakon 0.25 mg, Serono, Almanya) 1x1 s.c veya Ganirelix flakon (Orgalutran flakon 0.25 mg, Organon, Hollanda) 1x1 s.c. başlandı.

Her iki protokolde de oosit matürasyonu için hCG uygulama kriteri aynıydı. Öncü folikül 18 mm olduğunda veya foliküllerden iki tanesi 17 mm olduğunda koriogonadotropin alfa (ovitrelle 250 mcg s.c, serono, Almanya) veya üriner hCG 10.000 IU (pregnyl 5000 IU liyofilize ampul s.c, MSD, ABD) ile ovulasyon tetiklemesi yapıldı.

Oosit toplama işlemi hCG uygulamasından 35-37 saat sonra gerçekleştirildi. Oosit toplama işlemi sırasında tüm foliküller aspire edildi.

ICSI standart prosedürü uygulanarak oosit toplanmasından 2 veya 3 gün sonra skorlanan embriyolardan tercihen iyi kalitede olanlarından 1-2 adet embriyo (hastanın yaşı ve önceki IVF başarısızlıkları da göz önünde bulundurularak) uterin kaviteye transfer edildi (Wallace marka 23 mm, soft uçlu kateter; İngiltere).

Tüm hastalara luteal destek; oosit toplandığı günün akşamı intravajinal progesteron 2x90 mg (Crinone jel %8, Serono, İngiltere), metilprednizolon 16 mg/gün p.o. (Prednol tablet, Mustafa Nevzat, Türkiye) ve transdermal estradiol sistemi haftalık kullanım (Climara patch 12,5 cm² /3.9 mg/1x4 flaster, Schering, Almanya) ile sağlandı. Enfeksiyon profilaksisi için doksisisiklin 2x1 p.o (Tetradox 100 mg 14 kapsül, Actavis, İsviçre) başlandı. Embriyo transferi sonrasında prednol kesilerek hidroksiprogesteron kaproat 500 mg I.M 3 güne 1 (proluton depot 500 mg/ml ampul, Schering, Almanya) şeklinde gebelik testi gününe kadar tedaviye eklendi. Gebelik olduğu takdirde vajinal progesteron desteğine 12. gestasyonel haftaya kadar devam edildi.

3.5. İstatistiksel Analiz

Analizler Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı tarafından SPSS 18.0 paket programı ile yapılmıştır. Parametrelerin normal dağılım yapıp yapmadığı Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri kullanılarak belirlendi. Tanımlayıcı istatistikler; frekans, yüzde, medyan, minimum ve maksimum değerleri ile sunulmuştur. İstatistiksel analizlerde ölçüm verileri için Mann-Whitney U testi, kategorik veriler için Fisher'ın kesin testi ve Pearson Ki-kare testi kullanılmıştır. 0,05'ten küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışma gruplarındaki hastaların temel karakteristik özellikleri, KOH sonuçları ve laboratuvar sonuçları sırası ile Tablo 4.1, 4.2 ve 4.3'te verilmiştir.

Bazal karakteristik özelliklerin benzer olduğu gözlemlendi. Değişkenler içerisinde 3.gün FSH düzeyi belirgin olarak grup 1'de daha yüksek saptandı [14,4 (7-22) > 11 (3,4-29)]. Her iki grupta yaş, infertilite süresi, 3.gün E2 düzeyi, 3.gün antral folikül sayısı, önceki siklus sayısı ve önceki cancel olan siklus sayısı değişkenleri arasında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Her iki grubun karakteristik özelliklerinin karşılaştırılması.

	Grup 1 *(n=41)	Grup 2**(n=85)	P değeri
Yaş	37 (26-40)	36 (26-40)	0,842
İnfertilite süresi	5,5 (2-20)	9 (0,5-22)	0,085
3.gün FSH düzeyi	14,4 (7-22)	11 (3,4-29)	0,001
3.gün E2 düzeyi	39,5 (6-126)	36 (14-148)	0,704
3.gün antral folikül sayısı	2 (0-8)	2 (0-8)	0,922
Önceki siklus sayısı	0 (0-6)	0 (0-4)	0,413
Önceki cancel olan siklus sayısı	0 (0-3)	0 (0-3)	0,069

*esnek çoklu doz GnRH antagonist ile kombine edilmiş mikrodoz flare-up GnRH agonist protokolü

**esnek çoklu doz GnRH antagonist protokolü

Her iki grubun KOH sonuçları karşılaştırıldığında; grup 1'de anlamlı olarak uygulanan tedavi süresinin daha uzun ve kullanılan FSH dozunun daha yüksek olduğu saptandı [12 (7-30) > 11 (7-16) ve 4350 (750-12600) > 3375 (0-8550)]. Antagonist başlama zamanının grup 1 de daha erken olduğu görüldü [7 (4-11) < 9 (5-13)]. Her iki grupta kullanılan toplam hMG dozu, hCG günü ölçülen E2 düzeyi ve aynı gün TV-USG'de saptanan antral folikül sayıları arasındaki fark anlamlı değildi (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Her iki grubun KOH sonuçlarının karşılaştırılması.

	Grup 1 (n=41)	Grup 2 (n=85)	P değeri
Tedavi süresi	12 (7-30)	11 (7-16)	0,009
Toplam FSH dozu	4350 (750-12600)	3375 (0-8550)	0,019
Toplam hMG dozu	487,5 (0-4500)	450 (0-4200)	0,744
Antagonist başlama zamanı	7 (4-11)	9 (5-13)	0,000
hCG günü E2 düzeyi	1012 (224-10840)	1206 (219-9570)	0,097
hCG günü matür folikül sayısı	3 (1-7)	3 (1-12)	0,465

Her iki grup arasında yapılan laboratuvar sonuçlarının karşılaştırılmasında; toplanan oosit sayısı ve kalitesi, elde edilen embriyo sayısı ve kalitesi, transfer edilen embriyo sayısı arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 4.3). G4 embriyo grup 1’de saptanmadığı için hesaplamalarda ihmal edilmiştir.

Tablo 4.3. Her iki grubun laboratuvar sonuçları.

	Grup 1 (n=41)	Grup 2 (n=85)	P değeri
Toplanan oosit sayısı	1,5 (0-8)	2 (0-8)	0,056
M1 oosit	0 (0-2)	0 (0-4)	0,161
M2 oosit	1 (0-6)	1 (0-6)	0,134
P1 oosit	0 (0-2)	0 (0-3)	0,868
Dejenere oosit	0 (0-1)	0 (0-1)	0,886
Embriyo sayısı	0,5 (0-3)	1 (0-5)	0,302
G1	0 (0-2)	0 (0-4)	0,496
G2	0 (0-3)	0 (0-3)	0,520
G3	0 (0-1)	0 (0-2)	0,082
G4	■	0 (0-1)	0,160
Transfer edilen embriyo sayısı	0,5 (0-2)	1 (0-2)	0,642

■ ‘grup 1 için ihmal edilmiştir’

Her iki grubun cancel (siklus iptali) oranlarına bakıldığında; grup 1’de 12 siklusla %29,3 oranında cancel, grup 2’de ise 33 siklusla %35,7 oranında cancel saptanmış (Tablo 4.4). Her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p: 0,294). Grup 1’de cancel olan 12 siklusun 3’ünde yüksek doz

gonadotropin indüksiyonuna rağmen foliküler gelişim sınırlı olup ailenin de isteği ile IUI yapılmıştır.

Tablo 4.4. Her iki grubun cancel oranları.

	Cancel		Total
	0	1	
Grup 1	29	12	41
	70,7%	29,3%	100,0%
Grup 2	52	33	85
	61,2%	38,8%	100,0%
Total	81	45	126
	64,3%	35,7%	100,0%

0 siklus iptali yok

1 siklus iptali var

Her iki grubun gebelik oranlarına bakıldığında; grup 1 için 2 hastayla %4,9, grup 2 için 12 hastayla %14,1 saptanmış olup, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p: 0,122) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Her iki grubun gebelik oranlarının karşılaştırılması.

	Gebelik		Total
	0	1	
Grup 1	39	2	41
	95,1%	4,9%	100,0%
Grup 2	73	12	85
	85,9%	14,1%	100,0%
Total	112	14	126
	88,9%	11,1%	100,0%

0 gebelik yok

1 gebelik var

Grup 1 için canlı doğum ile sonuçlanan 1 gebelik mevcut olup yaşayan oranı %2,4'tür. Grup 2'de ise biri ikiz olmak üzere 5 canlı doğum ile sonuçlanan gebelik söz konusudur (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Her iki grup için canlı doğum ile sonuçlanan gebelik oranı.

	Yaşayan			Total
	0	1	2	
Grup 1	40	1	0	41
	97,6%	2,4%	,0%	100,0%
Grup 2	80	4	1	85
	94,1%	4,7%	1,2%	100,0%
Total	120	5	1	126
	95,2%	4,0%	,8%	100,0%

0 yaşayan yok

1 tek canlı doğum

2 ikiz canlı doğum

Grup 1'deki diğer gebelik kimyasal gebelik ile sonuçlanmıştır. Grup 2'de ise 4 gebelik abortus, 1 gebelik anembriyonik, 2 gebelik ise kimyasal gebelik ile sonuçlanmıştır. Canlı doğumların grup 1'deki de dahil olmak üzere 3'ü miad sezeryan, diğer 3'ü ise preterm eylem sonrası sezeryan ile sonlandırılmıştır. Tüm canlı doğumların gebelik haftası 30 haftanın üzerindedir.

5. TARTIŞMA

Stimulasyon rejimlerinin bireyselleştirilmesi, over rezervinin saptanıp over yanıtının önceden belirlenebilmesi, kontrollü ovaryen hiperstimulasyon (KOH) için önemli kriterlerdendir. KOH uygulanan sikluslarda kötü over yanıtı prevalansı %9-24 oranındadır (208). Uzun bir dönem hangi hastanın ovulasyon indüksiyon rejimine kötü yanıt vereceğini belirleyen ideal bir test yoktu. IVF – ET sikluslarında, ovaryen zayıf cevaba bağlı olarak siklus iptal oranları %12 - %30 arasındadır. Ovaryen cevabın yetersizliği, tepe E₂ seviyesinin düşüklüğü (< 600 pg/ml), az sayıda oosit elde edilmesi (<4 matur oosit) IVF başarısını olumsuz etkilemektedir. Erken foliküler fazda (3. gün) FSH seviyesinin yüksekliği ise siklus iptali ve IVF başarısı açısından prediktif kabul edilebilir (209,210).

Tablo 5.1’de referansları ile kötü over yanıt tanımı için kriterler verilmiştir.

2010’da zayıf cevaplı hastaların tanımı için ‘Bologna Kriterleri’ son 10 yılın çalışmaları değerlendirilerek oluşturuldu (Tablo 5.2). Zayıf ovaryen yanıt (POR: poor ovarian response) tanımı için;

- 1) Artmış yaş (≥ 40 yaş) ya da POR için başka risk faktör mevcudiyeti (pelvik infeksiyon, ovaryen endometrioma, ovaryen cerrahi, kemoterapi, kısa menstruel siklus)
- 2) Önceki POR (geleneksel stimulasyon protokolü ile ≤ 3 oosit)
- 3) Anormal ovaryen rezerv test (antral folikül sayısı < 5-7 ya da AMH < 0.5-1.1 ng/ml).

Zayıf yanıtı olgu tanımı için kriterlerinden en az 2 tanesinin olması konusunda konsensus sağlanmıştır (211).

Tablo 5.1. Kötü over yanıt tanımı için mevcut kriterler.

hCG günü 3-5'ten az dominant folikülün bulunması (212, 213)
Toplanan oosit sayısının 3-5'ten az olması (180)
hCG günü serum estradiol (E2) seviyesinin 300-500 pg/ml'nin altında olması (214)
Stimulasyonun 5. gününde serum E2 seviyesinin 100 pg/ml'nin altında olması (215)
İleri yaş (>40 yaş) (216)
3.gün serum FSH değerlerinin 7 ile 15 mIU/ml arasında olması (216)
Ovaryan stimulasyon için yüksek dozlarda ve uzun süreli gonadotropin kullanımı (3'ten fazla dominant folikül için >450 IU gonadotropin) (217)
Önceki IVF siklusunda veya ovulasyon indüksiyonunda yetersiz foliküler yanıt

Çalışmamızda hastaların over yanıtı değerlendirilirken önceki başarısız siklularda hCG günü dominant folikül sayısının 4 ten az olması ve E2 düzeyinin 500 pg/ml'nin altında olması, önceki siklus iptali ve bazal FSH değerinin yüksekliği ana kriterler olarak alınmıştır.

Kötü over yanıtı etyolojisinde ana faktör azalmış over rezervidir (218). ileri yaş, geçirilmiş over cerrahi, pelvik adezyonlar ve yüksek vücut kitle indeksi diğer faktörlerdir (219).

Azalmış oosit kalitesi ve 'recruitment' için az sayıdaki folikül nedeni ile 40 yaş üstü kadınların over yanıtının kötü olması beklenmektedir (220,221). Yaşlanma ile birlikte; DNA fragmentasyonu, oosit kromozomal dejenerasyon, mitokondriyal DNA delesyonları, aneuploid embriyolar ve oksidatif stres artmaktadır (222). KOH sikluslarında <35 yaş olgularda implantasyon oranları benzer iken, >35 yaş olgularda yılda %2.77 kadar lineer azalma gösterilmiştir (222); biz de bu nedenle çalışmamıza 40 yaş üstü hastaları dahil etmedik.

Ancak ileri yaşa rağmen stimulasyona iyi yanıt veren hastaların bulunması nedeni ile over rezervinin yaş yerine diğer belirteçlerle belirlenmesi daha uygundur (223). Menstruasyonun 2-3. gününde; yüksek FSH (>12-15 mIU/ml) (92) , yüksek estradiol (>50-75 pg/ml) (98) ve düşük serum inhibin-B (<45pg/ml) (108) serum seviyeleri, azalmış over rezervini göstermektedir. Overlerin sonografik görüntülenmesi over rezervi hakkında önemli bilgiler vermektedir. Over rezervinin belirlenmesinde; overlerdeki bazal antral folikül (2-8 mm çapında foliküller 4'den az ise ileri derecede kötü over yanıtı, 4-10 arasında ise azalmış over yanıtı) sayısı, ovaryen hacim (<3 cm³ azalmış over yanıtı), stromal alan ve ovaryen stromal kan akımı değerlendirilmektedir. Hastanın kronolojik yaşı ve bazal endokrin testlerine kıyasla overin bazal antral folikül sayısı over rezervini daha iyi yansıtmaktadır (84). Biz de çalışmamızda hastaları seçerken; her iki overde toplam 8 ve altı antral folikül ve/veya 2-4. günlerde ölçülen FSH değerinin 9 ve üstünde olmasına dikkat ettik.

Tablo 5.2. POR (zayıf ovaryen yanıt) tanımlamada kullanılan kriterler (211).

REFERANS	KRİTER
Garcia-Velasco ve ark.(2000)	≥ 18 mm, ≤ 3 folikül nedeniyle en az önceki bir siklus iptali
Ferraretti ve ark.(2000)	En az önceki 2 siklus iptali ya da ≤ 3 oosit
Akman ve ark. (2001)	Mevcut nedenlerden birinden dolayı 2 başarısız IVF olması: 3.gün FSH > 15 mIU/ml hCG günü $E_2 < 500$ pg/ml < 4 matür oosit
Weissman ve ark.(2003)	Bir önceki siklusta mevcut karakteristiklerden en az birinin olması: 16mm ya da daha büyük ≤ 3 folikül hCG günü $E_2 < 500$ pg/ml
Marci ve ark.(2003)	Bir önceki standart tedavi ile POR olması
Goswami ve ark.(2004)	Geleneksel long-agonist protokol ile 1 ile 3 arası başarısız IVF olması
Kolibianakis ve ark.(2004)	3.gün FSH düzeyi > 12 mIU/ml ve ≤ 5 oosit toplanan bir ya da daha fazla başarısız IVF siklusu
Morgia ve ark.(2004)	Bir önceki IVF siklusunda ≤ 3 oosit
Detti ve ark.(2005)	Kriterlerden bir ya da daha fazlasının olması: > 38 yaş Önceki siklus iptali Önceki POR(≤ 3 oosit yada $E_2 < 500$ pg/ml) 3.gün FSH düzeyi > 13 mIU/ml
Cheung ve ark.(2005)	Bir önceki long-agonist protokolü ile ≤ 3 oosit toplanan POR ya da tekrarlayan 3.gün FSH düzeyi > 10 IU/l
Garcia-Velasco ve ark.(2005)	> 16 mm, ≤ 4 folikül ve/veya $E_2 < 500$ pg/ml olduğu en az bir önceki siklus iptali
Massin ve ark.(2006)	Kriterlerden ikisinin olması: Önceki POR(hCG günü $E_2 < 1200$ pg/ml ve ≤ 5 oosit), 3.gün FSH düzeyi > 12 mIU/ml, 3.gün inhibin B < 45 pg/ml
Aletebi ve ark.(2007)	Önceki siklus ya da siklularda POR: 15 günden fazla 300IU/gün gonadotropin uygulaması sonrası ≤ 4 oosit
Schoolcraft ve ark.(2008)	Kriterlerden en az bir tanesi: 3.gün FSH düzeyi > 10 mIU/ml > 41 yaş < 6 antral folikül Bir önceki siklus iptali Bir önceki POR($E_2 < 500$ pg/ml ve/veya < 6 oosit)
Fratterelli ve ark.(2008a)	Bir ya da daha fazla karakteristiğın bulunması: 3.gün FSH düzeyi > 12 mIU/ml ≤ 3 antral folikül POR hikayesi (≤ 5 oosit,kötü kalitede oosit ve/veya embriyolar)
Fratterelli ve ark.(2008b)	Önceki 2 POR (kriter tanımlanmamış)
Barrenetxea ve ark.(2008)	> 40 yaş ve 3.gün FSH düzeyi > 10 mIU/ml
Tazegül ve ark.(2008)	Önceki POR: $E_2 < 500$ pg/ml ya da ≤ 3 matür folikül ya da < 3 oosit
Fábregues ve ark.(2009)	İlk IVF siklusunda POR nedeniyle siklus iptali(kriter tanımlanmamış)
Kahraman ve ark.(2009)	En az bir önceki siklusta bir ya da daha fazla mevcut kriterlerin gözlenmesi:Siklus iptali, ≤ 3 oosit, $E_2 < 500$ pg/ml
Yaralı ve ark.(2009)	Anormal over rezerv testi(FSH düzeyi > 10 mIU/ml ya da < 6 antral folikül) ya da önceki POR (siklus iptali, $E_2 < 500$ pg/ml ya da ≤ 3 oosit)
Weitzman ve ark.(2009)	Bir ya da daha fazla kriter: > 40 yaş,3.gün FSH düzeyi > 10 mIU/ml, Önceki siklus iptali:önceki siklusta < 4 oosit toplanması
Demiröl ve Güran(2009)	Önceki en az 2 POR ($E_2 < 500$ pg/ml ya da ≤ 3 oosit) ve FSH düzeyi > 15 mIU/ml
Tehranejad ve ark.(2009)	< 3 matur folikül nedeniyle en az bir önceki siklus iptali

KOH sikluslarında standart doz ovaryen stimulasýona (225-300 IU/gün) yetersiz yanıt alındığında, sıklıkla ilk başvuru alan alternatif tedavi şekli gonadotropin dozunun arttırılmasıdır. Ancak gonadotropin dozunun arttırılmasının (>450 IU/gün) ovaryen yanıt ve reproduktif sonuçlara etkisi kısıtlıdır. Land ve arkadaşları tarafından yapılan retrospektif bir çalışmada, 225 IU/gün hMG ile kötü over yanıt geliştiren 126 hastada, bir sonraki IVF siklusunda gonadotropin dozunun arttırılmasının (450 IU/gün hMG) reproduktif sonuçlara etkisi araştırılmıştır (177). Yüksek doz gonadotropin kullanan grupta foliküler gelişim ve toplanan oosit sayısı anlamlı olarak yüksek bulunurken, embriyo sayısı benzer, başlanan siklus başına gebelik oranı ise daha düşük olarak bulunmuştur. Bizim çalışma grubumuzda gonadotropin dozu 300-600 IU/gün arasında değişmekle birlikte yüksek oranda 450 IU/gün şeklinde başlanmıştır.

Kötü yanıt veren hastanın uygun stimulasyonu hala belirsizlik içindedir. Farklı tedavi seçenekleri denenmektedir. Bu seçenekler; GnRHa stop protokol, mikrod doz GnRHa flare-up protokol ya da GnRH antagonist protokol ve ayrıca growth hormon ve letrozol eklenen adjuvan tedavilerden oluşmaktadır.

Tablo 5.3. Zayıf over yanıtı hastalarda tedavi seçenekleri (224).

Gonadotropin dozunun arttırılması
Rekombinant FSH kullanımı
Büyüme hormonu (GH) ilavesi
Letrozole eklenmesi
GnRH agonist stop protokol kullanımı
Assisted hatching
Nitrik oksid (L-Arjinin) ilavesi
Kortikosteroid kullanımı
KOK ile ön tedavi
Preimplantasyon genetik tanı
İn-vitro maturasyon
Sitoplazma/nükleer transfer

Raga ve arkadaşlarının yaptığı prospektif randomize bir çalışmada, 30 kötü over yanıtı hastada rFSH ile uFSH kullanımı karşılaştırılmış; rFSH kullanan grupta, uFSH kullanan gruba göre gonadotropin dozu anlamlı olarak daha düşük, stimulasyon süresi ise daha kısa olarak bulunmuştur. Buna ek olarak daha fazla oosit ve embriyo elde

edilmiş ve gebelik ve implantasyon oranları daha yüksek bulunmuştur (212). Eskandar ve arkadaşlarının yaptığı prospektif çalışmada ise, IVF sikluslarında kötü over yanıtı hastalarda rFSH ile hMG kullanımı karşılaştırılmış; siklus karakterleri, folliküler gelişim, toplanan oosit sayısı ve gebelik oranları her iki grupta benzer bulunmuştur (225).

Luteal fazda antagonist uygulamasıyla ilgili de birtakım çalışmalar öne sürülmüştür. Antagonist uygulamasındaki amaç bir yandan prematür LH çıkışını engellerken diğer yandan da GnRH analoglarının ovaryen reseptörler üzerindeki süprese edici etkisini mümkün olduğunca indirmek böylece maksimum ovaryen oosit kohortunu sağlayabilmektir (226). GnRH antagonistleri LH ve FSH da hızlı bir düşüş sağlayarak prematür LH yükselişini engeller. Analoglar gibi desensitizasyon periodu gerektirmedikinden geç folikuler fazda da kullanılabilirler. Bilindiği üzere normal bir luteal faz ve progesteron sekresyonu için LH sekresyonunun olması kaçınılmazdır. Agonist uygulaması sonrası hipofizin fazlaca suprese olduğu vakalarda luteal faz defektinin geliştiği bilinen bir gerçektir. Antagonist uygulamasıyla sağlanan LH inhibisyonu daha geçici bir inhibisyonudur ve luteal faz daha az etkilenir. Albano ve ark.'nın 1999'da hMG kullanılan sikluslarda antagonist eklenmesi yada eklenmemesi durumunda izlenen erken ve mid-luteal LH konsantrasyonlarını incelemiştir (227). Antagonist eklenen grupta LH'nin baskılanabildiği gösterilmiştir (erken LH peakini önlemek açısından önemli). Lin ve ark.'nın 1999'da agonist ve antagonistleri kıyasladıkları çalışmada, antagonist grubundaki IVF hastalarının in vitro ortamdaki hücre kültürlerinde granülosa hücrelerinin agonistlerde olduğundan daha az baskılandığı ve dolayısıyla progesteron sekresyonunu sağlamak açısından daha üstün olduğunu bildirmişlerdir (228).

Ragni ve arkadaşları da 2001'de IUI hastaları ile yaptıkları bir çalışmayla bu sonuçları desteklemiş ve GnRH antogonisti kullanımını, luteal faz devamlılığını ve progesteron sekresyonunu sağlamak açısından güvenli bulmuşlardır (229). Craft ve arkadaşları daha önce GnRH agonistleri ile indüklenip başarı sağlanamamış hastalarda klomifen sitrat ve antagonist kombinasyonunu kullanmışlar ve anlamlı olmamasına rağmen siklus iptallerinin azaldığını, daha az FSH dozuyla daha iyi oositler elde edilebildiğini ve siklus başına gebelik oranlarının da arttığını bildirmişlerdir (230).

Akman ve ark'nın 2000 yılında yaptıkları prospektif randomize çalışmada ise zayıf yanıtli hastalarda antagonist ve yuksek doz gonadotropin kullanımının sadece gonadotropin kullanımıyla kıyaslandığında iptal oranlarının azaldığına (%20 / %25) ve gebelik ve implantasyon oranlarının arttığına dikkat çekilmiştir (%20 / %13.3, %6.25 / %3.44). Ancak bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken, toplanan oosit sayısında ise bir artış izlenmemiştir (231). Ancak Akman ve ark'nın 2001 yılında yaptıkları diğerk bir prospektif randomize çalışmada zayıf yanıtlilarda multi-doz GnRH antagonist protokolü ile flare-up GnRH agonist protokolü karşılaştırılmış. Her iki grupta 24 siklus takip edilmiş ve antagonist grubunda elde edilen oosit sayısının daha az olduğu bildirilmiştir (4.5/5.5). İptal ve gebelik oranlarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (193).

Fasouliotis ve ark'nın 2003 yılında yayınladıkları çalışmada ise minidoz agonist protokolü ile gebelik sağlanamayan vakalara multiple doz antagonist protokolü uygulanmış (n=53) ve sonuçta antagonistlerle klinik gebelik oranının arttığı, iptal oranlarında anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiştir. Anlamlı kabul edilmese de elde edilen matur oosit sayısının ve fertilizasyon oranlarının antagonist protokolü ile arttığı bildirilmiştir (232).

Lainas ve ark. yaptıkları randomize kontrollü çalışmada; esnek çoklu doz GnRH antagonist ile flare-up GnRH agonist protokollerini karşılaştırmış, antagonist grupta istatistiksel olarak anlamlı yüksek gebelik oranına karşılık hCG günü düşük E₂ düzeyi saptamışlar (233).

Sonuç olarak; elimizdeki veriler, çalışmaların vaka sayısının azlığı ve randomizasyon yapılmamasından dolayı kural oluşturacak nitelikte olmasa da GnRH antagonist kullanımı, desensitizasyon periodunun olmaması, daha düşük dozlarda gonadotropin uygulanabilmesine bağlı daha az OHSS oluşması, stimülasyon periyodunun daha kısa olabilmesi dolayısıyla maliyetin azalması, agonistlere bağlı fiziksel yan etkilerin oluşmaması ve istatistiksel olarak agonistler ile benzer gebelik oranları bildirilmesine bağlı olarak, zayıf yanıtli olgular için iyi bir alternatif olarak kabul edilebileceğini göstermektedir (191).

Diğerk taraftan zayıf yanıtli hastalarda GnRH agonistlerinin uzun süreli kullanımı, ovaryen cevabın iyice baskılanmasına dolayısıyla iptal oranlarının artmasına neden olmaktadır. Elde edilen matür oosit sayısında anlamlı bir fark

olmamasına rağmen takip ve tedavi süresi uzamakta, dolayısıyla maliyet de artmaktadır. Uzun protokolle olduğu üzere luteal fazda GnRH analogu kullanılması senkronize ovaryen stimülasyon için gerekli ovaryen supresyonu sağlarken, diğer taraftan zaten over rezervi az olan zayıf yanıtı olgularda overin tekrar stimüle olmasını engelleyebilmektedir. Surrey ve ark. 1998’de yaptıkları prospektif non-randomize bir çalışmayla, daha önce zayıf yanıtı olarak tanımlanan ve long protokol ile indüklenip IVF başarısı sağlanamayan 34 hastayı, bu kez mikrod doz flare-up GnRH agonist protokolü (leuprolide 80 microgram/gün s.c- D3 ten itibaren) ile takip etmişler ve klinik gebelik oranlarının arttığını bildirmişlerdir (180). Yine Schoolcraft’ın yaptığı bir çalışmada 32 hasta OKS mikrod doz protokolü ile takip edilmişlerdir. Bu hastalara OKS bitiminin 3.günü 40 microgram leuprolide asetat başlanmış, 5. gün ise gonadotropinlerle indüksiyona geçilmiştir. Bu hastalarda iptal oranları düşük (%12,5), elde edilen oosit sayısı yüksek (10,9/ hasta), biraz optimistik bir değer olmakla beraber %50 oranında da klinik gebelik elde edilmiştir (215). Scott ve Navot ise 1994 de yaptıkları çalışmada daha da düşük dozlarda (20 mcg) leuprolid uygulamasıyla da yüksek E₂ seviyeleri ve daha fazla sayıda oosit elde edebilmişlerdir (189). Ancak diğer bazı çalışmalar bu çalışmaların sonuçlarını desteklememiştir. Leondires 1999’da yaptığı çalışmada mikrod doz flare-up rejimi ile daha yüksek iptal oranları, daha düşük klinik gebelik oranları, siklus başına daha düşük oosit sayısı saptamıştır (234).

Son yıllarda Faber’in yaptığı bir çalışmada kısa süreli ovaryen supresyon sonrası analog kullanımının kesilmesinin son derece umut verici sonuçlar doğurduğu bildirilmiştir. Bu şekilde uygulamanın en büyük dezavantajı daha yüksek sayıda gonadotropin ampülü tüketilmesidir (48). Faber’in bu çalışmasında 182 zayıf yanıtı hasta ve 224 IVF-ET siklusu takip edilmiştir. Bu hastalara GnRH analogu (0,5 mg leuprolid asetat/gün, s.c) midluteal fazda başlanmış ve menstruasyonun başlamasıyla stoplanmıştır. Bu hastalarda foliküler cevabın iyileştiği (her stimülasyon başına 10 oosit) bildirilmiştir. Sadece 1 hastada prematür LH yükselişi gözlenmiştir. Bu protokolle klinik gebelik oranı %32 olarak, siklus iptal oranları ise %12,5 olarak bildirilmiştir.

Dirnfeld ve ark’nın yaptıkları başka bir prospektif randomize çalışmada ise 63 zayıf yanıtı hasta ve 78 IVF-ET siklusu takip edilmiştir. Bu hastalara da midluteal

dönemde analog başlanmış ve çalışma grubunda (n=40) gonadotropin uygulanmaya başlanmasıyla analog kesilirken, kontrol grubunda (n=38) foliküler faz boyunca uygulanmaya devam edilmiştir. Çalışma grubunda iptal oranları daha yüksek (%22.5 / %5), klinik gebelik oranları ise benzer (%11 / %10.3) bulunmuştur. Çalışma grubunda elde edilen oosit sayısı da kontrol grubuna göre daha yüksek olarak bildirilmiştir (235).

Velasco ve ark'nın yaptıkları prospektif randomize bir çalışmada da analog uygulamasının erken dönemde kesilmesi ile daha fazla sayıda matür oosit elde edilebildiği ve long protokolle benzer gebelik oranlarına ulaşılabildiği bildirilmiştir. Stop protokolde kullanılan gonadotropin ampul sayısı daha az, iptal, gebelik ve implantasyon oranları ise benzer bulunmuştur (236). Ovaryen cevabın artması birkaç mekanizma ile açıklanmıştır. Öncelikle GnRH analogunun kullanılması hipofizer süpresyonu sağlayarak prematür LH yükselişini engeller, böylelikle siklus iptalleri azalır ancak bu süpresyon daha yüksek oranlarda gonadotropin harcanmasına neden olabilmektedir. GnRH analogunun kullanılması diğer yandan sağladığı gonadotropin down regülasyonu ile de ovaryen steroidogenez ve oosit maturasyonunun düzenlenmesini parsiyel olarak inhibe eder. GnRH analoglarının overler üzerinde de direkt olarak inhibitor etki gösterdiği iddia edilmiş. Bu nedenle GnRH analogunun dozunu düşürmek hatta uygulamasını tamamen kesmek ovaryen cevabı arttırmaktadır (145). Bu hipotez over üzerinde de GnRH reseptörleri olmasıyla açıklanmıştır (237). Diğer taraftan Aleem ve Predanic'in 1995'te Doppler analizlerine dayanarak yaptıkları bir çalışmada GnRH analoglarının kan akımını azalttığını ispatlamışlardır. Foliküler gelişimin sağlanabilmesi için ise gonadotropinlerin iyi çalışan bir damar yatağı ile overlere ulaştırılması gerekmektedir (238). Bütün bu verilere dayanarak GnRH analoglarının erken stoplanması ile bir taraftan pituiter süpresyonun sağlanabileceği diğer yandan da azalan perifoliküler kan akımının analog stoplanması sonrasında geri dönebileceği düşünülmektedir. Elde edilen oosit sayısı ve dolayısıyla IVF sonuçları da geri dönen perifoliküler kan akımı ile direkt olarak alakalıdır.

Demirel ve ark. çoklu doz GnRH antagonist protokol ile karşılaştırıldığında mikrod doz flare-up protokolün zayıf yanıtı hastalarda anlamlı yüksek implantasyon oranına sahip olduğunu saptamıştır (239). Detti ve ark. mikrod doz flare protokolü stop ve kısa GnRH agonist protokollerle karşılaştırmışlar, yüksek gebelik ve implantasyon

oranları bildirmişlerdir (240). Malmusi ve ark. zayıf yanıtı hastalarda kısa flare-up GnRH agonist protokol ile esnek çoklu doz GnRH antagonist protokollerin etkinliğini karşılaştırmışlar; flare-up protokolün matür oosit toplanmasında, fertilizasyon oranlarında ve yüksek kalite embriyo transferinde daha etkili olduğunu göstermişlerdir (241). Morgia ve ark. zayıf cevaplı hastalarda mikrod doz flare-up GnRH agonist protokol ile doğal siklus etkinliği araştırılmış; doğal siklusun özellikle genç hastalarda implantasyon oranında KOH kadar etkili olduğunu göstermişlerdir (242). Kahraman ve ark. ise mikrod doz GnRHa flare-up ile çoklu doz GnRH antagonist protokollerinin zayıf yanıtı hastalardaki etkinliğini aynı bulmuştur (243).

Mikrod doz GnRHa flare-up protokol Karimzadeh ve ark. tarafından CC/gonadotropin/antagonist (mild protocol) ile karşılaştırılmış; siklus iptali, fertilizasyon ve klinik gebelik oranları her iki grupta aynı, endometriyal kalınlık, toplanan oosit sayısı, matur oosit ve implantasyon hızı mild protokolde anlamlı olarak yüksek ve gonadotropin dozu ve stimülasyon süresi yine mild protokolde anlamlı olarak düşük bulunmuştur (244). Son dönemde letrozol ile kombine protokoller araştırılmış ve daha yüksek gebelik oranları saptanmış ve alternatif tedavi olarak öne sürülmüştür (245, 246).

Kısa ya da flare-up protokolün kullanılmasındaki amaç GnRH analoglarının endojen gonadotropinleri alevlendirici etkisinden yararlanılarak ekzojen hormonların etkinliğinin artırılmasını sağlamaktır. Agonist protokollerinde amaç senkronize foliküler gelişimi sağlarken, prematür LH çıkışını da engelleyebilmektir. Mikrod doz flare-up protokolü zayıf yanıtı hastalarda tercih edilen ve başarıyla kullanılan bir protokoldür. Bu yaklaşımın avantajı; erken foliküler fazda düşük doz GnRHa ekleyerek başlangıçta endojen gonadotropin salınımını sağlayarak (flare etki) sonraki ekzojen gonadotropin eklenmesine cevabı arttırmaktır (180, 189, 215). Bu flare etki foliküler recruitment'ı arttırırken prematur luteinizasyona da sebep olabilir (184). Bu yaklaşımın dezavantajı ise; erken foliküler maturasyon sırasında serum LH ile birlikte progesteron ve testesteron düzeylerini arttırarak, oosit kalitesini etkileyebilir (247-249).

Çalışmamızda daha önce fazla deneyimlenmemiş multipl çoklu doz GnRH antagonist ile kombine edilmiş mikrod doz GnRHa flare-up protokolü uyguladık. Foliküler 'recruitment' bilindiği üzere geç luteal faz ve erken foliküler fazda

gerçekleşmektedir. Zaten over yanıtı kötü olan bu hastalarda bu dönemde yüksek doz GnRHa vererek aşırı süpresyondan kaçınmış ve düşük doz GnRHa'nu kısa süre kullanarak flare etkiden faydalanmış olmaktadır. Uygun zamanda GnRH antagonisti başlayıp GnRHa'nu keserek de olası erken LH pikinin önüne geçmeye çalışılmaktadır. Çalışmamızda kullanılan her iki grupta da protokol öncesi OKS uygulaması standart olarak yapılmamıştır. Sadece bazal USG'de 12 mm üzeri kist varlığında OKS hastalara başlanmıştır. Duvan ve ark. 2008'de yaptıkları çalışmada; mikrod doz flare-up protokolü uyguladıkları zayıf cevaplı hastalarda tedavi öncesi OKS ekleyerek ve eklemeyen karşılaştırmışlar, her iki grup arasında oosit sayısı, tepe E₂ seviyesi, endometriyal kalınlık, fertilizasyon oranı ve embriyo kalitesi anlamlı fark bildirmemişlerdir (250).

Zayıf cevaplı olgularda, agonist ve antagonist protokollerinin zararlı etkilerini minimize ederek yararlı etkilerini kombinlemek için mikrod doz flare-up ve esnek çoklu doz GnRH antagonist protokol kombinasyonu için sayılı yayın mevcuttur (251-254). İlk kez 2002'de Berger ve ark. tarafından yeni bir protokol 'agonist-antagonist protokol' şeklinde tanımlanmıştır (251). Fakat, sadece abstract olarak sunulmuş olduğundan, kontrol gruplarının stimülasyon karakteristiklerine ulaşamamıştır.

Daha önce ≥ 2 başarısız siklusu olan zayıf yanıtı 97 hastaya; tedavi öncesinde 21 gün OKS uygulanmış takip eden 24.gün kısa süreli (5 gün) mikrod doz GnRHa uygulanmış. 26.gün; rFSH 300-450IU ve hMG 150-300 IU başlanmıştır. Öncü folikül 13-14 mm ulaştığında GnRH antagonisti tedaviye eklenmiş. hCG; 2 öncü folikül 18 mm'ye ulaştığında uygulanmış. Transvajinal oosit toplanması hCG'den 34-36 saat sonra uygulanmış, embriyo transferi ise 3.gün yapılmış, luteal destek günlük vajinal progesteron ile sağlanmıştır (Tablo 5.4).

Tablo 5.4. Agonist-Antagonist protokol (Berger ve ark.) (251).

N	97
Yaş	40.2±3.3
Siklus sayısı	3.4±1.9
Total gonadotropin	6138±1528
Folikül >14mm	4.6±2.5
Tepe E₂ (pg/ml)	871±614
Matur oosit	4.4±2.9
Fertilizasyon (%)	0.6 ±0.3
Embriyo transferi	2.4±1.6
Klinik gebelik oranı (%)	13.4%(13/97)

Berger ve ark. bu kombinasyon ile %13 klinik gebelik hızı sonuçlarına ulaşmıştır. Bu protokol ile mikrodazun endojen FSH'ya flare etkisi ile GnRH antagonist kullanımıyla sağlanan ani LH süpresyonundan birlikte faydalanılmaktadır. Aynı şekilde Orvieto ve ark. daha önceki IVF sikluslarında zayıf yanıtı olarak kabul ettikleri (önceki siklusa ≤ 5 oosit) 21 hastaya çok kısa GnRH agonist flare ile kombine esnek çoklu doz GnRH antagonist protokol uygulamışlardır (253). Hastalara adet ilk 3 gününde 0,1mg/gün triptorelin başlamışlar ve 2 gün sonra yüksek doz gonadotropin ile stimulusyona başlamıştır. Öncü folikül 14 mm olduğunda ve/veya E₂ 400 pg/ml ve üzeri olduğunda GnRH antagonist tedaviye eklenerek hCG gününe kadar devam edilmiştir. Kontrol grubu olarak aynı hastaların önceki siklusları alınmış, hCG günü daha çok folikül, daha çok toplanan oosit ve daha fazla embriyo transferi kaydedilmiştir. Klinik gebelik hızı %14,3 olarak kaydedilmiştir. Yine Orvieto ve ark. 2009'da aynı protokolü 10 hastaya uygulamışlar, bu kez benzer çalışmalarda ikincil amaç olarak kaydedilen embriyo kalitesini incelemiştir. Yüksek kalitede embriyo; ET sonrası 3.gün benzer büyüklükte 7 ya da daha fazla blastomer ve < %20 fragmantasyon olarak tanımlanmıştır. Kullanılan çok kısa GnRH agonist-antagonist protokol sonuçlarında anlamlı olarak daha çok ve kaliteli embriyo saptanmış, bu sonuçlar yüksek gebelik oranı (%50) ile ilişkilendirilmiştir (254). Orvieto ve ark.'nın her iki çalışmasında da kontrol grubunun aynı hastaların önceki başarısız siklusları olması nedeni ile sonuçlar tatminkar değildir.

Berker ve ark. tarafından 41 hastaya ultrashort GnRH agonist-antagonist protokol ve diğer 41 hastaya mikrodaz flare-up protokol uygulanmış, her iki grupta

siklus iptal oranı benzer saptanmıştır. Bizim çalışmamıza benzer olarak agonist-antagonist protokolde stimülasyon süresi ve kullanılan toplam gonadotropin dozu anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Diğer değişkenlerde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamış, gebelik hızı mikrod doz flare-up protokolde daha yüksek olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır (%26,3 > %19,5) (207).

2005'te Erden ve ark. retrospektif çalışmalarında; zayıf yanıtlı hastalarda agonist-antagonist protokol ile mikrod doz flare-up protokolü karşılaştırmışlar: agonist-antagonist protokolde yüksek tepe E₂ değerleri, daha matur ve fertilize oosit, yüksek klinik gebelik oranları bildirmişlerdir (252).

6. SONUÇLAR

Konvansiyonel KOH rejimlerine iyi cevap vermeyen hastalarda ideal yaklaşımın ne olduğu hala tam olarak bilinmemektedir. Bizim yaptığımız bu çalışmada zayıf yanıtı hastalar için ideal bir protokol olan esnek çoklu doz antagonist protokolü ve fazla denenmemiş ‘agonist-antagonist protokolü’ kullanılmıştır. ART sikluslarında FSH indüksiyonuna başlanan günden hCG gününe kadar geçen süre 10-12 gün olmalıdır. Uzun süreli ve yüksek doz gonadotropin uygulamalarında oositlerin sitoplazmik maturasyonu ve morfolojisi bozulur, gelişen embriyonun da mitotik indeksi kötüleşir. Bizim çalışmamızda geç cevap alınan (D8 de <10 mm folikül) ve bu nedenle muhtemelen siklus iptaline gidecek olgularda hem siklus iptalini önlemek hem de ovaryen cevabı arttırmak amacıyla analog stoplanmış, önde giden folikül 12 mm olduğunda ise olası bir prematür LH yükselişini engellemek adına tedaviye GnRH antagonisti eklenmiştir. Her iki grubun iptal oranlarına bakıldığında; agonist-antagonist protokolde 12 siklusla %29,3 oranında iptal, antagonist protokolde ise 33 siklusla %35,7 oranında iptal saptanmıştır. Her iki grubun gebelik oranlarına bakıldığında; agonist-antagonist protokolde 2 hastayla %4,9, antagonist protokol için 12 hastayla %14,1 saptanmış olup, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p: 0,122). Agonist-antagonist protokol için 3.gün FSH düzeylerinde anlamlı yükseklik olduğu tespit edilmiştir. Yine bu protokol için anlamlı olarak artmış tedavi süresi, artmış FSH dozu ve daha kısa antagone başlama zamanı tespit edilmiştir. Diğer tüm değişkenler iki grupta birbirine benzer olarak yorumlanmıştır. Zaten kötü over yanıtı olan ve geç cevap beklenen hastalarda bu sonuçlar beklenen sonuçlardır. Agonist-antagonist protokol uygulanan hasta grubunda anlamlı 3.gün FSH yüksekliğine rağmen daha fazla deneyimlenmiş antagonist grubu ile benzer gebelik oranlarının saptanmış olması ve antagone grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha yüksek oranda iptal saptanması bu yeni protokolün zayıf yanıtı olgularda yüz güldürücü olabileceğinin habercisidir.

Sonuç olarak; bu çalışmada siklus iptaline gitmesi muhtemel hastalarda yeni bir protokol denenmiş ve iyi bir seçenek olan çoklu esnek doz antagonist protokol ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ancak sonuçların anlam kazanabilmesi için daha geniş çaplı ve prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır. Literatürde sayılı çalışma ile tanımlanmış bu kombine tedavi; daha fazla ve standartize edilmiş vakada denenerek geçerliliği kanıtlanabilir.

7. ÖZET

İNTRASİTOPLAZMİK SPERM İNJEKSİYON (ICSI)-EMBRİYO TRANSFERİ (ET) PLANLANAN ZAYIF OVER YANITLI OLGULARDA ESNEK ÇOKLU DOZ GNRH ANTAGONİST İLE KOMBİNE EDİLMİŞ MİKRODOZ FLARE-UP GNRH AGONİST PROTOKOLÜNÜN ESNEK ÇOKLU DOZ GNRH ANTAGONİST PROTOKOLÜ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Amaç: Bu çalışmanın amacı; zayıf cevaplı olarak tanımlanan olgularda sıklıkla uygulanan esnek çoklu doz GnRH antagonist protokolü ile daha yeni bir protokol olan esnek çoklu doz GnRH antagonist ile kombine edilmiş mikrod doz flare-up GNRH agonist protokolünün etkinliğini karşılaştırmaktır.

Kurgu: Retrospektif çalışma.

Çalışmanın yapıldığı yer: Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Üreme Tıbbı ve İnfertilite Ünitesi Tüp Bebek Merkezi'nde gerçekleştirildi.

Materyal ve Metod: Çalışmamıza Ocak 2006 ile Haziran 2012 tarihleri arasında tüp bebek ünitesinde ICSI-ET programına alınan tüm hastalar retrospektif olarak alındı. Etik kuruldan onay alındı. Esnek çoklu doz GnRH antagonist ile kombine edilmiş mikrod doz flare-up GnRH agonist protokolü (grup 1) uygulanan 41, esnek çoklu doz GnRH antagonist protokolü (grup 2) uygulanan 85 hasta olmak üzere toplam 126 kötü over yanıtı hasta seçildi.

Uygulanan toplam FSH ve HMG dozu, toplam induksiyon süresi, GnRH antagonist başlama zamanı, hCG günü elde edilen >16mm den büyük folikül sayısı, hCG günü E2 seviyesi, hCG günü toplanan oosit sayısı, oosit maturasyon düzeyi, elde edilen embriyo sayısı ve embriyoların grade durumları, transfer edilen embriyo sayısı, siklus iptal oranı, klinik gebelik oranı, canlı doğum ile sonuçlanan gebelikler değerlendirildi.

Sonuçlar: Her iki grup arası siklus karakteristik özelliklerinin benzer olduğu gözlemlendi. Her iki grubun KOH sonuçları karşılaştırıldığında; grup 1'de anlamlı olarak uygulanan tedavi süresinin daha uzun ve kullanılan FSH dozunun daha yüksek olduğu saptandı ($p<0,05$). Her iki grubun cancel (siklus iptal) oranlarına bakıldığında; grup 1'de %29,3 oranında cancel, grup 2'de ise %35,7 oranında cancel saptanmıştır.

Her iki grup arasında yapılan laboratuvar sonuçlarının karşılaştırılmasında; toplanan oosit sayısı ve kalitesi, elde edilen embriyo sayısı ve kalitesi, transfer edilen embriyo sayısı arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı. Her iki grubun gebelik oranlarına bakıldığında; grup 1 için %4,9, grup 2 için %14,1 saptanmıştır. Grup 1 için canlı doğum ile sonuçlanan 1 gebelik mevcut olup yaşayan oranı %2,4'tür. Grup 2'de ise biri ikiz olmak üzere 5 canlı doğum ile sonuçlanan gebelik söz konusudur.

Yorum: Çalışmamızda geç cevap alınan (D8 de <10 mm folikül) ve bu nedenle muhtemelen siklus iptaline gidecek olgularda hem siklus iptalini önlemek hem de ovaryen cevabı arttırmak amacıyla analog stoplanmış, önde giden folikül 12 mm olduğunda ise olası bir prematür LH yükseliş'i engellemek adına tedaviye GnRH antagonisti eklenmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada siklus iptaline gitmesi muhtemel hastalarda başlatılan alternatif bir protokol ile çoklu esnek doz antagonist protokolü arasında fark bulunamamıştır. Çalışmamız; retrospektif ve örneklem boyutumuz küçük olmasına rağmen, infertilite hastalarının bu özel grubunda daha büyük ve randomize çalışmalar için önemli bir başlangıç olabilir.

Anahtar Kelimeler: Kontrollü ovaryen hiperstimülasyon, flare-up protokol, agonist-antagonist protokol, GnRH antagonist, GnRH antagonist, esnek çoklu doz.

8. ABSTRACT

THE COMPARISON OF THE MICRODOSE GnRH AGONIST FLARE-UP COMBINED WITH GnRH ANTAGONIST FLEXIBLE MULTI-DOSE AND THE GnRH ANTAGONIST PROTOCOL FLEXIBLE MULTI-DOSE

Objective: The aim of this study is to compare the effectiveness of flexible multidose GnRH antagonist protocol which is frequently applied for the patients with poor response, and microdose GNRH agonist flare-up combined with flexible multidose GnRH antagonist protocol in poor responders

Design: Retrospective study.

Setting: Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, IVF (in vitro fertilization) unit.

Material and metod(s): All the patients, in ICSI-ET program between January 2006 and June 2012, were analysed retrospectively. The study was approved by the ethics committee of, Faculty of Medicine, Akdeniz University. Microdose GNRH agonist flare-up combined with flexible multidose GnRH antagonist protocol was applied to 41 patients (Group 1) and flexible multidose GnRH antagonist protocol was applied to 85 patients (Group 2). Totally 126 patients with poor ovarian response were selected.

Total dose of FSH and hMG, total induction time, starting time of GnRH antagonist, the number of embryos greater than 16mm on hCG day, E₂ level on hCG day, the number of oocytes collected on hCG day, oocyte maturation level, the number of embryos and their grade status, the number of embryos transferred, cycle cancellation rate, clinical pregnancy rate and pregnancies resulting in live births.

Result(s): The cycle characteristics were similar in both groups. When COH (controlled ovarian hyperstimulation) results were compared, it was found that duration of the treatment was longer and the dose of FSH was higher in group 1 ($p < 0,05$). Cancel rates were found as 29.3% in group 1, 35.7% in group 2. In the comparison of the laboratory results, there was no significant difference with respect to the number and quality of oocytes, number and quality of embryos obtained and the number of embryos transferred. Pregnancy rates were 4.9% in group 1, 14.1% in group 2. For group 1, there is one pregnancy resulting in live birth and the rate of living 2.4%. For group 2, this number is 5 including 1 twins.

Conclusion(s): In this study, in the case of late reply (D8 de <10 mm follicle) and therefore most probably will result in the cancellation of cycle, analog was stopped with the aim of preventing the cancellation of cycle as well as to increase ovarian response, when the

leading follicle is 12 mm, GnRH antagonist was added to prevent a possible premature LH rise to the treatment. As a result, with an alternative protocol to be started on late replying patients, similar results as multi-flexible-dose antagonist protocol were obtained.

Although, our sample size is small and our study design is retrospective to make an accurate conclusion, our study might be a start for larger and randomized studies in this special group of infertility patients.

Key words: Controlled ovarian hyperstimulation, flare-up protocol, agonist-antagonist protocol, GnRH antagonist, GnRH agonist, flexible multidose.

9. KAYNAKLAR

- 1) Mosher WD, Pratt WF. Fecundity and infertility in the United States: Incidence and trends. *Fertil Steril* 1991; 56: 192.
- 2) Tietze C. Reproductive span and rate of reproduction among Hutterite women. *Fertil Steril* 1957; 8: 89.
- 3) Maroulis GB. Effect of aging on fertility and pregnancy. *Seminars Reprod Endocrinol* 1991; 9: 165.
- 4) 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: 78.
- 5) Ziebe S, Loft A, Petersen JH, Andersen AG, Lindenberg S, Petersen K, Andersen AG. Embryo quality and developmental potential is compromised by age, *Acta Obstet Gynecol Scand* 2001; 80: 169.
- 6) Centers for Disease Control and Prevention, American Society for Reproductive Medicine, Society for Assisted Reproductive Technology, RESOLVE. 2001 assisted reproductive technology success rates, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 2003.
- 7) Gosden RG. Maternal age: a major factor affecting the prospects and outcome of pregnancy, *Ann NY Acad Sci* 1985; 442: 45.
- 8) Wilcox AJ, Weinberg CR, O'Connor JF, Baird DD, Schlatterer JP, Canfield RE, et al. Incidence of early loss of pregnancy, *New Engl J Med* 1988; 319: 189.
- 9) Zinaman MJ, Clegg ED, Brown CC, O'Connor J, Selevan SG. Estimates of human fertility and pregnancy loss, *Fertil Steril* 1996; 65: 503.
- 10) Warburton D. Reproductive loss: how much is preventable?, *New Engl J Med* 1987; 316: 158.
- 11) Wilcox AJ, Weinberg CR, Baird DD. Timing of sexual intercourse in relation to ovulation-effects on the probability of conception, survival of the pregnancy, and sex of the baby, *New Engl J Med* 1995; 333: 1517.
- 12) Dunson DB, Baird DD, Wilcox AJ, Weinberg CR. Day-specific probabilities of clinical pregnancy of two studies with imperfect measures of ovulation, *Hum Reprod* 1999; 14: 1835.
- 13) Dunson DB, Colombo B, Baird DD. Changes with age in the level and duration of fertility in the menstrual cycle, *Hum Reprod* 2002; 17: 1399.
- 14) Guttmacher AF. Factors affecting normal expectancy of conception, *JAMA* 1956; 161: 855.

- 15) Wilcox AJ, Weinberg CR, Baird DD. Postovulatory ageing of the human oocyte and embryo failure, *Human Reproduction* 1998; 13: 394.
- 16) Agarwal SK, Haney AF. Does recommending timed intercourse really help the infertile couple?, *Obstet Gynecol* 1994; 84: 307.
- 17) Hull MG, Glazener CM, Kelly NJ, Conway DI, Foster PA, Hinton RA, et al. Population study of causes, treatment, and outcome of infertility, *Br Med J (Clin Res Ed)* 1985; 291: 1693.
- 18) Bostofte E, Bagger P, Michael A, Stakemann G. Fertility prognosis for infertile couples, *Fertil Steril* 1993; 59: 102.
- 19) Collins JA, Burrows EA, Wilan AR. The prognosis for live birth among untreated infertile couples, *Fertil Steril* 1995; 64: 22.
- 20) Jordan J, Craig K, Clifton DK, Soules MR. Luteal phase defect: the sensitivity and specificity of diagnostic methods in common clinical use, *Fertil Steril* 1994; 62: 54.
- 21) Miller PB, Soules MR. The usefulness of urinary LH kit for ovulation prediction during menstrual cycles of normal women, *Obstet Gynecol* 1996; 87: 13.
- 22) 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.
- 23) Meyer WR, Smith PM, Clark MR, Cusmano LL, Fritz MA. Therapeutic cup insemination with cryopreserved donor sperm: prognostic value of cervical mucus score at insemination and the number of motile sperm in mucus at 24 hours, *Fertil Steril* 1996; 66: 435.
- 24) Castelbaum AJ, Wheeler J, Coutifaris CB, Mastroianni L Jr., Lessey BA. Timing of the endometrial biopsy may be critical for the accurate diagnosis of luteal phase deficiency, *Fertil Steril* 1994; 61: 443.
- 25) Fritz MA. Inadequate luteal function and recurrent abortion: diagnosis and treatment of luteal phase deficiency, *Semin Reprod Endocrinol* 1988; 6: 129.
- 26) Wentz AC. Physiologic and clinical considerations in luteal phase defects, *Clin Obstet Gynecol* 1979; 22: 169.
- 27) Wentz AC. Endometrial biopsy in the evaluation of infertility, *Fertil Steril* 1980; 33:121.
- 28) de Crespigny LC, O'Herlihy C, Robinson HP. ultrasonic observation of the mechanism of human ovulation, *Am J Obstet Gynecol* 1981; 139: 636.
- 29) Ecocard R, Marret H, Rabilloud M, Bradai R, Boehringer H, Girotto S, Barbato M. Sensitivity and specificity of ultrasound indices of ovulation in spontaneous cycles, *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000; 91: 59.
- 30) Navot D, Rosenwaks Z, Margalioth EJ. Prognostic assessment of female fecundity, *Lancet* ii: 645, 1987.

- 31) Scott RT Jr., Illions EH, Kost ER, Dellinger C, Hofmann GE, Navot D. Evaluation of the significance of the estradiol response during the clomiphene citrate challenge test, *Fertil Steril* 1993; 60: 242.
- 32) Akande VA, Fleming CF, Hunt LP, Keay SD, Jenkins JM. Biological versus chronological ageing of oocytes, distinguishable by raised FSH levels in relation to the success of IVF treatment, *Hum Reprod* 2002; 17: 2003.
- 33) Eggert-Kruse W, Reimann-Andersen J, Rohr G, Pohl S, Tilgen W, Runnebaum B. Clinical relevance of sperm morphology assessment using strict criteria and relationship with sperm-mucus interaction in vivo and in vitro, *Fertil Steril* 1995; 63: 612.
- 34) Katz DF, Slade DA, Nakajima ST. Analysis of pre-ovulatory changes in cervical mucus hydration and sperm penetrability, *Adv Contracept* 1997; 13: 143.
- 35) American Society for Reproductive Medicine. Optimal evaluation of the infertile female. A practice committee report, Birmingham, AL, 2000.
- 36) Eldar-Geva T, Meagher S, Healy DL, MacLachlan V, Breheny S, Wood C. Effect of intramural, subserosal, and submucosal uterine fibroids on the outcome of assisted reproductive technology treatment, *Fertil Steril* 1998; 70: 687.
- 37) Farhi J, Ashkenazi J, Feldberg D, Dicker D, Orvieto R, Ben Rafael Z. Effect of uterine leiomyomata on the results of in-vitro fertilization treatment, *Hum Reprod* 1995; 10: 2567.
- 38) Ramzy AM, Sattar M, Amin Y, Mansour RT, Serour GI, Aboulghar MA. Uterine myomata and outcome of assisted reproduction, *Hum Reprod* 1998; 13: 198.
- 39) Jun SH, Ginsburg ES, Racowsky C, Wise LA, Hornstein MD. Uterine leiomyomas and their effect on in vitro fertilization outcome: a retrospective study, *J Assist Reprod Genet* 2001; 18: 139.
- 40) Surrey ES, Lietz AK, Shoolcraft WB. Impact of intramural leiomyomata in patients with a normal endometrial cavity on in vitro fertilization-embryo transfer cycle outcome, *Fertil Steril* 2001; 75: 405.
- 41) Check JH, Choe JK, Lee G, Dietterich C. The effect on IVF outcome of small intramural fibroids not compressing the uterine cavity as determined by a prospective matched control study, *Hum Reprod* 2002; 17: 1244.
- 42) Al-Inany H. Intrauterine adhesions, An update, *Acta Obstet Gynecol Scand* 2001; 80: 986.
- 43) Soares SR, Barbosa dos Reis MM, Camargos AF. Diagnostic accuracy of sonohysterography, transvaginal sonography, and hysterosalpingography in patients with uterine cavity diseases, *Fertil Steril* 2000; 73: 406.
- 44) Miller JH, Weinberg RK, Canino NL, Klein NA, Soules MR. The pattern of infertility diagnoses in women of advanced reproductive age, *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181: 952

- 45) Westrom L. Incidence, prevalence, and trends of acute pelvic inflammatory disease and its consequences in industrialized countries, *Am J Obstet Gynecol* 1980; 138: 880.
- 46) Westrom L. Effect of acute pelvic inflammatory disease on fertility, *Am J Obstet Gynecol* 1975; 121: 707.
- 47) Westrom L. Effect of pelvic inflammatory disease on fertility, *Venereology* 1995; 8: 219
- 48) Westrom L, Joesoef R, Reynolds G, Hagdu A, Thompson SE. Pelvic inflammatory disease and fertility. A cohort study of 1,844 women with laparoscopically verified disease and 657 control women with normal laparoscopic results, *Sex Trans Dis* 1992; 19: 185.
- 49) Westrom LV. Sexually transmitted diseases and infertility, *Sex Trans Dis* 1994; 21: 32.
- 50) Schlaff WD, Hassiakos DK, Damewood MD, Rock JA. Neosalpingostomy for distal tubal obstruction: prognostic factors and impact of surgical technique, *Fertil Steril* 1990; 54: 984.
- 51) Guzick DS, Sullivan MW, Adamson GD, Cedars MI, Falk RJ, Peterson EP, Stenkamp MP. Efficacy of treatment of unexplained infertility, *Fertil Steril* 1998; 70: 207.
- 52) Vaskivuo TE, Anttonen M, Herva R, Billing H, Dorland M, te Velde ER, et al. Survival of human ovarian follicles from fetal to adult life: apoptosis, apoptosis-related proteins, and transcription factor GATA-4, *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 3421.
- 53) Gougeon A, Echiohard R, Thalabard JC. Age-related changes of the population of human ovarian follicles: increase in the disappearance rate of non-growing and early-growing follicles in aging women, *Biol Reprod* 1994; 50: 653.
- 54) Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, Nelson JF. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause, *Hum Reprod* 1992; 7: 1342.
- 55) Richardson SJ, Senikas V, Nelson JF. Follicular depletion during the menopausal transition-evidence for accelerated loss and ultimate exhaustion, *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 65: 1231.
- 56) den Tonkelaar I, te Velde ER, Looman CWN. Menstrual cycle length preceding menopause in relation to age at menopause, *Maturitas* 1998; 29: 115.
- 57) Cramer DW, Xu H, Harlow BL. Family history as a predictor of early menopause, *Fertil Steril* 1995; 64: 740.
- 58) van Noord PAH, Dubas JS, Dorland M, Boersma H, te Velde E. Age at natural menopause in a population-based screening cohort: the role of menarche, fecundity, and lifestyle factors, *Fertil Steril* 1997; 68: 95.
- 59) Torgerson DJ, Avenell A, Russell IT, Reid DM. Factor associated with onset of menopause in women aged 45-49, *Maturitas* 1994; 19: 83.

- 60) Snieder H, MacGregor AJ, Spector TD. Genes control the cessation of a woman's reproductive life: a twin study of hysterectomy and age at menopause, *J Clin Endocrinol METAB* 1998; 83: 1875.
- 61) Treloar SA, Do Ka, Martin NG. Genetic influences on the age at menopause, *Lancet* 1998; 352: 1084.
- 62) de Bruin JP, Bovenhuis H, van Noord PA, Pearson PL, van Arendonk JA, te Velde ER, et al. The role of genetic factors in age at natural menopause, *Hum Reprod* 2001; 16: 2014.
- 63) te Velde ER, Person PL. The variability of female reproductive ageing, *Hum Reprod Update* 2002; 8: 141.
- 64) Tibiletti MG, Testa G, Vegetti W, Alagna F, Taborelli M, Dalpra L, et al. The idiopathic forms of premature menopause and early menopause show the same genetic pattern, *Hum Reprod* 1999; 14: 2731.
- 65) Vegetti W, Marozzi A, Manfredini E, Testa G, Alagna F, Nicolosi A, et al. Premature ovarian failure, *Mol Cell Endocrinol* 2000; 161: 53.
- 66) Klein NA, Battaglia DE, Fujimoto VY, Davis GS, Bremner WJ, Soules MR. Reproductive ageing accelerated ovarian follicular development associated with monotropic follicle-stimulating hormone rise in normal older women, *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1038.
- 67) Klein NA, Battaglia DE, Miller PB, Branigan EF, Giudice LC, Soules MR. Ovarian follicular development and the follicular fluid hormones and growth factors in normal women of advanced reproductive age, *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1946.
- 68) Hoffmann GE, Danforth DR, Seifer DB. Inhibin-B: the physiologic basis of the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening, *Fertil Steril* 1998; 69: 474.
- 69) Welt CK, McNicholl DJ, Taylor AE, Hall JE. Female reproductive ageing is marked by decreased secretion of dimeric inhibin, *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 105.
- 70) Seifer DB, Scott RT Jr., Bergh PA, Abrogast LK, Friedman CI, Mack CK, Danforth DR. Women with declining ovarian reserve may demonstrate a decrease in day 3 serum inhibin B before a rise in day 3 follicle-stimulating hormone, *Fertil Steril* 1999; 72: 63.
- 71) Reame NE, Wyman TL, Philips DJ, de Kretser DM, Padmanabhan V. Net increase in stimulatory input resulting from a decrease in inhibin B and an increase in activin A may contribute in part to the rise in follicular phase follicle stimulating hormone of ageing cycling women, *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 3302.
- 72) Santarano N, Adel T, Skurnick JH. Decreased inhibin tone and increased activin A secretion characterize reproductive aging in women, *Fertil Steril* 1999; 71: 658.
- 73) Burger HG, Dudley EC, Hopper JL, Groome N, Guthrie JR, Green A, Dennerstein L. Prospectively measured levels of serum follicle-stimulating hormone, estradiol, and the

- dimeric inhibins during the menopausal transition in a population-based cohort of women, *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4025.
- 74) Santoro N, Brown JR, Adel T, Skurnick JH. Characterization of reproductive hormonal dynamics in the perimenopause, *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1495.
 - 75) Shideler SE, DeVane GW, Kalra PS, Benirschke K, Lasley BL. Ovarian-pituitary hormone interactions during the perimenopause, *Maturitas* 1989; 11: 331.
 - 76) Vollman RF. The menstrual cycle, In: Friedman E. ed., *Major Problems in Obstetrics and Gynecology*, WB Saunders Co., Philadelphia 1977.
 - 77) Klein NA, Harper AJ, Houmard BS, Sluss PM, Soules MR. Is the short follicular phase in older women secondary to advanced or accelerated dominant follicular development, *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 5746.
 - 78) Zonneveld P, Scheffer GJ, Broekmans FJ, Blankenstein MA, de Jong FH, Looman CW, Habbema JD, te Velde ER. Do cycle disturbances explain the age-related decline of female fertility? Cycle characteristics of women aged over 40 years compared with a reference population of young women, *Hum Reprod* 2003; 18: 495.
 - 79) Lass A, Silve R, Abrams D-C, Krausz T, Hovatta O, Margara R, Winston RML. Follicular density in ovarian biopsy of infertile women: a novel method to assess ovarian reserve, *Hum Reprod* 1997; 12: 1208.
 - 80) Lass A, Skull J, McVeigh E, Margara R, Winston RM. Measurement of ovarian volume by transvaginal sonography before human menopausal gonadotrophin superovulation for in-vitro fertilization can predict for poor response, *Hum Reprod* 1997; 12: 294.
 - 81) Yong PY, Baird DT, Thong KJ, McNeilly AS, Anderson RA. Prospective analysis of the relationships between the ovarian follicle cohort and basal FSH concentration, the inhibin response to exogenous FSH and ovarian follicle number at different stages of the normal menstrual cycle and after pituitary down-regulation, *Hum Reprod* 2003; 18: 35.
 - 82) Frattarelli JL, Lauria-Costab DF, Miller BT, Bergh PA, Scott RT. Basal antral follicle number and mean ovarian diameter predict cycle cancellation and ovarian responsiveness in assisted reproductive technology cycles, *Fertil Steril* 2000; 74: 512.
 - 83) Dumesic DA, Damario MA, Session DR, Famuyide A, Lesnick TG, Thornhill AR, McNeilly AS. Ovarian morphology and serum hormone markers as predictors of ovarian follicle recruitment by gonadotropins for in vitro fertilization, *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 2538.
 - 84) Bancsi LF, Broekmans FJ, Eljkemans MJ, de Jong FH, Habbema JD, te Velde ER. Predictors of poor ovarian response in vitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve, *Fertil Steril* 2002; 77: 328.

- 85) Kupesic S, Kurjak A, Bjelos D, Vujisic S. Three-dimensional ultrasonographic ovarian measurements and in vitro fertilization outcome are related to age, *Fertil Steril* 2003; 79: 190.
- 86) Pellestor F, Andreo B, Arnal F, Humeau C, Demaille J. Maternal aging and chromosomal abnormalities; new data drawn from in vitro infertilized human oocytes, *Hum Genet* 2003; 112: 195.
- 87) Hassold T, Chiu D. Maternal age-specific rates of numerical chromosome abnormalities with special reference to trisomy, *Hum Genet* 1985; 70: 11.
- 88) Nikolaou D, Templeton A. Early ovarian ageing: a hypothesis: Detection and clinical relevance, *Hum Reprod* 2003; 18: 1137.
- 89) Hofmann GE, Sosnowski J, Scott RT, Thie J. Efficiency of selection criteria for ovarian reserve screening using the clomiphene citrate challenge test in a tertiary fertility center population, *Fertil Steril* 1996; 66: 49.
- 90) Muasher SJ, Oehninger S, Simonetti S, Matta J, Ellis LM, Liu HC, et al. The value of basal and /or stimulated serum gonadotropin levels in prediction of stimulation response and in vitro fertilization outcome, *Fertil Steril* 1988; 50: 298.
- 91) Scott RT, Toner JP, Muasher SJ, Oehninger S, Robinson S, Rosenwaks Z. Follicle-stimulating hormone levels on cycle day 3 are predictive of in vitro fertilization outcome, *Fertil Steril* 1989; 51: 651.
- 92) Toner JP, Philput CB, Jones GS, Muasher SJ. Basal follicle-stimulating hormone level is a better predictor of in vitro fertilization performance than age, *Fertil Steril* 1991; 55: 784.
- 93) Pearlstone AC, Fournet N, Gambone JC, Pang SC, Buyalos RP. Ovulation induction in women age 40 and older: the importance of basal folliclestimulating hormone level and chronological age, *Fertil Steril* 1992; 58: 674.
- 94) Scott Jr RT, Hofmann GE. Prognostic assessment of ovarian reserve, *Fertil Steril* 1995; 63: 1.
- 95) Bukman A, Heineman MJ. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility, *Hum Reprod Update* 2001; 7: 581.
- 96) Barroso G, Oehninger S, Monzo A, Kolm P, Gibbons WE, Muasher SJ. High FSH: LH ratio and low LH levels in basal cycle day 3: impact on follicular development and IVF outcome, *J Assist Reprod Genet* 2001; 18: 499.
- 97) Smotrich DB, Widra EA, Gindoff PR, Levy MJ, Hall JL, Stillman RJ. Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome, *Fertil Steril* 1994; 64: 1136.
- 98) Licciardi FL, Liu HC, Rosenwaks Z. Day 3 estradiol serum concentrations as prognosticators of ovarian stimulation response and pregnancy outcome in patients undergoing invitro fertilization, *Fertil Steril* 1995; 64: 991.

- 99) Buyalos RP, Daneshmand S, Brzechffa PR. Basal estradiol and follicle-stimulating hormone predict fecundity in women of advanced reproductive age undergoing ovulation induction therapy, *Fertil Steril* 1997; 68: 272.
- 100) Navot D, Rosenwaks Z, Margoloth EJ. Prognostic assessment of female fecundity, *Lancet* ii: 645, 1987.
- 101) Yanushpolsky EH, Hurwitz S, Tikh E, Racowsky C. Predictive usefulness of cycle day 10 follicle-stimulating hormone level in a clomiphene citrate challenge test for in vitro fertilization outcome in women younger than 40 years of age, *Fertil Steril* 2003; 80: 111.
- 102) Csemiczky G, Harlin J, Fried G. Predictive power of clomiphene citrate challenge test for failure of in vitro fertilization treatment, *Acta Obstet Gynecol Scand* 2002; 81: 954.
- 103) Scott RT Jr, Illions EH, Kost ER, Dellinger C, Hoffmann GE, Navot D. Evaluation of the significance of the estradiol response during the clomiphene citrate challenge test, *Fertil Steril* 1993; 60: 242.
- 104) Barroso G, Oehninger S, Monzo A, Kolm P, Gibbons WE, Muasher SJ. High FSH: LH ratio and low LH levels in basal cycle day 3: impact on follicular development and IVF outcome, *J Assist Reprod Genet* 2001; 18: 499.
- 105) Scott RT Jr, Hoffman GE, Oehninger S, Muasher SJ. Intercycle variability of day 3 follicle-stimulating hormone levels and its effect on stimulation quality in in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1990; 54: 297.
- 106) Hannoun A, Abu musa A, Awwad J, Kaspar H, Khalil A. Clomiphene citrate challenge test: cycle to cycle variability of cycle day 10 follicle stimulating hormone level, *Clin Exp Obstet Gynecol* 1998; 25, 155.
- 107) Lass A, Silye R, Abrams D-C, Krausz T, Hovatta O, Margara R, Winston RML. Measurement of ovarian volume by transvaginal sonography before human menopausal gonadotropin superovulation for in-vitro fertilization can predict poor response, *Hum Reprod* 1997; 12: 294.
- 108) Seifer DB, Lambert-Messerlian G, Hogan JW, Gardinar AC, Blazaar AS, Berk AC. Day 3 serum inhibin is predictive of assisted reproductive technologies outcome, *Fertil Steril* 1997; 67: 110.
- 109) Corson SL, Gutman J, Batzer FR, Wallace H, Klein N, Soules MR. Inhibin- B as a test of ovarian reserve for infertile women, *Hum Reprod* 1999; 14: 2818.
- 110) Dzik A, Lambert-Messerlian G, Izzo VM, Soares JB, Pinotti JA, Seifer DB. Inhibin-B response to EFORT is associated with the outcome of oocyte retrieval in the subsequent in vitro fertilization cycle, *Fertil Steril* 2000; 74: 1114.
- 111) Kwee J, Elting MW, Schats R, Bezemer PD, Lambalk CB, Schoemaker J. Comparison of endocrine tests with respect to their predictive value on the outcome of ovarian

- hyperstimulation in IVF treatment: results of a prospective randomized study, *Hum Reprod* 2003; 18: 1422.
- 112) Winslow KL, Toner JP, Brzyski RG, Oehninger SC, Acosta AA, Muasher SJ. The gonadotropin-releasing hormone agonist stimulation test- a sensitive predictor of performance in the flare-up in vitro fertilization cycle, *Fertil Steril* 1991; 56: 711.
 - 113) Galtier-Dereure F, De Bouvard V, Picto MC, Vergnes C, Humeau C, Bringer J, Hedon B. Ovarian reserve test with the gonadotropin-releasing hormone agonist buserelin: correlation with in-vitro fertilization outcome, *Hum Reprod* 1996; 11: 1393.
 - 114) Ranieri DM, Phopong P, Khadum I, Meo F, Davis C, Serhal P. Simultaneous evaluation of basal FSH and estradiol response to GnRH analogue (F-G test) allows effective drug regimen selection for IVF, *Hum Reprod* 1996; 11: 1393.
 - 115) Fanchin R, de Ziegler D, Olivennes F, Taieb J, Dzik A, Frydman R. Exogenous follicle stimulating hormone ovarian reserve test (EFORT): A simple and reliable screening test for detecting 'poor responders' in in-vitro fertilization, *Hum Reprod* 1994; 9: 1607.
 - 116) Van Rooij IA, Broekmans FJ, te Velde ER, Fauser BC, Bancsi LF, de Jong FH, Themmen AP. Serum anti-müllerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve, *Hum Reprod* 2002; 17: 3065.
 - 117) Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses, *Endocr Rev* 1996; 17: 121.
 - 118) Scheffer GJ, Broekmans FJ, Dorland M, Habbema JD, Looman CW, te Velde ER. Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility, *Fertil Steril* 1999; 72: 845.
 - 119) Nikolaou D, Templeton A. Early ovarian ageing: a hypothesis: detection and clinical relevance, *Hum Reprod* 2003; 18: 1137.
 - 120) Broekmans FJ, Scheffer GJ, Bancsi LF, Durland M, Blankenstein MA, te Velde ER. Ovarian reserve tests in infertility practice and normal fertile women, *Maturitas* 1998; 30: 205.
 - 121) Scott Jr RT, Leonardi MR, Hofmann GE, Illions EH, Neal GS, Navot D. A prospective evaluation of clomiphene citrate challenge test screening of the general infertility population, *Obstet Gynecol* 1993; 82: 539.
 - 122) Guzick DS, Sullivan MW, Adamson GD, CedarsMI, Falk RJ, Peterson EP, Steinkampf MP. Efficacy of treatment for unexplained infertility, *Fertil Steril* 1998; 70: 207.
 - 123) Barnhart K, Dunsmoor-Su R, Coutifaris C. Effect of endometriosis on in vitro fertilization, *Fertil Steril* 2002; 77: 1148.
 - 124) Hughes EG, Brennan BG. Does cigarette smoking impair natural or assisted fecundity, *Fertil Steril* 1996; 66: 679.

- 125) Augood C, Duckitt K, Templeton AA. Smoking and female infertility: a systematic review and meta-analysis, *Human Reprod* 1998; 13: 1532.
- 126) Feichtinger W, Papalambrou K, Poehl M, Krichker U, Neumann K. Smoking and invitro fertilization: a meta-analysis, *J Assist Reprod Genet* 1997; 14: 596.
- 127) Paulson RJ, Sauer MV, Francis MM, Macaso TM, Lobo RA. In vitro fertilization in unstimulated cycles, the University of Southern California experience, *Fertil Steril* 1992; 57: 290. Isted reproductive technologies, *Fertil Steril* 1993; 60: 864.
- 128) Claman P, Domingo M, Garner P, Leader A, Spence JEH. Natural cycle in vitro fertilization-embryo transfer at the University of Ottawa: an inefficient therapy for tubal infertility, *Fertil Steril* 1993; 60: 298.
- 129) Fahy UM, Cahill DJ, Wardle PG, Hull MG. In-vitro fertilization in completely natural cycles, *Hum Reprod* 1995; 10: 572.
- 130) Ng EH, Chui DK, Tang OS, Lau EY, Yeung WS, Chung HP. In vitro fertilization and embryo transfer during natural cycles, *J Reprod Med* 2001; 46: 95.
- 131) Ingerslev HJ, Hojgaard A, Hindkjaer J, Kesmodel U. A randomized study comparing IVF In the unstimulated cycle with IVF following clomiphene citrate, *Hum Reprod* 2001; 16: 696.
- 132) Diamond MP, Hill GA, Webster BW, Herbert CM, Rogers BJ, Osteen KG, Maxson WS, Vaughn WK, Wentz AC. Comparison of human menopausal gonadotropin, clomiphene citrate, and combined human menopausal gonadotropin-clomiphene citrate stimulation protocols for in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1986; 46: 1108.
- 133) Corfman RS, Mila MS, Bellavance TL, Ory SC, Erickson LD, Ball GD. A novel ovarian stimulation protocol for use for assisted reproductive technologies, *Fertil Steril* 1993; 60: 864.
- 134) Dor J, Ben Shlomo, Levran D, Rudak E, Yunish M, Mashiach S. The relative success of gonadotropin-releasing hormone analogue, clomiphene citrate, and gonadotropin in 1099 cycles of in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1992; 58: 986.
- 135) Meldrum D. GnRH agonists as adjuncts for in vitro fertilization, *Obstet Gynecol* 1989; 44: 314.
- 136) Edwards RG, Lobo R, Bouchard P. Time to revolutionize ovarian stimulation, *Hum Reprod* 1996; 11: 917.
- 137) Janssens RM, Lambalk CB, Vermeiden JP, Schats R, Bernards JM, Rekers-Mombarg LT, Schoemaker J. Dose-finding study of triptorelin acetate for prevention of a premature LH surge in IVF : a prospective randomized, double blind, placebo-controlled study, *Hum Reprod* 2000; 15:2333.
- 138) Hughes EG, Federkow DM, Daya S, Sagle MA, Van de Koppel P, Collins JA. The routine use of gonadotropin-releasing hormone agonists prior to in vitro fertilization and gamete

- intrafallopian transfer: meta-analysis of randomized controlled trial, *Fertil Steril* 1992; 58: 888.
- 139) Daya S. Gonadotropin releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitization in in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer cycles, *Cochrane Database Syst Rev* CD001299, 2000.
 - 140) Meldrum DR, Wisot A, Hamilton F, Gutlay AL, Huynh D, Kempton W. Timing of initiation and dose schedule of leuprolide influence the time course of ovarian suppression, *Fertil Steril* 1988; 50: 400.
 - 141) Urbancsek J, Witthaus E. Midluteal buserelin is superior to early follicular phase buserelin in combined gonadotropin-releasing hormone analog and gonadotropin stimulation in in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1996; 65: 966.
 - 142) El-Nemr A, Bhide M, Khalifa Y, Al-Mizyen E, Gillott C, Lower AM, Al-Shawaf T, Grudzinskas JG. Clinical evaluation of three different gonadotrophin-releasing hormone analogues in an IVF programme: a prospective study, *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002; 103: 140.
 - 143) Albuquerque LE, Saconato H, Maciel MC, Baracat EC, Freitas V. Depot versus daily administration of GnRH agonist protocols for pituitary desensitization in assisted reproduction cycles: a Cochrane Review, *Hum Reprod* 2003; 18: 2008.
 - 144) Feldberg D, Farhi J, Askhenazi J, Dicker D, Shalev J, Ben-Rafael Z. Minidose gonadotropin-releasing hormone agonist is the treatment of choice in poor responders with high follicle-stimulating hormone levels, *Fertil Steril* 1994; 62: 343.
 - 145) Kowalik A, Barmat L, Damario M, Liu HC, Davis O, Rosenwaks Z. Ovarian estradiol production in vivo Inhibitory effect of leuprolid acetate, *J Reprod Med* 1988; 43: 413.
 - 146) Pantos K, Meimeth-Damianaki T, Vaxevanoglou T, Kapetanakis E. Prospective study of a modified gonadotropin-releasing hormone agonist long protocol in an in vitro fertilization program, *Fertil Steril* 1994; 61: 709.
 - 147) Smits J, Van Den Abbeel E, Bollen N, Camus M, Devroey P, Tournaye H, Van Steirteghem AC. The effect of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist in the follicular phase on in-vitro fertilization outcome in normo-ovulatory women, *Hum Reprod* 1992; 7: 1098.
 - 148) Faber BM, Mayer J, Cox B, Jones D, Toner JP, Oehninger S, Muasher SJ. Cessation of gonadotropin-releasing hormone agonist therapy combined with high-dose gonadotropin stimulation yields favorable pregnancy results in low responders, *Fertil Steril* 1998; 69: 826.
 - 149) Pinkas H, Orvieto R, Avrech OM, Rufas O, Ferber A, Ben-Rafael Z, Fisch B. Gonadotropin stimulation following GnRH priming for poor responders in in vitro fertilization-embryo transfer programs, *Gynecol Endocrinol* 2000; 14: 11.

- 150) Wang PT, Lee RK, Su JT, How JW, Lin MH, Hu YM. Cessation of low-dose gonadotropin-releasing hormone agonist therapy followed by high-dose gonadotropin stimulation yields favorable ovarian response in poor responders, *J Assist Reprod Genet* 2002; 19: 1.
- 151) Stelling JR, Chapman ET, Frankfurter D, Harris DH, Oskowitz SP, Reindollar RH. Subcutaneous versus intramuscular administration of human chorionic gonadotropin during an in vitro fertilization cycle, *Fertil Steril* 2003; 79: 881.
- 152) Ueno J, Oehninger S, Bryzski KT, Acosta AA, Philput B, Muasher SJ. Ultrasonographic appearance of the endometrium in natural and stimulated in vitro fertilization cycles and its correlation with outcome, *Hum Reprod* 1991; 6: 901.
- 153) Bergh C, Hillensjo T, Nilsson L. Sonographic evaluation of the endometrium in in vitro fertilization IVF cycles. A way to predict pregnancy ? *Acta Obstet Gynecol Scand* 1992; 71: 624.
- 154) Oliveira JB, Baruffi RL, Mauri AL, Petersen CG, Borges MC, Frango JG, Jr. Endometrial ultrasonography as a predictor of pregnancy in an in vitro fertilization programme after ovarian stimulation and gonadotropin-releasing hormone and gonadotrophins, *Hum Reprod* 1997; 12: 2515.
- 155) Noyes N, Liu HC, Sultan K, Schattman G, Rosenwaks Z. Endometrial thickness appears to be a significant factor in embryo implantation in in vitro fertilization, *Hum Reprod* 1995; 10: 919.
- 156) Dickey RP, Olar TT, Curome DN, Taylor SN, Rye PH. Endometrial pattern and thickness associated with pregnancy outcome after assisted reproductive technologies, *Hum Reprod* 1992; 7: 418.
- 157) Fanchin R, Righini C, Ayoubi JM, Olivennes F, de Ziegler D, Frydman R. New look at endometrial echogenicity: objective computer-assisted measurements predict endometrial receptivity in in vitro fertilization – embryo transfer, *Fertil Steril* 2000; 74: 274.
- 158) Check JH, Nowroozi K, Choe J, Lurie D, Dietterich C. The effect of endometrial thickness and echo pattern on in vitro fertilization outcome in donor oocyteembryo transfer cycle, *Fertil Steril* 1993; 59: 72.
- 159) Weissman A, Gotlieb L, Casper RF. The detrimental effect of increased endometrial thickness on implantation and pregnancy rates and outcome in an in vitro fertilization program, *Fertil Steril* 1999; 71: 147.
- 160) Dietterich C, Check JH, Choe JK, Nazari A, Lurie D. Increased endometrial thickness on the day of human chorionic gonadotropin injection does not adversely affect pregnancy or implantation rates following in vitro fertilization-embryo transfer, *Fertil Steril* 2002; 77: 781.

- 161) Yakin K, Akarsu C, Kahraman S. Cycle lumping or-sampling a witches' brew?, *Fertil Steril* 2000; 73: 175.
- 162) De Geyter C, Schmitter M, De Geyter M, Nieschlag E, Holzgreve W, Schneider HP. Prospective evaluation of the ultrasound appearance of the endometrium in a cohort of 1, 186 infertile women, *Fertil Steril* 2000; 73: 106.
- 163) Ludwig M, Doody KJ, Doody KM. Use of recombinant human chorionic gonadotrophin in ovulation induction, *Fertil Steril* 2003; 79: 1051.
- 164) Butler SA. hCG-mass units, molar conversions and the standardization of biologic units, *Fertil Steril* 2003; 80: 1533.
- 165) Smits J, Camus M, Devroey P, Erard P, Wisanto A, Van Steirteghem AC. Incidence of severe ovarian hyperstimulation syndrome after GnRH agonist/HMG superovulation in vitro fertilization, *Hum Reprod* 1990; 5: 933.
- 166) MacDougall MJ, Tan SL, Jacobs HS. In-vitro fertilization and the ovarian hyperstimulation syndrome, *Hum Reprod* 1992; 7: 597.
- 167) Rizk B, Smits J. Ovarian hyperstimulation syndrome after superovulation using GnRH agonist for IVF and related procedures, *Hum Reprod* 1992; 7: 320.
- 168) Delvigne A, Rozenberg S. A qualitative systematic review of coasting, a procedure to avoid ovarian hyperstimulation syndrome in IVF patients, *Hum Reprod Update* 2002; 8: 291.
- 169) Chen CD, Chao KH, Yang JH, Chen SU, Ho HN, Yang YS. Comparison of coasting and intravenous albumin in the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome, *Fertil Steril* 2003; 80: 86.
- 170) D'Angelo A, Amso N. "Coasting" (withholding gonadotropins) for preventing ovarian hyperstimulation syndrome, *Cochrane Database Syst Rev*: CD002811, 2002.
- 171) Endo T, Honnma H, Hayashi T, Chida M, Yamazaki K, Kitajima Y, et al. Continuation of GnRH agonist administration for 1 week, after hCG injection, Prevents ovarian hyperstimulation syndrome following elective cryopreservation of all pronucleate embryos, *Hum Reprod* 2002; 17: 2548.
- 172) Chen D, Burmeister L, Goldschlag D, Rosenwaks Z. Ovarian hyperstimulation syndrome: strategies for prevention, *Reprod Biomed Online* 2003; 7: 43.
- 173) Forman RG, Frydman R, Egan D, Ross C, Barlow DH. Severe ovarian hyperstimulation syndrome using agonist of gonadotropin-releasing hormone for in-vitro fertilization: a European series and a proposal for prevention, *Fertil Steril* 1990; 53: 502.
- 174) Damario MA, Barmat L, Liu HC, Davis OK, Rosenwaks Z. Dual suppression with oral contraceptives and gonadotropin releasing hormone agonists improves in-vitro fertilization outcome in high responder patients, *Hum Reprod* 1997; 12: 2359.

- 175) Manzi DL, Thorton KL, Scott LB, Nulsen JC. The value of increasing the dose of human menopausal gonadotropins in women who initially demonstrate a poor response, *Fertil Steril* 1994; 62: 251.
- 176) Stadtmauer L, Ditkoff EC, Session D, Kelly A. High dosages of gonadotropins are associated with poor pregnancy outcomes after in vitro fertilization-embryo transfer, *Fertil Steril* 1994; 61: 1058.
- 177) Land JA, Yarmolinskaya MI, Dumoulin JC, Evers JL. High-dose human menopausal gonadotropin stimulation in poor responders does not improve in vitro fertilization outcome, *Fertil Steril* 1996; 65: 961.
- 178) Schatcher M, Friedler S, Raziel A, Strassburger D, Bern O, Ron-el R. Improvement of IVF outcome in poor responders by discontinuation of GnRH analogue during the gonadotropin stimulation phase – a function of improved embryo quality, *J Assist Reprod Genet* 2001; 18: 197.
- 179) Padilla SL, Dugan K, Maruschak V, Shalika S, Smith RD. Use of the flare-up protocol with high dose human follicle stimulating hormone and human menopausal gonadotrophins for in vitro fertilization in poor responders, *Fertil Steril* 1996; 65: 796.
- 180) Surrey ES, Bower J, Hill DM, Ramsey J, Surrey MW. Clinical and endocrine effects of a microdose GnRH agonist flare regimen administered to poor responders who are undergoing in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1998; 69: 419.
- 181) Copperman AB. Antagonists in poor-responder patients, *Fertil Steril* 80 (suppl I): S16, 2003.
- 182) Benadiva CA, Davis O, Kligman I, Liu HC, Rosenwaks Z. Clomiphene citrate and hmg : an alternative stimulation protocol for selected failed in vitro fertilization patients, *J Assist Reprod Genet* 1995;12:8.
- 183) Garcia JE, Padilla SL, Bayati J, Baramki TA. Follicular phase gonadotropin-releasing hormone agonist and human gonadotropins: a better alternative for ovulation induction in in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1990; 53: 302.
- 184) Loumaye E, Vankrieken L, Depreester S, Psalti I, de Cooman S, Thomas K. Hormonal changes induced by short-term administration of gonadotropin-releasing hormone agonist during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and their consequences for embryo development, *Fertil Steril* 1989; 51: 105.
- 185) Ron-El R, Herman A, Golan A, Soffer Y, Nachum H, Caspi E. Ultrashort gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH-a) protocol in comparison with the long-acting GnRH-a protocol and menotropin alone, *Fertil Steril* 1992; 58: 1164.
- 186) Tan SL, Maconochie N, Doyle P, Campbell S, Balen A, Bekir J, et al. Cumulative conception and live-birth rates after in vitro fertilization with and without the use of long,

- short and ultra-short regimens of the gonadotropin-releasing hormone agonist buserelin, *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171: 513.
- 187) Gonen Y, Jacobson J, Casper RF. Gonadotropin suppression with oral contraceptives before in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1990; 53: 282.
 - 188) Cedrin-Durnerin I, Bulwa S, Herve F, Martin-Pont B, Uzan M, Hugues JN. The hormonal flare-up following gonadotropin-releasing hormone agonist administration is influenced by a progestogen pretreatment, *Hum Reprod* 1996; 11: 1856.
 - 189) Scott RT, Navot D. Enhancement of ovarian responsiveness with microdoses of gonadotropin-releasing hormone agonist during ovulation induction of in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1997; 67: 93.
 - 190) Matikainen T, Ding YQ, Vergara M, Huhtaniemi I, Cuuzinet B, Schaison G. Differing responses of plasma bioactive and immunoreactive follicle-stimulating hormone antagonist and agonist treatments in postmenopausal women, *J Clin Endocrinol Metab* 1992, 75: 820.
 - 191) Olivennes F, Cunha-Filho JS, Fanchin R, Bouchard P, Frydman R. The use of GnRH antagonists in ovarian stimulation, *Hum Reprod Update* 2002; 8: 279.
 - 192) Albano C, Felberbaum RE, Smits J, Riethmuller-Winzen H, Engel J, Diedrich K, Devroey P. Ovarian stimulation with hMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)- antagonist cetrorelix and the LHRH agonist buserelin. European Cetrorelix Study Group, *Hum Reprod* 2000; 15: 526.
 - 193) Akman MA, Erden HF, Tosun SB, Bayazit N, Aksoy E, Bahçeci M. Comparison of agonistic flare-up-protocol and antagonistic multiple dose protocol in ovarian stimulation of poor responders: results of a prospective randomized trial, *Hum Reprod* 2001; 16: 868.
 - 194) Felberbaum RE, Albano C, Ludwig M, Riethmuller-Winzen H, Grigat M, Devroey P, Diedrich K. Ovarian stimulation for assisted reproduction with hMG and concomitant midcycle administration of the GnRH antagonist cetrorelix according to the multiple dose protocol : a prospective uncontrolled phase III study, *Hum Reprod* 2000; 15: 1015.
 - 195) Ludwig M, Felberbaum RE, Devroey P, Albano C, Riethmuller-Winzen H, Schuler A, Engel W, Diedrich K. Significant reduction of the incidence of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) by using the LHRH antagonist Cetrorelix (cetrotide) in controlled ovarian stimulation for assisted reproduction, *Arch Gynecol Obstet* 2000; 264: 29.
 - 196) Ludwig M, Katalinic A, Diedrich K. Use of GnRH antagonists in ovarian stimulation for assisted reproductive technologies compared to the long protocol. Meta-analysis, *Arch Gynecol Obstet* 2001; 265: 175.
 - 197) de Jong D, Macklon NS, Eijkemans MJ, Mannaerts BM, Coelingh Bennink HJ, Fauser BC. Dynamics of the development of multiple follicles during ovarian stimulation for in

- vitro fertilization using recombinant follicle-stimulating hormone (Puregon) and various doses of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (orgalutran/antagon). *Fertil Steril* 2001; 75: 688.
- 198) Al-Inany H, Aboulghar M. GnRH antagonist in assisted reproduction: acochrane review, *Hum Reprod* 2002; 17: 874.
 - 199) Hernandez ER. Embryo implantation and GnRH antagonists: embryo implantation: the rubicon for GnRH antagonists, *Hum Reprod* 2000; 15: 1211.
 - 200) The Ganirelix Dose-Finding Study Group, A double-blind, randomized, dose-finding study to assess the efficacy of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462) to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone (Puregon), *Hum Reprod* 13:3023, 1998.
 - 201) Albano CJ, Camus M, Riethmüller-Winzen H, Siebert-Weigel M, Diedrich K, Van Steirteghem AC, Devroey P. Comparison of different doses of gonadotropin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during controlled ovarian hyperstimulation, *Fertil Steril* 1997; 67: 917.
 - 202) Ludwig M, Katalinic A, Banz C, Schroder AK, Loning M, Weiss JM, Diedrich K. Tailoring the GnRH antagonist cetrorelix acetate to individual patients' needs in ovarian stimulation for IVF : results of a prospective , randomized study, *Hum Reprod* 2002; 17: 2842.
 - 203) Olivennes F, Alvarez S, Bouchard P, Fanchin R, Salat-Baroux J, Frydman R. The use of a gonadotropin-releasing hormone antagonist (cetrorelix) in a single dose protocol in IVF-embryo transfer: a dose finding study of 3 versus 2 mg, *Hum Reprod* 1998; 13: 2411.
 - 204) Klipstein S, Reindollar RH, Regan MM, Alper MM. Initiation of the gonadotropin-releasing hormone antagonist ganirelix for in vitro fertilization cycles in which the lead follicle is >14 mm, *Fertil Steril* 2004; 81: 714.
 - 205) Olivennes F, Belaische-Alart J, Empaire JC, Dechaud H, Alvarez S, Moreau L, Nicollet B, Zorn JR, Bouchard P, Frydman R. Prospective, randomized, controlled study of in vitro fertilization- embryo transfer with a single dose of a luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) antagonist (cetrorelix) or a depot formula of an LH-RH agonist (triptorelin), *Fertil Steril* 2000; 73: 314.
 - 206) Olivennes F, Diedrich K, Frydman K, Felberbaum RE, Howles CM. Safety and efficacy of a 3 mg dose of the GnRH antagonist cetrorelix in preventing LH surges: report of two large multicentre, multinational, phase IIIb clinical experiences, *Reprod Biomed Online* 2003; 6: 432.
 - 207) Berker B, Duvan Cİ, Kaya C, Aytaç R, Şatiroğlu H. Comparison of the ultrashort gonadotropin-releasing hormone agonist-antagonist protocol with microdose flare-up

- protocol in poor responders: a preliminary study, *J Turkish-German Gynecol Assoc* 2010; 11: 187-93.
- 208) Keay SD, Liversedge NH, Mathur SD, Jenkins JM. Assisted conception following poor ovarian response to gonadotrophin stimulation, *Br J Obstet Gynaecol* 1997; 104: 521-7.
 - 209) Porter R, Smith W, Craft I, Addulwahid N, Jacobs H. Induction of ovulation for in vitro fertilization using buserelin and gonadotrophins, *Lancet* 1984; 2: 1284-5.
 - 210) Droesch K, Muasher SJ, Brzyski RG, Jones GS, Simonetti S, Liu HC. Value of suppression with a gonadotrophin-releasing hormone agonist prior to gonadotrophin stimulation for in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1985; 51: 292.
 - 211) 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, *Human Reprod* 2011; 26(7): 1616-24.
 - 212) Raga F, Bonilla-Musoles F, Casan EM, Bonilla F. Recombinant follicle stimulating hormone stimulation in poor responders with normal basal concentrations of follicle stimulating hormone and oestradiol: improved reproductive outcome, *Hum Reprod* 1999; 14: 1431-4.
 - 213) Fridstrom M, Akerlof E, Sjoblom P, Hillensjo T. Serum levels of luteinizing and follicle stimulating hormones in normal and poor responding patients undergoing ovarian stimulation with urofollitropin after pituitary downregulation, *Gynecol Endocrinol* 1997; 11: 25-8.
 - 214) Brzyski RG, Muasher SJ, Droesch K, Simonetti S, Jones GS, Rosenwaks Z. Follicular atresia associated with concurrent initiation of gonadotropin releasing hormone agonist and follicle stimulating hormone for oocyte recruitment, *Fertil Steril* 1988; 50: 917-21.
 - 215) Schoolcraft W, Schlenker T, Gee M, Stevens J, Wagley L. Improved controlled ovarian hyperstimulation in poor responder in vitro fertilization patients with a microdose follicle-stimulating hormone flare growth hormone protocol, *Fertil Steril* 1997; 67: 93-7.
 - 216) Karande V, Morris R, Rinehart J, Miller C, Rao R, Gleicher N. Limited success using the "flare" protocol in poor responders in cycles with low basal follicle stimulating hormone levels during in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1997; 67: 900-3.
 - 217) Dor J, Seidman DS, Ben-Shlomo I, Levran D, Karasik A, Mashiach S. The prognostic importance of the number of oocytes retrieved and estradiol levels in poor and normal responders in in vitro fertilization (IVF) treatment, *J Assist Reprod Genet* 1992; 9: 228-32.
 - 218) Pellicer A, Ardiles G, Neuspiller F, Remohi J, Simon C, Bonilla-Musoles F. Evaluation of the ovarian reserve in young low responders with normal basal levels of follicle stimulating hormone using three-dimensional ultrasonography, *Fertil Steril* 1998; 70: 671-5.

- 219) Pellicer A, Ballester MJ, Serrano MD, Mir A, Serra-Serra V, Remohi J, Bonilla-Musoles FM. Aetiological factors involved in the low response to gonadotrophins in infertile women with normal basal serum follicle stimulating hormone levels, *Hum Reprod* 1994; 9: 806-11.
- 220) Navot D, Drews MR, Bergh PA, Guzman I, Karstaedt A, Scott RT Jr, Garrisi GJ, Hofmann GE. Age-related decline in female fertility is not due to diminished capacity of the uterus to sustain embryo implantation, *Fertil Steril* 1994; 61: 97-101.
- 221) Muasher SJ. Treatment of low responders, *J Assist Reprod Genet* 1993; 10: 112-4.
- 222) Spandorfer SD, Chung PH, Kligman I, Liu HC, Davis OK, Rosenwaks Z. An analysis of the effect of age on implantation rates, *J Assist Reprod Genet* 2000; 17: 303-6.
- 223) Roest J, van Heusden AM, Mous H, Zeilmaker GH, Verhoeff A. The ovarian response as a predictor for successful in vitro fertilization treatment after the age of 40 years, *Fertil Steril* 1996; 66: 969-73.
- 224) Üstüner I, Sönmezer M, Ünlü C. Assesment of ovarian reserve and clinical management of poor responder patients, *Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst* 2005; 15: 205-13.
- 225) Eskandar M, Jaroudi K, Jambi A, Archibong EI, Coşkun S, Sobande AA. Is recombinant follicle stimulating hormone more effective in IVF poor responders than human menopausal gonadotrophins?, *Med Sci Monit* 2004; 10: 6-9.
- 226) Kenisberg D, Littman BA, Williams RF, Hodgen GD. Medical hypophysectomy II: Variability of ovarian response to gonadotropin therapy, *Fertil Steril* 1984; 42: 116.
- 227) Albano C, Smitz C, Tournaye H, Riethmüller-Winzen H, Van Steirteghem A, Devroey P. Luteal phase and clinical outcome after human menopausal gonadotrophin / gonadotrophin releasing hormone antagonist treatment for ovarian stimulation in in-vitro fertilization/ intracytoplasmic sperm injection cycles, *Hum Reprod* 1999; 14: 1426-30.
- 228) Lin Y, Kahn JA, Hillensjo T. Is there a difference in the function of granulosa luteal cells in patients undergoing in-vitro fertilization either with gonadotropin releasing hormone agonist or gonadotrophin releasing hormone antagonist?, *Hum Reprod* 1999; 14: 885-8.
- 229) Ragni G, Vegetti W, Baroni E, Colombo M, Arnoldi M, Lombroso G, Grossignani PG. Comparison of luteal phase profile in gonadotrophin stimulated cycles with or without gonadotrophin-releasing hormone antagonist, *Hum Reprod* 2001; 16: 2258-62.
- 230) Craft I, Gorgy A, Hill J, Menon D, Podsiadly B. Will GnRH antagonists provide new hope for patients considered 'difficult responders' to GnRH agonist protocols, *Human Reprod* 1999; 14: 2959-62.
- 231) Akman MA, Erden HF, Tosun SB, Bayazit N, Aksoy E, Bahçeci M. Addition of GnRH antagonist in cycles of poor responders undergoing IVF, *Hum Reprod* 2000; 15: 2145-7.
- 232) Fasouliotis SJ, Laufer N, Sabbagh-Ehrlich S, Lewin A, Hurwitz A, Simon A. Gonadotropin releasing hormone (GnRH) antagonist versus GnRH agonist in ovarian

stimulation of poor responders undergoing IVF, *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 2003; 20(11).

- 233) Lainas TF, Sfontouris IA, Papanikalaou EG, Zorzovilis JZ, Petsas GK, Lainas GT, Kolibianakis EM. Flexible GnRH antagonist versus flare-up GnRH agonist protocol in poor responders treated by IVF: a randomized controlled trial, *Human Reprod* 2008; 23; 6: 1355-8.
- 234) Leondires MP, Escalpes M, Segars JH, Scott RT, Miller BT. Microdose follicular phase gonadotropin releasing hormone agonists (GnRH-a) compared with luteal phase GnRH-a for ovarian stimulation at in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1999; 72: 1018-23.
- 235) Dirnfeld M, Frutcher O, Yshai D, Lissak A, Ahdut A, Abramovici H. Cessation of gonadotropin releasing hormone analogue (GnRH-a) upon down-regulation versus conventional long GnRH –a protocol in poor responders undergoing in vitro fertilization, *Fertility and Sterility* Vol 72, No 3, September 1999.
- 236) Garcia-Velasco J.A, Isaza V, Requena A, Martinez-Salazar F.J, Landazabal A, Remohi J, Pellicier A, Simon C. High doses of gonadotrophins combined with stop versus non-stop protocol of GnRH analogue administration in low responders IVF patients: a prospective, randomized, controlled trial, *Hum Reprod* 2000; 15(11):2292-6.
- 237) Latouche J, Crumeyrolle-Arias M, Jordan D, Kopp N, Augendre-Ferrante B, Cedard L, and Haour F. GnRH receptors in human granulosa cells. Anatomical localization and characterization by autoradiographic study, *Endocrinology* 1989; 125: 1739-41.
- 238) Zelesnik AJ, Schuler HM, Reichter LE. Gonadotrophin binding sites in the rhesus monkey ovary; role of the vasculature in the selective distribution of HCG to the preovulatory follicle, *Endocrinology* 1981; 109: 356-62.
- 239) Demirel A, Gürgan T. Comparison of microdose flare-up and antagonist multiple dose protocols for poor responder patients: a randomized study, *Fertil Steril* 2009; 92: 481-5.
- 240) Detti L, Williams DB, Robins JC, Maxwell RA, Thomas MA. comparison of three downregulation approaches for poor responders undergoing in vitro fertilization, *Fertil Steril* 2005; 84: 1401-5.
- 241) Malmusi S, La Marca A, Giulini S, Xella S, Tagliasacchi D, Marsella T. Comparison of a gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist and GnRH agonist flare-up regimen in poor responders undergoing ovarian stimulation, *Fertil Steril* 2005; 84: 402-6.
- 242) Morgia F, Sbracia M, Schimberni M, Giallonardo A, Piscitelli C, Giannini P. A controlled trial of natural cycle versus microdose gonadotropin-releasing hormone analog flare cycles in poor responders undergoing in vitro fertilization, *Fertil Steril* 2004; 81: 1542-7.
- 243) Kahraman K, Berker B, Atabekoğlu CS, Sönmezer M, Çetinkaya E, Aytaç R, Şatıroğlu H. Microdose gonadotropin-releasing hormone agonist flare-up protocol versus multiple dose

- gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol in poor responders undergoing intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer cycle, *Fertil Steril* 2009; 91: 2437-44.
- 244) Karimzadeh MA, Mashayekhy M, Mohammadian F, Moghaddam FM. Comparison of mild and microdose GnRH agonist flare protocols on IVF outcome in poor responders, *Arch Gynecol Obstet* 2011; 283: 1159-64.
 - 245) Schoolcraft WB, Surrey ES, Minjarez DA, Stevens JM, Gardner DK. Management of poor responders: can outcomes be improved with a novel gonadotropin-releasing hormone antagonist/letrozole protocol?, *Fertil Steril* 2008; 89: 151-6.
 - 246) Yaralı H, Esinler I, Polat M, Bozdağ G, Tiras B. Antagonist/letrozole protocol in poor ovarian responders for intracytoplasmic sperm injection: a comparative study with microdose flare-up protocol, *Fertil Steril* 2009; 92: 231-5.
 - 247) Shoham Z, Jacobs HS, Insler V. Luteinizing hormone: its role, mechanism of action, and detrimental effects when hypersecreted during the follicular phase, *Fertil Steril* 1993; 59: 1153-61.
 - 248) Erickson GF, Magoffin DA, Dyer CA, Hofeditz C. The ovarian androgen producing cells: a review of structure/function relationships, *Endocr Rev* 1985; 6: 371-99.
 - 249) San Roman GA, Surrey ES, Judd HL, Kerin JF. A prospective randomized comparison of luteal phase versus concurrent follicular phase initiation of gonadotropin-releasing hormone agonist for in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1992; 58: 744-9.
 - 250) Duvan CL, Berker B, Turhan NO, Şatıroğlu H. Oral kontraceptive pretreatment does not improve outcome in microdose gonadotrophin-releasing hormone agonist protocol among poor responder ICSI patients, *J Assist Reprod Genet* 2008; 25: 89-93.
 - 251) Berger BM, Ezcurra D, Alper MM. The agonist-antagonist protocol: a novel protocol for treating the poor responder [abstract], *Fertil Steril* 2004; 82(2): 126.
 - 252) Erden HF, Akman MA, Bayazit N, Bahçeci M. Efficacy of a new Agonist-Antagonist Protocol compared to microdose flare-up in poor responder IVF patients (oral presentation), *Fertil Steril* 2005; 84.
 - 253) Orvieto R, Kruchkovich J, Rabinson J, Zohav E, Anteby EY, Meltcer S. Ultrashort gonadotropin-releasing hormone agonist combined with flexible multidose gonadotropin-releasing hormone antagonist for poor responders in in vitro fertilization/embryo transfer programs, *Fertil Steril* 2008; 90: 228-30.
 - 254) Orvieto R, Nahum R, Rabinson J, Gerner O, Anteby EY, Meltcer S. Ultrashort flare GnRH agonist combined with flexible multidose GnRH antagonist for patients with repeated IVF failures and poor embryo quality, *Fertil Steril* 2009; 91: 1398-400.