



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

IVF İÇİN YAPILAN OVARYEN STİMÜLASYONA
SUBOPTİMAL YANITTA GONADOTROPİN RESEPTÖR
POLİMORFİZMİNİN ROLÜ

UZMANLIK TEZİ
Dr. AYŞE DUYGU TUFAN

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. İSMAİL GÜLER

ANKARA
EYLÜL 2021



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

IVF İÇİN YAPILAN OVARYEN STİMÜLASYONA
SUBOPTİMAL YANITTA GONADOTROPİN RESEPTÖR
POLİMORFİZMİNİN ROLÜ

UZMANLIK TEZİ
Dr. AYŞE DUYGU TUFAN

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. İSMAİL GÜLER

ANKARA
EYLÜL 2021

TEŞEKKÜRLER

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde çok büyük desteği olan, asistanlık süreci boyunca varlığını hissettiren tez danışmanım sayın Doç. Dr. İsmail Güler'e; gerek teorik ve pratik bilgileriyle gerekse de iyi ve kötü tecrübeleriyle eğitimimde katkısı olan ve bana her zaman yol gösteren tüm değerli hocalarıma teşekkür ederim.

Geçirdiğim 4 senelik zaman zarfında ailemden çok vakit geçirdiğim, artık ikinci bir aile gibi gördüğüm, kimi zaman beraber gülüp kimi zaman beraber ağladığım başta Op. Dr. Aydan Piriyeve ve Op. Dr. Dilara Duygulu'ya, pozitifliğiyle ve yardımlarıyla bu süreyi kolaylaştıran eşkıdemim Dr. Semih Afacan olmak üzere beraber çalıştığım birer abi, abla ve kardeş olarak gördüğüm tüm asistan arkadaşlarıma, başım sıkıştığında yardıma koşan, varlığı güven veren, benim için birer abi ve abla gibi olan tüm uzmanlarımıza teşekkürü bir borç bilirim.

Desteklerini hep hissettiğim, her türlü kararında yanımda olan, destekleyen ve beni benden çok düşünen, bugünlere gelmemde en çok emeği olan, mesleğin başından beri bana deontolojiyi öğreten, her zaman birer akıl hocası olarak gördüğüm annem Uzm. Dr. Ülkü Tufan ve babam Uzm. Dr. Yıldırım Tufan başta olmak üzere tüm aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜRLER.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR	iv
TABLolar DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER ve GRAFİKLER.....	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Gonadotropinler.....	3
2.1.1. Gonadotropinlerin yapı ve fonksiyonları	3
2.1.2. Hipofizer gonadotropin salınımı	13
2.1.3. Gonadotropinlerin etki mekanizması	15
2.1.4. Gonadotropinlerin düzenlenmesi	16
2.1.5. Gonadotropinlerin teşhis ve tedavi uygulamaları	17
2.1.6. Gonadotropin reseptörleri	18
2.1.6.1. Gonadotropin reseptör proteinleri	18
2.1.6.2. Gonadotropin reseptör genleri ve transkriptler	19
2.1.6.3. Follitropin ve luteotropin reseptörlerinin mutasyonları	20
2.2. Polimorfizm	22
2.3. Ovaryen stimülasyon ve ovaryen stimülasyona yanıtın sınıflandırılması	23
2.3.1. Follikül oosit indeksi (FOI) ve follikül output rate (FORT).....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. Hasta seçimi.....	26
3.2. Tedavi siklusu, serum hormon düzeyleri ve TV-USG	26

3.3. NGS ve infertilite Paneli Testi.....	30
3.4. İstatiksel değerlendirme.....	32
4. BULGULAR.....	34
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇ	55
7. KAYNAKLAR	56
8. ÖZET	68
9. SUMMARY	70
10. ETİK KURUL ONAYI.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
11. ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

KISALTMALAR

ACTH	: Adrenokortikotrop Hormon
AFC	: Antral Follikül Sayısı
Ala	: Alanin
AMH	: Anti-Mullerian Hormon
AR	: Androjen Reseptörü
Arg	: Arjinin
ART	: Assisted Reproductive Technology, Yardımcı Üreme Teknikleri
Asn	: Asparjin
Asp	: Aspartat
BMI	: Body Mass Index, Vücut Kitle İndeksi
BMP-15	: Kemik Morfogenetik Faktör-15
CCCT	: Klomifen Sitrat Challenge Testi
CRH	: Kortikotropin Salgılatıcı Hormon
Dup	: Duplikasyon
E₂	: Östradiol
ER	: Östrojen Reseptörü
ET	: Embriyo Transferi
FOI	: Follikül Oosit İndeksi
FORT	: Follicule Output Rate, Follikül Üretim Hızı
FSH	: Follikül Stimüle Edici Hormon
FSHR	: Follikül Stimüle Edici Hormon Reseptörü
GDF-9	: Büyüme Farklılaşma Faktörü-9
Glu	: Glutamat
Gly	: Glisin
GnRH	: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
hCG	: Human Chorionic Gonadotropin
His	: Histidin
Ile	: İzolösin
IVF	: İn Vitro Fertilizasyon

Leu	: Lösin
LH	: Luteinleştirici Hormon
LHCGR	: Luteinize Edici Hormon/ Koryogonadotropin Reseptörü
LHR	: Luteinize Edici Hormon Reseptörü
M2 Sayısı	: Metafaz II oosit sayısı
NGS	: Next Generation Sequencing, Yeni Nesil Dizileme
OPU	: Oosit Toplama
OS	: Ovaryen Stimülasyon
PCOS	: Polikistik Over Sendromu
PN Sayısı	: Pronukleus Sayısı
POR	: Poor Ovarian Response, Kötü Ovaryen Yanıt
Pro	: Prolin
SNP	: Single Nucleotide Protein
β	: Beta
Thr	: Treonin
TSH	: Tiroit Stimüle Edici Hormon
Tyr	: Tirozin
Val	: Valin
α	: Alfa

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: İnfertilite Panelinde NGS Yöntemiyle Bakılan Genler Ve Özellikleri...	32
Tablo 2: Hastaların Demografik Ve Klinik Özellikleri	34
Tablo 3: Hastalarda Tespit Edilen FSHR Ve LHCGR Polimorfizmlerinin Özellikleri.....	36
Tablo 4: Genetik Varyant Sonuçlarının Demografik Özelliklerle İlişkisi	37
Tablo 5: Reseptör Polimorfizminin Demografik Özelliklerle İlişkisi.....	38
Tablo 6: FOI Normal Veya Düşük Oluşunun Genetik Varyant Sonuçlarına Oranı	39
Tablo 7: FOI Normal Veya Düşük Oluşunun Reseptör Polimorfizm Sonuçlarına Oranı.....	40
Tablo 8:FOI Normal Veya Düşük Oluşunun FSHR Polimorfizmine Oranı	40
Tablo 9: FOI'nin Normal Veya Düşük Oluşunun LHCGR Polimorfizmine Oranı	41
Tablo 10: FORT'un Normal Veya Düşük Oluşunun Genetik Varyant Sonuçlarına Oranı.....	42
Tablo 11:FORT'un Normal Veya Düşük Oluşunun Reseptör Polimorfizm Sonuçlarına Oranı	42
Tablo 12: FORT'un Normal Veya Düşük Oluşunun FSHR Polimorfizmine Oranı	43
Tablo 13:FORT'un Normal Veya Düşük OluşununLHCGR Polimorfizmine Oranı	44
Tablo 14: Gebelik Ve Genetik Varyant Sonuçları	44
Tablo 15: Gebelik Ve Reseptör Polimorfizmi Sonuçları	45
Tablo 16: Gebelik Ve FSHR Polimorfizmi Sonuçları.....	46
Tablo 17: Gebelik Ve LHCGR Polimorfizmi Sonuçları	46
Tablo 18: Ovulatuvar Faktör Ve Genetik Varyant Sonuçları.....	47
Tablo 19: Ovulatuvar Faktör Ve Reseptör Polimorfizm Sonuçları.....	47

ŞEKİLLER ve GRAFİKLER

Şekil 1: Preantral Folliküler Gelişimin Farklı Aşamalarında Rol Oynayan Stimüle Edici Ve İnhibe Edici Faktörler Ve Gonadotropinler Tarafından Follikülogenezin Düzenlenmesi.....	4
Şekil 2: Preantral Folikül Gelişimi İçin Oosit Kaynaklı GDF-9 Ve BMP-15'in Oositler, Granüloza Ve Teka Hücreleri Arasındaki Düzenleyici Etkileşimi ...	5
Şekil 3: Dominant Follikül Seçimi.....	6
Şekil 4: İki Hücre – İki Gonadotropin Sistemi.....	13
Şekil 5: Peptid Ve Steroid Hormon Reseptörleri Arasındaki Etkileşim	15
Şekil 6: FOI	24
Şekil 7: FORT	25
Şekil 8: Antagonist Protokol	28
Şekil 9: Uzun Protokol	28
Şekil 10: Mikrod doz- Flare Up Protokolü.....	29
Grafik 1: IVF Tedavisi Başlanan Hastaların Endikasyonlarının Dağılımı.....	35
Grafik 2: İnfertilite Paneli Test Sonuçları	36

1. GİRİŞ

IVF (invitro fertilizasyon) tedavisinde; en önemli basamaklardan biri ovaryen stimölasyondur ve amaç multifoliküler gelişim elde etmektir. Literatürde birçok ovaryen stimölasyon protokolü bulunmaktadır.

Ovaryen stimölasyon protokolüne karar verildikten sonra, tedavide kullanılacak kişiye özgül eksojen gonadotropin dozlarının belirlenmesinde yaş, vücut kitle indeksi (BMI), gibi klinik özelliklerinin yanında anti-Müllerian hormonu (AMH), bazal FSH, E₂, AFC gibi sık kullanılan over rezerv testleri kullanılmaktadır. Klinisyenin tecrübesi, anovulasyon nedeni, fertilite durumu, ilacın etkinliği, maliyeti ve olası komplikasyonlar protokol seçimini etkileyen diğer faktörlerdir.

Ovaryen stimölasyonda her ne kadar optimal yanıtın elde edilmesi için bunlar kullanılsa da bazı hastaların kendileri için uygun olduğu düşünülen gonadotropin dozlarına yanıtları düşük olabilmektedir. Bunun nedeni olarak son yıllarda giderek artan oranda araştırılan genetik farklılıklar, stimölasyona verilecek cevabı belirleyen FSHR, LHCGR, BMP-15, GDF-9 gibi genlerdeki polimorfik değişikliklerin belirlenmesi, seçilecek protokollerin tedavi dozlarının ve ilaçların seçimleri üzerinde önemle durulan parametreler arasındadır (1, 2).

Gonadotropinler, over aktivitesini kontrol eden temel hormonlar olduğundan, FSHR, ER, LHCGR, BMP15, AR gibi genetik polimorfizmler, glikoproteinlere gonad yanıtını değiştirebilir; bu nedenle bunlar, hedef seviyede hormon aktivitesinin önemli düzenleyicileridir. Primordiyal follikül havuzunun oluşturulması fetal yaşam sırasında gerçekleşir ve esas olarak genetik kontrol altındadır.

Over rezerviyle güçlü bir şekilde ilişkili biyolojik bir özellik olan menopoza yaşı ve aynı zamanda AMH ve AFC gibi fonksiyonel over rezervinin belirteçleri farklı genetik varyantlara sahip kadınlarda farklı değildir. Tersine, FSH reseptöründeki (FSHR) bazı polimorfizmlerin over aktivitesindeki modifikasyonlarla ilişkili olduğu görülmektedir. Özellikle çalışmalar, FSHR için Ser680 genotipinin FSH stimülasyonuna göreceli bir direnç faktörü olduğunu ve bunun biraz daha yüksek FSH serum seviyelerine yol açtığını ve dolayısıyla menstrüel siklusun daha uzun sürmesine yol açtığını göstermektedir. Bazı FSHR gen polimorfizmleri, eksojen gonadotropin uygulamasına over yanıtı ile pozitif bir ilişki gösterir. FSHR geninin SNP'lerinin incelenmesi, bize ovaryen stimülasyon sırasında her kadının eksojen gonadotropin uygulamasına nasıl tepki verdiği hakkında yeni bilgiler sağlayabilecek ilginç bir araştırma alanıdır (3). Ayrıca kötü yanıtı olguların bazılarında LHCGR ye ait genetik varyantların mevcut olduğu ancak ovaryen cevapla ilişkisinin bulunmadığına dair hipotezler mevcuttur (4). Bu hastalarda FSH ya ek olarak HMG veya rekombinant LH gibi LH aktivitesine sahip gonadotropinlerden fayda sağlanabileceği düşünülmekle birlikte bu konuda yeterince çalışma yoktur.

Çalışmamızın birincil amacı; edinilen bilgiler ışığında IVF tedavisinde ovaryen stimülasyona yanıtın gonadotropin reseptör (FSHR, LHCGR) polimorfizmi ile olan ilişkisini incelemektir. Gebelik verileri, IVF endikasyonları ile gonadotropin reseptör polimorfizmi ve genetik varyant sonuçları arasındaki ilişkiler ise ikincil amaç olarak araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Gametogenezis ve steroidogenezis ile gonadal fonksiyonlar düzenlenir. Gonadal fonksiyonların düzenlenmesi dekaeptid bir hormon olan ve hipotalamustan salınan gonadotropin salgılatıcı hormona (GnRH) bağlı olarak gerçekleşir ve GnRH'ya bağlı olarak salınımı ön hipofizden gerçekleşen FSH ve LH'da follikül gelişimi, ovulasyonun oluşumu, sperm matürasyonu ve erken gebeliğin devamı gibi birçok önemli fonksiyonu vardır.

2.1. Gonadotropinler

2.1.1. Gonadotropinlerin yapı ve fonksiyonları

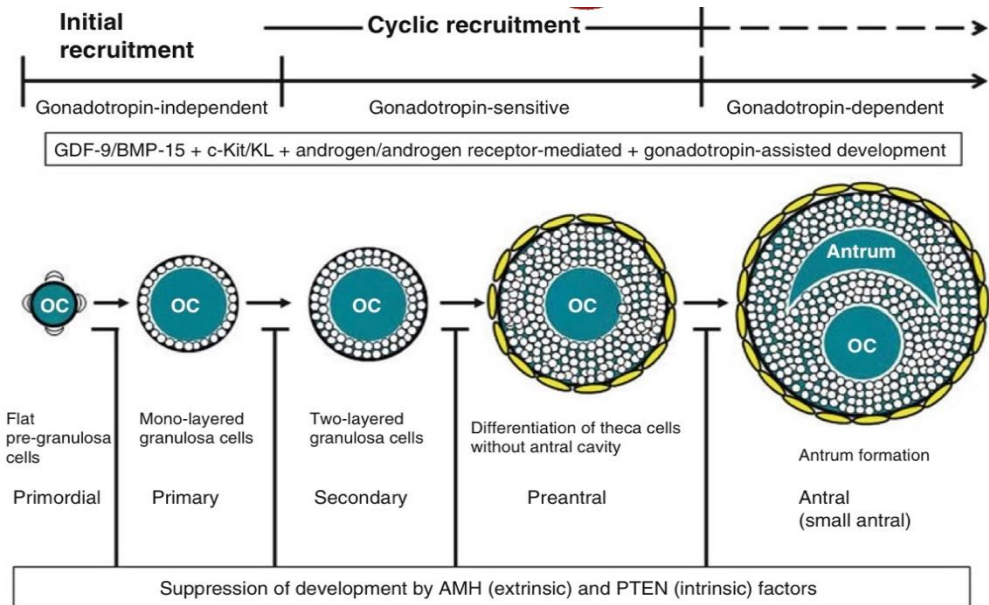
FSH ve LH yüksek molekül ağırlıklı glikoproteinler olup iki monomerik ünite içerirler. Her ikisi de yapısı yüksek oranda korunmuş, ortak bir alfa (α) subünitine sahiptirler ve yaklaşık 14.000 dalton ağırlığındadır (92 aminoasitten oluşmuştur). α subünitleri TSH ve hCG' de de benzer şekilde bulunur. Bununla birlikte beta (β) subünitleri farklı aminoasitler ve karbonhidratlar içeren farklı yapılardır ve farklı biyolojik aktiviteye yol açarlar. α ve β subünitleri disülfid bağları ile birbirlerine bağlanmışlardır (5).

FSH' nın β alt ünitesinde 118 aminoasit vardır. LH' nın β alt ünitesi 121 aminoasitten oluşur ve LH reseptör etkileşiminden sorumludur. İçerdikleri sialik asit sayısı, hormonun yapısal kuvvetini artırır. LH' nın yarılanma süresi yaklaşık 30 dakika iken (2 tane sialik asit içerir), FSH' nın yarılanma süresi 3-4 saattir (5 tane sialik asit içerir).

Gonadotropinler gonadlarda lokalize olan reseptörlerine (FSH -FSHR, LH/hCG-LHCGR) bağlanarak etki gösterirler (6, 7). Her iki reseptör de, plazmalemma içine yerleştirilen yedi hidrofobik sarmal ve ligandın tipine bağlı olarak değişken boyutlarda hücre içi ve hücre dışı alanlar ile karakterize edilen karmaşık transmembran rodopsin benzeri proteinler olan G protein-bağlı reseptörlerin (GPCR'ler) süper ailesine aittir (8, 9).

FSH overde granüloza hücrelerini ve LH da teka hücrelerini uyarak foliküler büyüme ve olgunlaşmada ve steroidogeneizde sinerjik etki gösterirler (5).

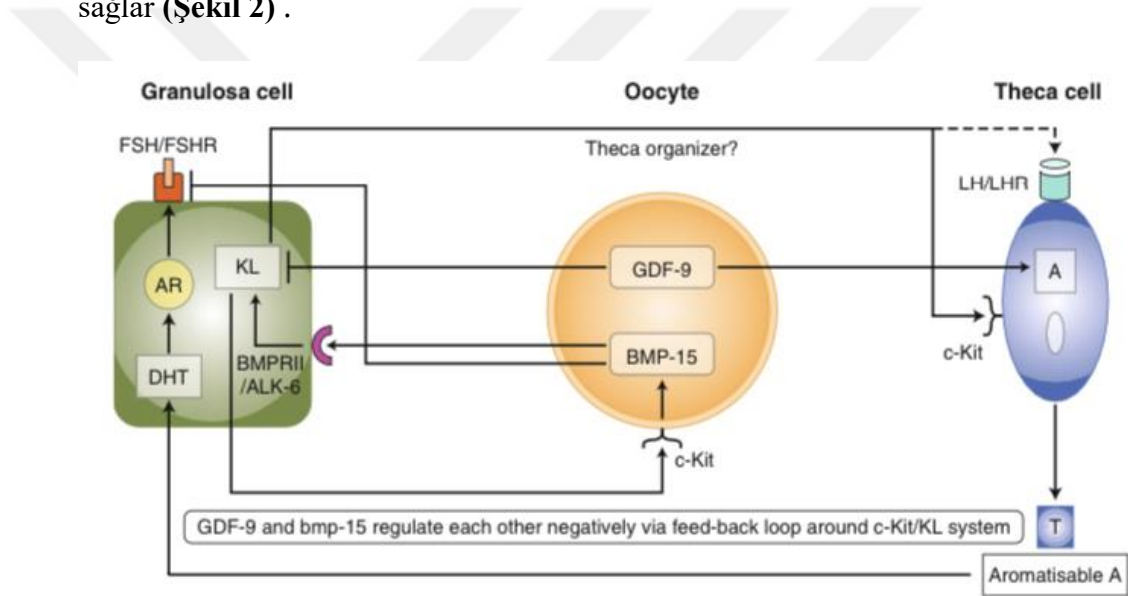
Foliküler gelişim preantral follikül evresine gelene kadar gonadotropinlerden bağımsız olup bu evreden sonra gonadotropin bağımlıdır. Gonadotropinden bağımsız büyümede rol oynayan faktörler; GDF-9, BMP-15, c-Kit/KL' dir (Şekil 1) (10).



Şekil 1: Preantral folliküler gelişimin farklı aşamalarında rol oynayan stimüle edici ve inhibe edici faktörler ve gonadotropinler tarafından follikülogenezin düzenlenmesi

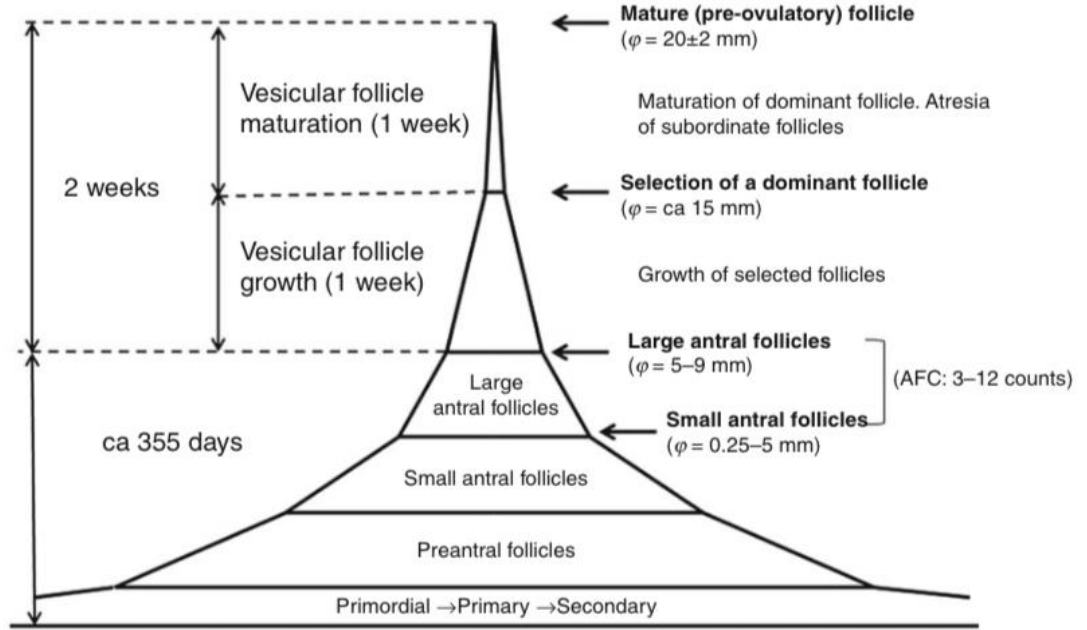
GDF-9; TGF- β ailesinin bir üyesi olup primer oositler tarafından eksprese edilirler. Granüloza hücreleri üzerinde FSHR ekspresyonunu arttırarak dolaylı şekilde preantral follikül büyümesine katkıda bulunurlar. Granüloza hücrelerinde kit ligand üretimi üzerinde GDF-9' un negatif bir geri besleme etkisi mevcuttur.

BMP-15'te TGF- β ailesinden olup granüloza hücrelerinde kit ligand (KL) indükleyicisi olarak rol oynamaktadır ve primordiyal follikül gelişimi için ek bir kritik faktördür. KL, reseptör c-Kit aracılığıyla oositte BMP-15'i üretilmesini sağlar (Şekil 2) .



Şekil 2: Preantral follikül gelişimi için oosit kaynaklı GDF-9 ve BMP-15'in oositler, granüloza ve teka hücreleri arasındaki düzenleyici etkileşimi (10).

FSH' ya cevap verecek folliküller 2-5 mm boyutlarında olup hazır bulunmaktadır. Bir follikülün atreziden kurtulması için kritik olan özellik FSH yükselmesi ve bir süre devam etmesidir. Dolaşımdaki FSH yüksekliği dominant follikülün seçilmesine ve ovulasyon yoluna ilerlemesine olanak sağlar (Şekil 3).



Şekil 3: Dominant follikül seçimi (10).

Follikül gelişiminde görülen ilk belirtiler; oosit boyutunun artması ve granüloza hücrelerinin skuamoz epitelden kuboidal epitele dönüşmeleridir. Bu süreçte ayrıca granüloza hücreleri ve oosit arasında besin, iyon ve düzenleyici moleküllerin geçişine izin veren oluklu bağlantılar (gap junction) oluşmaktadır. Granüloza hücreleri ile oosit arasında iki yönlü bilgi sağlanmasına yardımcı olurlar (11).

Granüloza hücrelerinin gelişimi ve çoğalması, beslenme ve oosit gelişiminin regülasyonu için konneksin olarak bilinen kanallar gereklidir (12). Ovaryen folliküllerde konneksin ekspresyonu FSH ile artırılırken, LH ile azaltılır (13). Ek olarak gap junctionlar; FSH ile açık tutulurken, LH ile kapatılır (14).

FSH β alt ünitesinin mutasyon nedeniyle inaktif hale geldiği kadınlarda; antral follikül aktivitesinin varlığına rağmen follikül gelişmiş ve ovulasyonun olmadığı görülmüştür (15). Oosit ve folliküler gelişim için normal FSH düzeyi

gerekmekte olup FSH eksikliği olan kadınlarda, ekzojen FSH tedavisi ile folliküler gelişim, ovulasyon ve gebelik elde edilebilir (15, 16).

Luteal fazda steroidogenez ve inhibin-A sekresyonu azalır. Bu durum bir sonraki menstrual siklustan birkaç gün önce luteal fazda FSH yükselmesine neden olur (17, 18). FSH biyoaktivitesinin artışının midluteal dönemden geç luteal faza geçişte başladığı hassas ölçümler sayesinde saptanmıştır (19).

Preantral follikülde bulunan granüloza hücrelerinde büyük oranda östrojenler sentezlenmektedir. Androjenleri östrojenlere dönüştürmekte olan aromataz enzim sistemi ovaryen östrojen üretiminin hız kısıtlayıcı basamağıdır. Aromataz enzimini indükleyen veya aktive eden FSH'dır. FSH'nın kendi reseptörüne bağlanmasıyla adenilat siklaz aracılı sinyal aktivasyonu sağlanır. Bu aktivasyon; hücre proliferasyonu, farklılaşması ve fonksiyonundan sorumlu hücre proteinlerini kodlayan mRNA ekspresyonunu gerçekleştirir. Böylece granüloza hücrelerindeki steroidogenez (östrojen yapımı) başlar ve hücre büyümesi uyarılır (20).

Preantral evreye kadar granüloza hücrelerinde FSH'ya spesifik reseptörler saptanmaz (21). FSH varlığı sayesinde preantral follikül; androjenleri aromatize eder ve kendine özel östrojenik mikroçevreyi oluşturur (22).

FSH, östrojenle birlikte sinerjik hareket ederek granüloza hücrelerinde mitotik etki göstererek proliferasyonunu uyarırlar. Bu durum, kısmen dominant follikülde granüloza hücre sayısının artışını da yansıtmaktadır. Seçilen follikülde östrojenin erken görülmesi; östrojene olan otokrin etki ile düşük konsantrasyonlarda bile follikülün FSH'ya cevap vermesine yardımcı olur.

Büyüme ilerledikçe, granüloza hücreleri birçok değişik alt grup hücrelere farklılaşmaktadır (23).

Androjenler; FSH yardımcı aromatzasyona substratlık ederler ve düşük konsantrasyonlarda aromataz aktivitesini arttırlar. Androjenden zengin ortama maruz bırakıldıklarında, preantral granüloza hücreleri androjenleri östrojenlere dönüştürmek yerine daha güçlü 5 α - redükte androjenlere çevirirler (24).

Androjenler düşük konsantrasyonda olduğunda kendi aromatzasyonlarını arttırlar ve östrojen üretimine katkı sağlarlar. Yüksek konsantrasyonda olduklarında ise aromatzasyonun kapasitesi aşılır, follikül androjenik olduktan sonra atreziye gider (25). Yalnızca FSH yüksek, LH düşük olduğunda folliküller gelişmeye devam eder. Netice olarak bir follikülün başarısı; bulunduğu androjenik ortamı östrojenik ortama dönüştürebilmesine bağlıdır (26, 27).

FSH ve östrojenin sinerjistik etkisi ile folliküler sıvı üretiminde artış olur ve granüloza hücreleri arasındaki intersellüler alanlarda sıvı birikir. Zamanla bu sıvı alanlarının birleşmesiyle bir kavite oluşur ve antral follikül evresine geçilmiş olur. Follikül sıvısının birikmesiyle spesifik endokrin ortamdan faydalanması sağlanan oosit ve çevresindeki granüloza hücreleri kumulus ooforus adını alırlar. Kumulus ooforus hücreleri, oosit kaynaklı sinyallerle farklılaşır (28).

Folliküler sıvının içeriğinde FSH varlığında; östrojen, yokluğunda ise; androjen hakimiyet kazanmaktadır (29). Normalde, LH midsiklusa kadar follikül sıvısında bulunmamaktadır. Plazma ve antral sıvıda prematür LH yüksekliği olduğunda, granüloza hücrelerindeki mitotik aktivite azalır, dejeneratif değişiklikler gelişir ve intrafolliküler androjen düzeyi artar. Bu yüzden, östrojen ve FSH hakimiyeti; yeterli granüloza hücre toplanması ve folliküler gelişimin

devamlılığı için gereklidir. Antral folliküller; en yüksek granüloza proliferasyon oranına, östrojen konsantrasyonuna ve en düşük androjen/östrojen oranına sahiptirler ve sağlıklı oosit barındırma ihtimalleri en yüksek olan folliküllerdir (30). Androjenik ortam, östrojen uyarımlı granüloza proliferasyonunu engellemekte ve sürekli olması halinde, oositteki dejeneratif değişiklikleri uyarmaktadır (11).

Ovulatuvar LH artışına cevap verebilmek ve başarılı bir korpus luteum olabilmek için granüloza hücrelerinin LH reseptörlerinin olması gerekir. FSH, büyük antral folliküllerdeki granüloza hücrelerinde LH reseptör gelişimini artırır. Folliküldeki östrojen konsantrasyon artışı ile birlikte FSH, LH reseptör artışını sağlar (31). Azalan FSH ve folliküldeki artmış lokal östrojen çevresine karşın dominant follikül, LH reseptör gelişimi için optimal ortamı sağlayabilme kapasitesine sahiptir. LH, FSH ile uyarılmış granüloza hücrelerinde kendi reseptörlerinin gelişimini sağlar, ancak temelde etkili olduğu mekanizma FSH uyarımı ve östrojen artışıdır (32, 33).

İn vitro fertilizasyon sürecindeki ovaryen stimülasyon kanıtlarına göre LH; follikül gelişiminin geç evrelerinde, son matürasyonun sağlanmasında ve dominant follikülün fonksiyonunu göstermesinde önemli rol oynar (34). Geç folliküler evrede, LH artmış östrojen ihtiyacını karşılamak için teka hücrelerindeki androjen üretiminin uyarır. Buna ek olarak; teka androjenlerinin follikül içindeki esansiyel büyüme faktörleri üzerinde direkt faydalı etkileri olabileceği düşünülmektedir. Ovulasyon öncesinde LH varlığı, optimal follikül gelişiminde ve sağlıklı oositin elde edilmesinde önemli katkı sağlar (35, 36). Düşük

düzeylerde, östrojen LH üzerinde negatif geri besleme oluştururken; yüksek düzeylerde ise pozitif geri besleme etkisine sahiptir.

Ovulasyon oluşması için LH salınımının baskılanmasından uyarılmasına geçiş midfolliküler fazda östradiol seviyesi yükseldiğinde olmaktadır. Bu mekanizmada iki tane önemli nokta bulunur. Bu kritik noktalardan birincisi; östradiol konsantrasyonu olup, ikincisi; östradiol konsantrasyonunun yüksekliğinin devam ettiği süredir. Geri besleme mekanizmasının etki edebilmesi için östradiol konsantrasyonun; yaklaşık 50 saat, ≥ 200 pg/ml devam etmesi gerekir (37).

Deneyisel çalışmalar FSH ve LH'nın aynı zamanda salgılandığını ve GnRH'nın her iki gonadotropinin salgısını uyardığını göstermektedir. Menstrual kanamadan 36-48 saat önce, gonadotropin sekresyonu; geç luteal fazda tipik olarak seyrek LH atımları ve düşük FSH düzeyleri ile karakterize olur (38).

Plazmada endorfin düzeyinin artmaya başlaması, LH pikinin 2 gün öncesinde olmaktadır ve gonadotropin ani artışı ile eş zamanlıdır. Maksimum seviyeye LH pikinden hemen sonra, minimum seviyeye ise menstrual kanama ve erken folliküler fazda ulaşılır (39).

FSH ve LH salgısının diüurnal ritmi mevcuttur (40). Endojen opiatların etkisiyle noktüurnal düşüş gösterirler. LH için bu diüurnal ritim sadece erken folliküler fazda vardır (41).

LH kendi reseptörleri üzerinden etki ederek, dominant folliküldeki granülozanın progesteron üretimi ile sonuçlanan luteinizasyonunu hızlandırmaktadır. LH reseptörü ortaya çıktıktan sonra hücre büyümesini baskılar ve hücre enerjisini steroidogeneze odaklar (42).

LH'nın ani artışı; oositteki mayozun yeniden başlamasını, granüloza hücrelerinin luteinizasyonunu, progesteron üretimini, kumulusun büyümesini ve follikül rüptürü için gerekli olan prostaglandinler ve eikozanoidlerin sentezini sağlamaktadır. Ovulasyondan hemen önce follikülde LH uyarımlı cAMP artışı meydana gelmektedir. cAMP yarık bağlantı ağı ile granüloza hücrelerinden oosite ulaşır. Bu nedenle; LH yarık bağlantıları yıktığında cAMP'de azalma meydana gelir (43).

Ovaryen follikül hücreleri LH'ya yanıt olarak ovulasyonla ilişkili hücresel reaksiyonları etkileyen temel ürünlerin salgılanması ve korpus luteumu oluşturan yeniden yapılanma işlemi ile sonuçlanan immün yanıtlarda yer alan genleri eksprese ederler (44).

LH pik seviyesine ulaştığında östradiol düzeyleri düşmektedir. Bu durum, LH yardımcı folliküldeki kendi reseptörlerinin aşağı yönlü düzenlenmesi sonucu olabilir. Sağlıklı antral folliküllerden elde edilen tekal doku, LH'nın yüksek seviyelerine maruz bırakıldığında, steroidogeneze belirgin baskılanma gözlenmektedir; ancak düşük düzeyin üzerinde maruziyet söz konusu olunca steroid yapımı uyarılmaktadır (45).

LH'nın ani artışını sonlandıran mekanizma bilinmemektedir. LH'nın artışını takip eden saatler içinde plazma östrojenlerinde hızlı düşüş görülür. Östradiolün pozitif uyarıcı etkisinin kaybı veya progesteronun artan negatif geri bildirim etkisine bağlı olarak LH düzeyi düşebilir. LH'nın ani düşüşü; GnRH atım sıklığındaki veya steroid düzeylerindeki değişikliklerden kaynaklanabilir (46). Ayrıca, kendisinin hipotalamus üzerinden geri bildirim kontrolü ile de kontrol altına alınmış olabilir (47).

Korpus luteumun ömrü ve steroidojenik kapasitesi, devamlı tonik LH sekresyonuna bağımlıdır (48). Korpus luteumun LH'ya olan bağımlılığı, GnRH agonistlerinin veya antagonistlerinin uygulanması veya pulsatil GnRH kullanımı ile yapılan ovaryen stimülasyonda GnRH'nın kesilmesinden sonra hızla ortaya çıkan luteolizis ile de desteklenmektedir (49, 50).

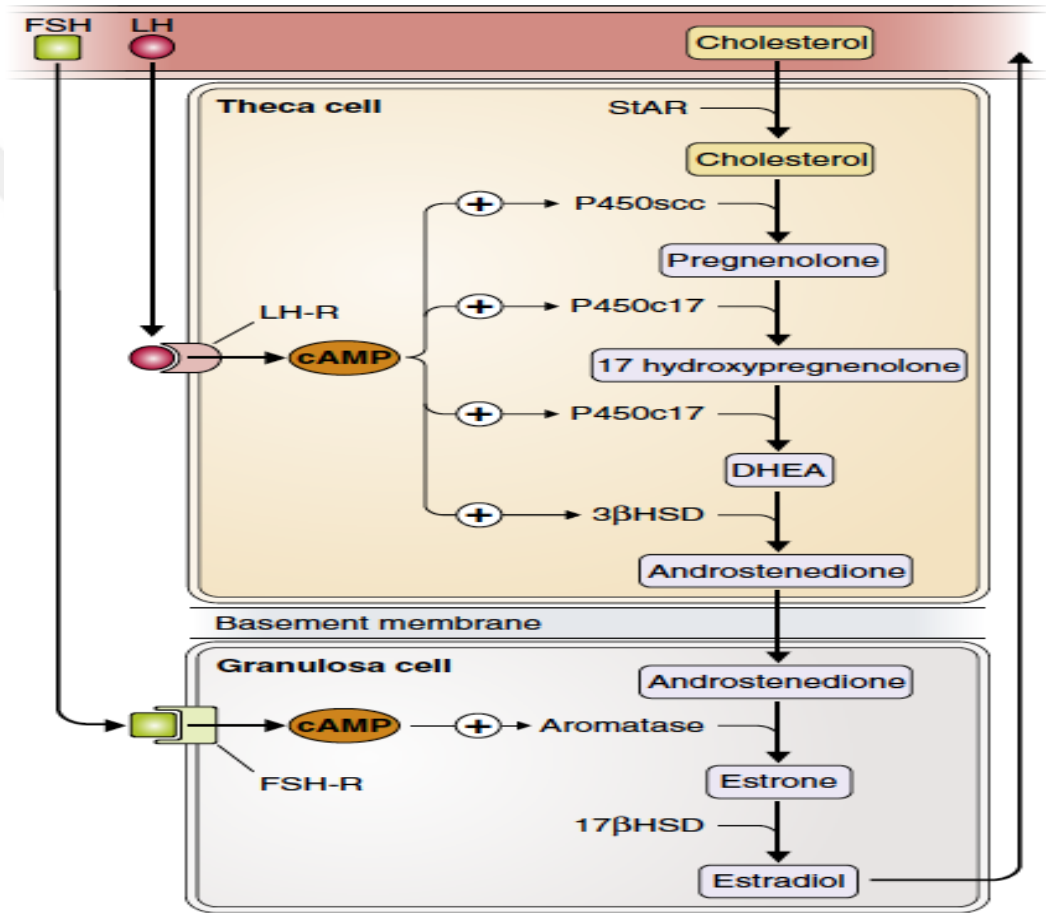
Folikülogenezde iki hücre - iki gonadotropin sistemi: Falck tarafından 1969'da ortaya atılan bu hipotez overdeki folliküler steroidogeneizde meydana gelen olayları açıklamak, spesifik steroid üretim yeri hakkındaki bilgilerle hormon reseptörlerinin görülmesini ve önemini içerir (11, 51).

Preantral ve antral folliküllerde; LH reseptörleri teka hücrelerinde, FSH reseptörleri de granüloza hücrelerinde bulunur (52). LH'ya yanıt olarak teka dokusunda androjen üretimi uyarılmaktadır ve böylece üretilen androjenler FSH uyarımlı aromatzasyon ile granüloza hücrelerinde östrojenlere dönüştürülebilmektedir.

Artmış östrojen yapımı ile sonuçlanan granüloza ve teka kompartmanlarının etkileşimi geç antral gelişime kadar tam olarak fonksiyonel değildir. Preantral granüloza hücreleri gibi, küçük antral folliküllerin granülozası in vitro koşullarda önemli miktarda androjeni daha güçlü olan 5- α redükte formuna dönüştürme eğilimindedir. Androjenik mikroçevreden östrojenik mikroçevreye dönüşüm FSH'nın ve östrojenin destekleyici etkisi ile oluşan ve gittikçe yükselen FSH duyarlılığına bağılıdır.

Follikül geliştikçe teka hücreleri; LH reseptörleri, P450scc ve 3 β -hidroksisteroid dehidrogenaz için gen ekspresyonuna başlarlar (53). Follikül olgunlaştığında, teka hücrelerinde P450c17 enzim aktivitesi (hız kısıtlayıcı enzim)

artar (54). Granüloza hücrelerinde bu enzim aktivitesi olmadığı için östrojen üretimi teka kaynaklı androjenlere bağımlıdır. P450c17'nin yalnız teka hücrelerinde ve P450arom'un yalnız granüloza hücrelerinde olması östrojen üretimi için “iki hücre - iki gonadotropin” açıklamasının en iyi kanıtıdır (Şekil 4) (55).



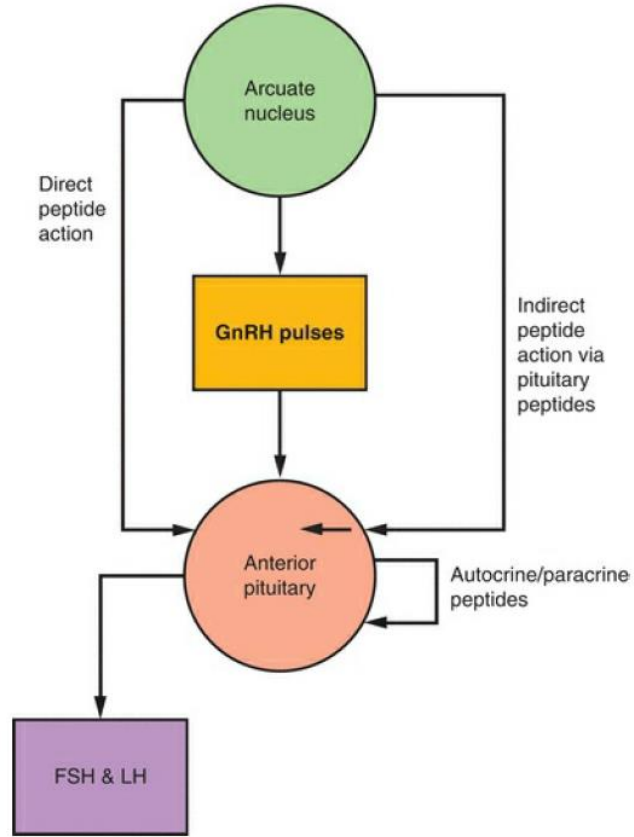
Şekil 4: İki hücre – iki gonadotropin sistemi

2.1.2. Hipofizer gonadotropin salınımı

Gonadotropinlerin α alt ünitesinin yapımını kontrol eden gen hem hipofiz hem plasentada bulunurken, LH için β y1 kontrol eden gen çoğunlukla hipofizde bulunur. hCG için bu durum tam tersidir (11, 56).

Hem FSH hem de LH esas olarak hipofizin lateral kısmında yer alan ve pulsatil GnRH salgısına cevap veren gonadotroplar tarafından salgılanır. GnRH etkisi kalsiyum bağımlı olup, protein kinazı ve siklik adenosin monofosfat (cAMP) etkisinin uyarabilmek için ikincil haberci olarak inositol 1,4,5 (IP_3) ve 1,2- diaçilgliserolü (1,2-DG) kullanır (57). Bu etkiler için G reseptör proteinlerinin varlığı, hücre içi depolardan kalsiyumun siklik salınımı ve hücre içi membranlarının açılmasıyla hücre dışındaki kalsiyumun içeri girmesi gerekir. Sonuç olarak GnRH etkisi için kalmodülin, protein kinaz ve cAMP aracı görev görür. GnRH reseptörleri; GnRH'nın kendisi, aktivin, inhibin ve seks steroidleri gibi birçok faktör tarafından düzenlenmektedir (58).

GnRH'nın hipofizi uyarması sonrasında görülen en erken yanıt gonadotropin salgılanmasında artma, geç yanıt ise yeni sekresyona hazırlıktır. Geç yanıt olduğunda yeni GnRH atımı ile görülen sekresyon beklenenden daha fazla olur ve bu karmaşık bir biyokimyasal ve biyofiziksel olaylar zincirinin ardından meydana gelir. Bu sistem siklusun ortasında ortaya çıkan LH piki için önem arz eder. Bunun için de östrojen maruziyetine ihtiyaç vardır ve progesteron tarafından artırılabilir. Progesteronun etkisi östrojen maruziyetine ve GnRH uyarımlı fosforilasyon tarafından progesteron reseptör aktivasyonuna bağlıdır. Bu ikinci peptid ve steroid hormon reseptörleri arasındaki etkileşimin bir örneğidir (**Şekil 5**).



Şekil 5: Peptid ve steroid hormon reseptörleri arasındaki etkileşim

2.1.3. Gonadotropinlerin etki mekanizması

Tropik hormonlar içerisinde hipotalamustan salınan hormonlar, ön hipofizden ve plasentadan salınan çeşitli peptidler ve glikoproteinler yer alır. Bu hormonların spesifitesi hedef doku membranındaki reseptör varlığına bağlıdır.

Hücre zarındaki reseptör protein aktif ajan gibi davranabilir ve bağlanma sonrası iyon kanalı ya da enzim gibi işlev görebilir. Diğer yandan reseptör proteinini hücre içi mesajcı fonksiyonu göre aktif bir ajanla eşleşmiş olabilir. Hücre içi ana moleküller; siklik adenosin monofosfat (cAMP), inositol 1,4,5 (IP₃) ve 1,2-diaçilgliserolü (1,2-DG), Ca⁺², siklik guanozin 3',5'- monofosfat (cGMP)'tır (59).

FSH, LH, hCG iki tane birleştirilmiş G-protein reseptör üzerinden etki eder. Gonadotropin reseptörleri tipik olarak yaygın, lösinden zengin tekrarlayan bölgeler içeren ekstrasellüler parça bulunur. Bu parça; ilgili hormonu tanıma ve bu hormona yüksek afiniteli bağlanmayı sağlar. LH reseptörü (LHR) hem LH'yı hem de hCG'yi tanırken, FSH reseptörü (FSHR) FSH'ya özgüdür. LHR'nin eksprese olduğu hücreler teka, leydig, granüloza ve luteal hücrelerdir. FSHR ise granüloza ve sertoli hücrelerinde eksprese olmaktadır (60).

G proteini ya da belli bir reseptörün fonksiyonunda kayba yol açan mutasyonlar hormon eksikliği sendromlarına neden olurlar. Örnekler arasında TSH reseptörü-hipotiroidizm, LH reseptörü-erkek psödohermafroditizm, FSH reseptörü-prematür ovaryen yetmezlik sayılabilir.

2.1.4. Gonadotropinlerin düzenlenmesi

Hedef doku yanıtını arttırmada ya da azaltmada, peptid hormon mekanizmalarının düzenlenmesi önemli bir biyolojik sistemdir. Tropik hormonların aktivitesinin düzenlenmesi 4 ana başlığa ayrılabilir.

1. Otokrin ve parakrin düzenleyici faktörler
2. Tropik hormonların heterojenitesi
3. Reseptörlerin yukarı-aşağı regülasyonu
4. Adenilat siklaz regülasyonu

İzoformlar, farklı DNA promotor aktiviteleri, RNA bölünmelerinde farklılıklar, nokta mutasyonlar ve posttranslasyonel karbonhidrat değişiklikleri gibi çeşitli yollarla oluşurlar (11, 61, 62). Varyasyonlar; yapıyı ve metabolik klirensi değiştirerek bağlanmayı ve aktiviteyi etkileyebilir (63).

Glikoproteinler (FSH, LH, TSH, hCG) α ve β subunitleri adı verilen glikolize polipeptid alt ünitelerden oluşurlar. α ve β alt üniteleri kovalent olmayan bir ilişkiyle sıkıca bağlıdır. Üç boyutlu yapı ve alt ünitelerin aktif konformasyonu internal disülfid bağlarıyla sağlanmaktadır (64). İnsanlardaki tüm glikopeptidler (FSH, LH, TSH, hCG) benzer yapıya sahip olan ortak bir α zinciri içerirler. β zincirleri aminoasit ve karbonhidrat açısından farklılık gösterir ve hormonların spesifik biyolojik aktivitesini belirlerler (65).

FSH β subüniti için gen 11p13 kromozomunda yer alır. Hipofizde, ekspresyonu belirgin olarak aktivin tarafından etkilenmektedir. GnRH' nin artan uyarımıyla, aktivinin etkisi bağlayıcı proteini olan follistatin tarafından baskılanır; follistatin sekresyonu ayrıca GnRH ve aktivin tarafından aktive edilir. Aktivin sonrasında inhibinle antagonize edilir (66-68).

LH, hCG ve TSH'nın β subünitlerini kodlayan genler 19q13.32 kromozomu üzerinde bulunurlar (69). β -LH geni plasentada eksprese edilmemektedir. LH ve FSH'nın kod sekanslarında bozulmalara neden olan kalıtsal hastalıklar çok nadirdir (70).

2.1.5. Gonadotropinlerin teşhis ve tedavi uygulamaları

İnfertilite tedavisinde ovaryen stimülasyonunda; overlerden çok sayıda ve kaliteli oosit elde edilmesi için kullanılır. hCG, uzun zaman boyunca FSH ve TSH'nın aktif kısımlarının uzun yarılanma ömrüne sahip analoglarının üretilmesinde etkin olarak kullanılmıştır (71-75). α N-terminalinin N-glikozilasyonlu iki noktasının uzatılması FSH'nın yarı ömrünü uzatmak için başarılı bir yöntemdir. Glikozile bir FSH analogu (follitropin alfa, beta, delta)

meydana gelir (76). Follitropin alfa, döngünün ortasında tespit edilen doğal FSH izoformuna benzerken, follitropin beta erken foliküler fazda tespit edilene benzerdir (77). Follitropin delta ise fetal retina hücresi dizisinden üretilmiştir (78).

Hipotalamus-hipofiz-gonadal eksen fonksiyonunu izlemek için hipofizden elde edilen gonadotropinlerin serum konsantrasyonlarının immünassay bazlı ölçümleri geniş bir alanda kullanılmıştır. Örneğin; hCG gebelik tayin yöntemi, trofoblastik kanserleri izlemek, Down Sendromu'nun olduğu gebelikleri ortaya çıkarmak için kullanılabilir (79-81).

LH'nın Alzheimer hastalığının etyolojisinde ve ilerlemesinde rol oynadığını gösteren bazı çalışmalar vardır. Amiloid β prokürsör proteini oluşumunda ve depolanmasında LH'nın rol oynadığı gösterilmiştir (82).

2.1.6. Gonadotropin reseptörleri

2.1.6.1. Gonadotropin reseptör proteinleri

FSHR 678 aminoasit (aa) uzunluğundayken, LHR 675 aa uzunluğundadır. Bu iki gonadotropinin reseptörlerinin aa leri, 'başlatıcı' olarak kabul edilen metioninden itibaren numaralanmıştır (83-85). FSHR için en uygun kırılma noktası 17 aa uzunluğundaki sinyal peptidi iken LHR için 24 aa uzunluğundaki sinyal peptididir. Bu yüzden bu reseptörlerin N- terminalleri LHR' de leu25, FSHR'de cys28 olarak belirlenir (86).

LH ve FSH reseptörlerinin ekstrasellüler bölgelerinin aa dizilimi %46 aynıdır ve bu bölge özel bir önem taşır. Çünkü bu reseptörlerin ilgili ligandları yüksek afinite ve özgüllük ile bağlayan sistein bakımından zengin bir bölge olan N-terminal ve sinyal iletiminden sorumlu yedi transmembran alanı içerir. LHR ve

FSHR'nin hücre dışı alanları, bir dizi düzensiz lörin bakımından zengin tekrarlar (LRR) barındıran yapısal motifin birçok kopyasının meydana getirdiği bölgeyi ve menteşe bölgesi olarak da bilinen sisteinden zengin bir C-terminal bölgeyi içerir.

FSHR'nin 1-268 aa leri FSH'yı güçlü bir şekilde bağlayabiliyor olması FSHR'nin menteşe bölgesinin bağlanmada yer almadığını gösterir. Aynı şekilde LHR'nin birçok mutasyonu sayesinde LH'nin bağlanması için de menteşe bölgesi gerekli değildir. Bu bölgede yüksek derecede korunmuş tirozin aminoasidi bulunur. Gonadotropin reseptörlerindeki bu aminoasidin mutasyonu hormon bağlanmasını ve aktivasyonunu azaltır (87, 88).

2.1.6.2. Gonadotropin reseptör genleri ve transkriptler

2.1.6.2.1. Genler

İnsan LHR ve FSHR, kromozom 2'nin kısa kolundaki tek bir kopya gen tarafından kodlanır ve 200 kb ile ayrılır. Bunlar, bu bölgede bulunan sadece iki fonksiyonel gendir.

LHR 70 kb'lik bir genomik DNA tarafından kodlanır ve 11 ekzondan oluşur. Karboksil terminalindeki terminal 47 amino asit kalıntısı hariç tümü, 1-10 eksonlar tarafından kodlanır ve reseptörün geri kalan kısmı, ekson 11 tarafından kodlanır. Transkript boyutları, farklı türler arasında değişir.

FSHR, 190 kb genomik DNA tarafından kodlanır ve 10 ekzon içerir. FSHR'nin amino terminal alanının çoğunluğu ekson 1-9 tarafından kodlanır. Reseptörün transmembran ve karboksil terminal bölgesini içeren geri kalan kısmı ekson 10 tarafından kodlanır.

2.1.6.2.2. Transkriptler

LHR ekspresyonunun hem transkripsiyonel hem de transkripsiyon sonrası mekanizmalar yoluyla daha belirgin bir şekilde düzenlendiği görülmektedir.

FSH reseptör ekspresyonu, esas olarak transkripsiyonel düzeyde düzenleniyor gibi görünse de, düzenlemenin transkripsiyon sonrası süreçler yoluyla da meydana gelebileceğini gösteren raporlar vardır (88).

2.1.6.3. Follitropin ve luteotropin reseptörlerinin mutasyonları

LHCGR ve FSHR için üreme fenotipleri ile ilgili kendiliğinden meydana gelen birkaç mutasyon rapor edilmiştir. LHCGR mutasyonlarında Asp578'in Gly, Glu, Tyr veya His gibi aminoasitlerin yer değiştirmeleri, erkeklerde ailesel olarak erken ergenliğe yol açar. Asp578Gly'nin LHCGR'nin en yaygın aktive edici mutasyonudur. Şimdiye kadar tanımlanan tek somatik mutasyon olan Asp578His'in, hiperplazi ve leydig hücreli adenomdan sorumlu olduğu gösterilmiştir (88).

LHCGR'nın polipeptid zincirindeki mutasyonlar fonksiyon kaybı veya aktivasyonun kaybolmasına yol açabilecek olup başlangıç noktası mutasyonlarıdır. Leydig hücre hipoplazisi ve psödohermafroditizm, 46 XY kromozomu taşıyanlarda en şiddetli fenotiptir. Daha ılımlı fenotipler ise mikropenis ve hipospadiastır (89, 90). Öte yandan, fonksiyon kaybına neden olan LHR mutasyonlarının birçoğu, erkek üreme fonksiyonunun gelişimsel veya diğer bozukluklarına yol açan ekson 10'da meydana gelir.

LHCGR'nin aktive edici mutasyonları nokta mutasyonları olup esas olarak, transmembran alanı ve karboksil terminal bölgeyi kodlayan ekson 11'de meydana gelir ve transmembran heliks 6 ve hücreler arası halka 3'te lokalizedir (88).

Ekson 10 tarafından kodlanan aa leri bulunmayan bir LHCGR yapısı hücre yüzeyine uygun şekilde taşınır. Bu reseptör LH ve hCG'yi kuvvetle bağlar (LHCGR) (91). LHCGR ile ilgili olarak, bildiğimiz kadarıyla, daha sık araştırılan SNP, ekson 1'de 18. pozisyonda iki amino asidin varlığından veya yokluğundan oluşur. Bu polimorfizm ile meme kanseri başlangıcı ve serumda yüksek LH düzeyi arasında bir korelasyon var gibi görünmektedir (92).

Oligo-amenore ve infertil olan kadınlarda LH reseptörünün inaktive edici mutasyonları, FSHR'de de üreme fonksiyonlarıyla ilişkili aktive ve inaktive edici mutasyonlar bildirilmiştir. Spesifik olarak, FSHR mutasyonları primer amenore, ovaryen hiperstimülasyon sendromu, primer ovaryen yetmezlik ve infertilite ile ilişkilendirilmiştir (88).

FSHR'nin inaktive edici mutasyonları (örn; ala189val ve pro419thr) bulunan homozigot dişilerde görülen hipergonadotropik hipogonadizm en şiddetli fenotiptir. Burada follikül olgunlaşması kısıtlanır ve FSH'ya cevap tamamen kaybolmuştur (89, 90, 93).

Heterozigotlarda görülen sekonder amenore, gonadotropin rezistansı ve sadece antral safhaya kadar olabilen follikül gelişmesi daha ılımlı fenotipler olarak görülür. FSHR mutasyonlarının çoğu FSHR'nin plazma membranına geçişini azaltır ve mevcut özelliğiyle LHCGR'ye benzerdir. FSH bağlanma yoksunluğu ve buna bağlı olarak cevapsızlık meydana gelir (94).

FSHR için ekson 10 üzerinden dört aktive edici mutasyonu tariflenmiştir. Thr449ile, asp567asn ve thr449ala mutasyonları, tekrarlayan ovaryen hiperstimülasyon sendromu olan kadınlarda görülmüştür (95). Tek olarak

ser680asn'de oluşmuş polimorfizmin, kontrollü ovaryen hiperstimülasyonda kullanılan ilaç dozunu anlamlı olarak arttırdığı gösterilmiştir (96).

FSHR SNP'lerinin dağılımının çeşitli popülasyonlarda farklı olduğu bildirilmektedir. Ser680 varyantı, azalmış reseptör duyarlılığının bir sonucu olarak, Asn680 varyantını taşıyanlara kıyasla Ser680 varyantının taşıyıcılarında bazal FSH seviyelerinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (92).

2.2. Polimorfizm

Kısıtlayıcı enzimin aktivitesiyle üretilen değişik uzunluklardaki DNA parçalarını yansıtan spesifik bantlar, southern blot testi tarafından gösterilir. Spesifik bir nokta mutasyon gösterdiğinde DNA dizilerinde farklılıklar oluşur ve bunlara tek nükleotid polimorfizmi (SNP's) ya da polimorfizmler denir. Polimorfizm kalıtımı Mendelyan' a göre yönetilir (97).

Gonadotropinlere yanıtı test etmek için genetik varyasyonlar değerlendirilebilir. Gonadotropinlere yanıt ve klinik arasında ilişki varsa, özelliği taşıyan belirli bir varyant popülasyonda şans eseri beklenenden daha sık görülecektir. Bu tür analizler, bağlantı dengesizliği (LD) adı verilen kromozomal bir özelliğe dayanmaktadır. LD, genel popülasyonda birbirine yakın yerleştirilmiş iki DNA varyantının, daha uzakta bulunan iki varyanttan daha sık birlikte gözlemlenme eğiliminde olduğuna atıfta bulunur. Varyantlar, tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) olarak bilinen tek baz değişiklikleri olabilir veya bir veya daha fazla bazın eklenmesi veya silinmesi olarak ortaya çıkabilir. SNP'ler, örnek popülasyondaki sıklıkları açısından gen mutasyonlarından farklıdır. Bir genetik varyasyon, %1'den daha yüksek bir frekansta meydana geldiğinde bir SNP olarak kabul edilir (92).

2.3. Ovaryen stimölasyon ve ovaryen stimölasyona yanıtın sınıflandırılması

Ovaryen stimölasyon (OS), yardımcı üreme tedavilerinde eksojen gonadotropin uyarısı ile overlerden en ideal sayıda ve kalitede oosit elde etmek amacıyla aynı siklusta çok sayıda follikölün geliştirilmesi tekniğidir. Birbirinden farklı özellikler taşıyan birden fazla protokolle gerçekleştirilebilir ve her hasta için bireysel özellikler göz önüne alınarak planlama yapılmalıdır.

Eksojen gonadotropin olarak FSH, HMG preparatları tek başına veya bir arada kullanılabilir, yardımcı olarak LH preparatları eklenebilir (98). Uygulanan gonadotropin dozu 75-450 IU arasında değişmekte olup; normal yanıt alınacağı düşünülen hastalarda OS' ye 150-225 IU/gün ile başlanır (99, 100). Ardından follikölometri ve serum E₂ düzeylerinin takipleri yapılır. Folliköllerin 17-19 mm boyutlarına ulaştığı dönemde ovulasyon tetiklenir.

Over rezervi bozulmuş veya ekzojen gonadotropin stimölasyonuna zayıf ovaryen yanıtı (POR) olan hastaların tedavisi yıllardır uzmanları zorlayan konular içerisinde yer almaktadır.

Patofizyolojinin sınırlı anlaşılmasının yanı sıra, yardımcı üreme teknolojisinde (ART) genel olarak; hayal kırıklığı yaratan sonuçlar ve zayıf yanıt veren hasta tanımında geniş heterojenlik mevcuttur. Bu yüzden sınıflandırmaya ihtiyaç duyulmuştur.

2.3.1. Folliköl oosit indeksi (FOI) ve folliköl output rate (FORT)

Folliköl oosit indeksi (FOI), ovaryen stimölasyon sonunda OPU ile toplanan toplam oosit sayısı ile bazal antral folliköl sayısı arasındaki orandır

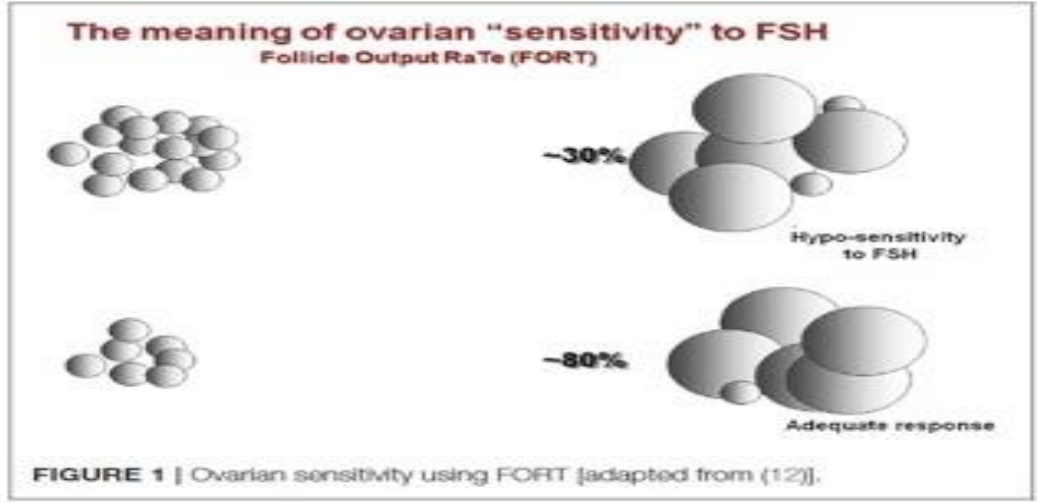
(Şekil 6). Gonadotropin stimülasyonuna karşı ovaryen yanıtı ele almak için kullanılan alternatif bir yaklaşımdır. FOI; toplanan oosit sayısı ile ilişkili olduğu için trigger ilacı, saati, OPU tekniği ve OPU'nun zorluk derecesinden etkilenebilir.

$$\text{Follicle-to-Oocyte Index (FOI)}^* = \text{Oocyte Number} / \text{Antral Follicle Count} \times 100$$

Normal FOI (>50%)	1	
	2	
Low FOI (≤50%)	3	
	4	

Şekil 6: FOI, 1) Stimülasyon başlangıcında alınan oosit sayısının AFC ile tutarlı olduğu normal FOI'li bir hastayı göstermektedir. 2) Alınan oosit sayısının suboptimal olduğu (4 ile 9 arasında) ancak normal bir Folikül-Oosit indeksi (FOI > %50) olan bir hastayı göstermektedir. 3) Hem hipo yanıtı hem de suboptimal oosit sayısı olan bir hastayı göstermektedir. Bu hastada, stimülasyonun başlangıcında AFC'si 15 olan (FOI %50) olmasına rağmen sadece 7 oosit toplanmıştır. 4) Hem hipo yanıtı hem de zayıf yanıtı olan bir hastayı göstermektedir (101).

FORT, FSH uygulamasına yanıt olarak elde edilen preovulatuvar follikül sayısı ile önceden var olan küçük antral follikül havuzu arasındaki oran ile hesaplanır (Şekil 7). Dolayısıyla bu oranda toplanan oosit sayısının önemi olmadığından OPU ile ilişkili olabilecek faktörlerden etkilenmez ve FOI'ye göre daha objektif olarak değerlendirilebilir (102). Düşük FORT endeksleri de azalmış over rezervi belirteçleri ile ilişkilidir (103).



Şekil 7: FORT

FORT (folikül output rate) ve FOI (folikül-oosit indeksi) gibi indeksler, önceki bir ovaryen stimülasyonu sırasında over rezervinin uygun şekilde araştırılıp araştırılmadığını belirlemek için kullanılabilir. Gonadotropinleri ve/veya reseptörlerini etkileyen yaygın polimorfizmlerin varlığının test edilmesi, düşük cevap riski taşıyan hastaları belirlemek için de düşünülebilir. En az bir öploid embriyo elde etmek için gereken minimum oosit sayısının bireyselleştirilmiş tahmini, danışmanlık ve tedavi planlamasına yardımcı olabilir (104).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız retrospektif ve iki merkezli olarak tasarlanmıştır. Çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan, 25/01/2021 tarih ve 65 karar numarasıyla onay alınmıştır. Etik kurul onay belgesi ekte sunulmuştur.

3.1. Hasta seçimi

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yardımcı Üreme Teknikleri Merkezi'ne ve Novaart Tüp Bebek ve Kadın Sağlığı Merkezi'ne Ocak 2018 ve Aralık 2020 tarihleri arasında NGS ile QIAseq Targeted DNA Custom Panel (CDHS-13614Z-321 kodlu kit) "infertilite paneli testi" bakılmış ve IVF tedavisine devam etmiş olan infertil hastalar çalışmaya dahil edildi. Infertilite paneli testi yapılan 160 hastadan IVF tedavisine devam ettiği görülen 128 kişiydi. Hastaların yaş, BMI, infertilite süresi, bazal hormon düzeyleri, ultrasonografik verileri, gebelik sonuçları, tedavide kullanılan ajanlar ve dozları, stimülasyon süreleri, embriyo transfer sayıları gibi arşivlenmiş demografik ve tedavi siklusu verileri kullanıldı. Hastalarda ovaryen stimülasyona yanıt yani FORT ve FOI'nin düşük veya normal olması durumu ve bunun yanında gebelik sonuçları, demografik verilerine etkileri; genetik varyasyonlar, reseptör polimorfizmlerine göre karşılaştırıldı.

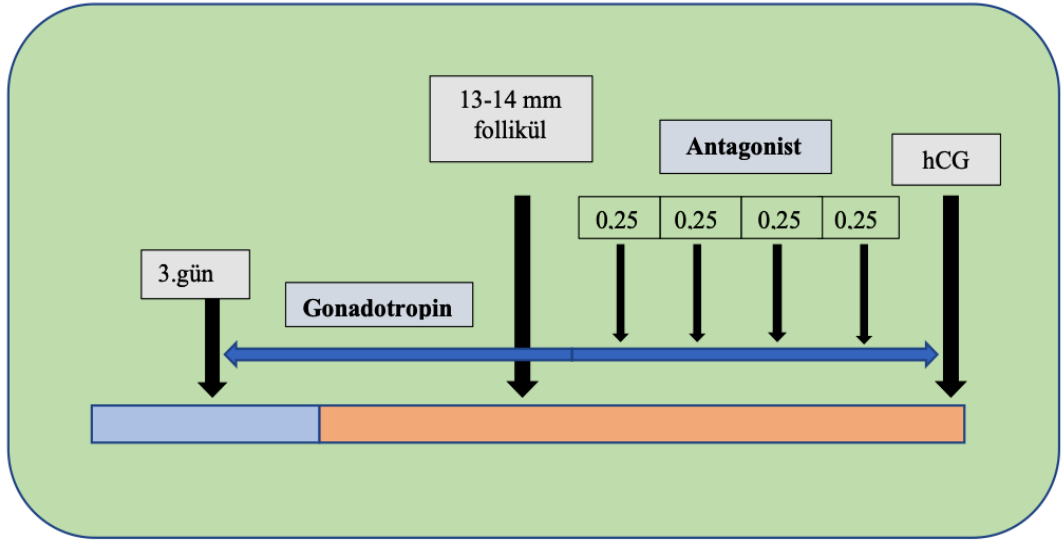
3.2. Tedavi siklusu, serum hormon düzeyleri ve TV-USG

IVF tedavisi için başvuran hastalardan menstrual sikluslarının 3. Gününde yapılan TV-USG' de AFC sayısı, periferal kandan alınan bazal FSH, LH, E₂

düzeyleri ve trigger günündeki E₂ düzeyi Beckman Coulter OV Monitor (Brea, CA, A.B.D.) ile ölçülmüş veriler kaydedildi.

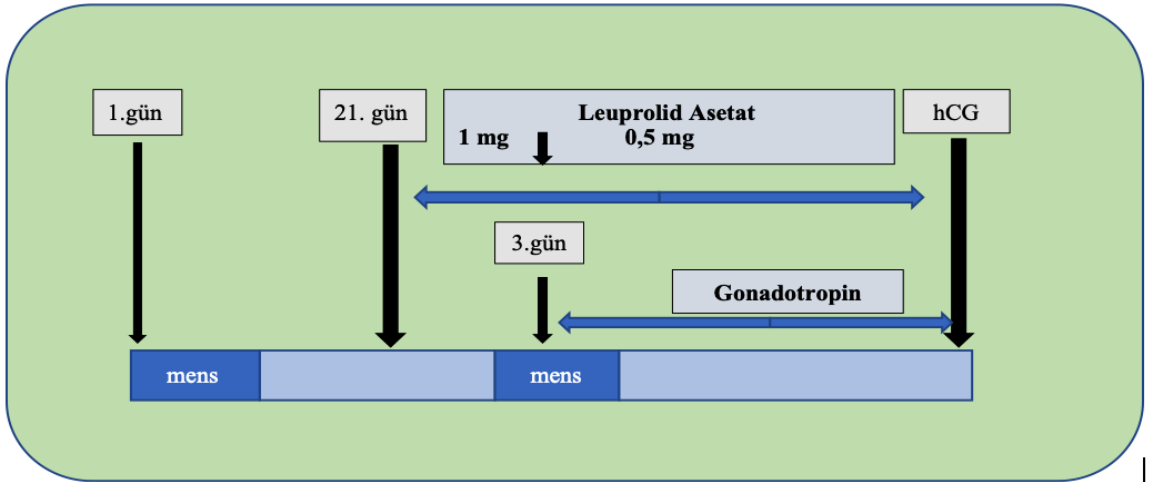
Ovaryen stimülasyon için hastaların 19'unda rekombinant FSH (Gonal-F®; Merck Serono, İstanbul, Türkiye; ve Puregon®; Merck Sharp Dohme, Türkiye), 23'ünde insan menopozal gonadotropin (hMG) (Menogon®, 75 IU, Ferring, Türkiye, Menopur®, 75 IU, Ferring, Türkiye), 80'inde her ikisinin kombinasyonu kullanıldı. 6 tanesinde ise FSH ve lutropin alfa (Luveris®, 75 IU, Merck Serono, İstanbul, Türkiye) beraber kullanıldı. Gonadotropinlerin başlangıç ve idame dozu hastaların yaşı, vücut kitle indeksi, bazal AFC ve FSH seviyelerine bağlı olarak bireyselleştirildi. Anovulasyon ve oligoovulasyon olan hastalarda IVF endikasyonu olarak ovulatuvar faktör kabul edildi.

Hastaların %96' sında antagonist protokol, kalan %4' ünde ise uzun veya mikrod doz flare-up protokol uygulandı. Antagonist protokol uygulanan hastalarda menstrual siklusun 3. Gününde rekombinant FSH (Gonal-F; MerckSerono, İstanbul, Turkey) ve/veya hMG (Menogon®, 75 IU, Ferring, Türkiye, Menopur®, 75 IU, Ferring, Türkiye, Merional®, 75 IU, IBSA, Türkiye) başlandı. Folliküller 13-14 mm' ye ulaştığında günlük 0,25 mg setrorelis (Cetrotide; Asta Medica, Frankfurt, Germany) uygulandı ve hCG gününe kadar devam edildi (**Şekil 8**).



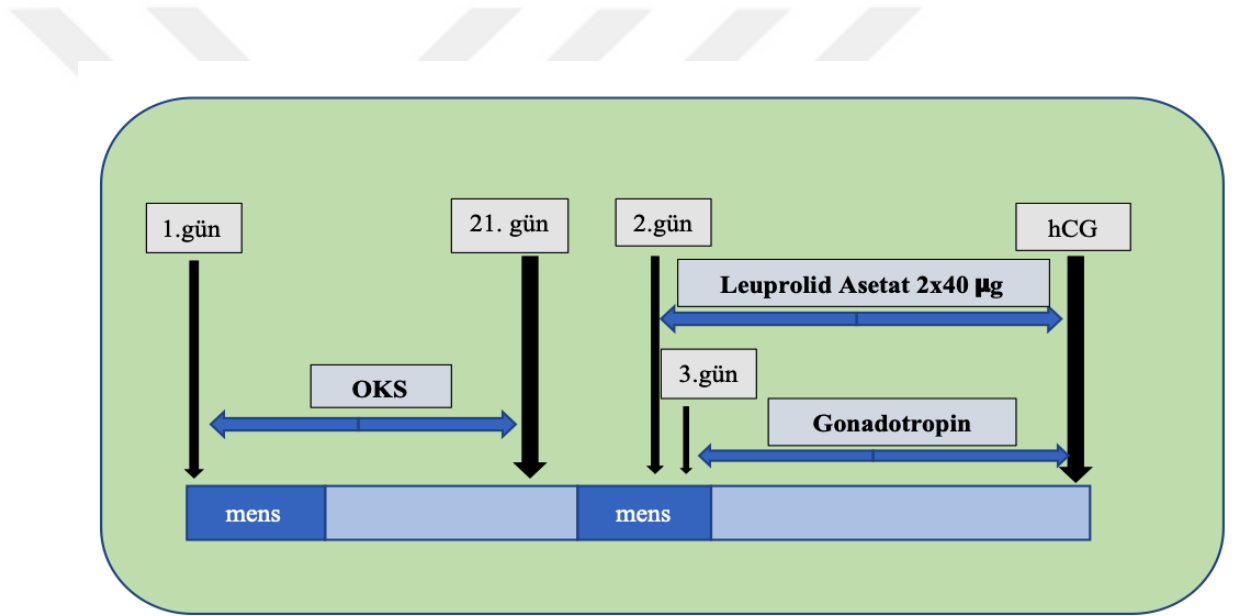
Şekil 8: Antagonist protokol

Uzun protokolle stimülasyon uygulanan hastalara önceki siklusun midluteal fazında 1 mg löprolid asetat uygulandı. $E_2 < 50$ pg/ml olduğunda eksojen rekombinant FSH (Gonal-F; MerckSerono, İstanbul, Türkiye) ve/veya hMG (Menogon®, 75 IU, Ferring, Türkiye, Menopur®, 75 IU, Ferring, Türkiye, Merional®, 75 IU, IBSA, Türkiye) başlandı ve löprolid asetat (Lucrin; Abbott, Cedex, Fransa) 0,5 mg'a düşürülerek uygulandı ve bu uygulama hCG gününe kadar devam edildi (Şekil 9).



Şekil 9: Uzun protokol

Mikrodoz flare up protokolünde hastalara önceki siklusun 1. gününde düşük doz oral kontraseptif başlandı ve 21 gün devam edildi. Menstruasyonun 2. gününde löprolid asetat (Lucrin; Abbott, Cedex, Fransa) (80 µg/gün), 3. günde ise rekombinant FSH (Gonal-F; MerckSerono, İstanbul, Türkiye) ve/veya hMG (Menogon®, 75 IU, Ferring, Türkiye, Menopur®, 75 IU, Ferring, Türkiye, Merional®, 75 IU, IBSA, Türkiye) kullanımına başlandı ve hCG gününe kadar devam edildi (Şekil10).



Şekil 10: Mikrodoz- flare up protokolü

Foliküler gelişimin izlenmesi ve gonadotropin doz ayarlamaları, seri ultrason ve serum E2 ölçümleri ile yapıldı. Folikül çapı ≥ 17 mm olan 2 veya daha fazla dominant follikül olduğunda Rekombinant hCG (Ovitrelle®, 250 mcg ön fileto şırınga, Merck Serono, Türkiye) ile ovulasyon tetiklendi. Endometrial kalınlık, hCG uygulamasının yapıldığı gün transvajinal ultrasonografi ile ölçüldü ve kaydedildi.

hCG uygulamasından 36 saat sonra TV-USG rehberliğinde oosit toplanması yapıldı ve tüm kadınlara midazolam (Dormicum®, Roche, Türkiye) ile intravenöz sedasyon uygulandı. Metafaz II (M2) oositleri, fertilizasyon başarısızlığı riskini en aza indirmek için geleneksel IVF yerine ICSI ile döllendi. Bunun için sperm örnekleri gradient tekniği ile hazırlandı. Hastanın embriyoları 3-5.gün duruma göre ve kanuni regülasyona göre 1-2 adet suprapubik ultrason eşliğinde transfer edildi. Luteal faz 90 mg intravajinal progesteron jel (Crinone 8% gel®, Merck Serono, Türkiye) ile desteklendi. Hastalar 14. günde gebelik testi için çağrıldı, sonucu pozitif olanlarda luteal faz desteği 12. haftaya kadar devam edildi.

3.3. NGS ve infertilite Paneli Testi

Hastalardan alınan 2 cc periferik kan örneklerinden QIAamp DNA Blood Mini Kit (Cat no 51304) kullanılarak DNA ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Fragmentasyon aşamasında elde edilen genomik DNA örneği, kontrollü bir multi enzim reaksiyon ile fragmanlarına ayrılır, son düzeltme yapılır ve A-tail eklenir. Hazır DNA fragmanları; kullanılacak sekans platformuna spesifik adaptörler (UMI ve sample index içeren) ile 5' uçlarından spesifik PCR reaksiyonu ile bağlanır.

Yeni nesil dizileme (Next Generation Sequencing; NGS) işlemi için izole edilen DNA' lar, QIAseq Targeted DNA Custom Panel (Cat no 333525) kiti kullanılarak kütüphane haline getirilmiştir. DNA kütüphanelerinin Illumina MiSeq sekans platformu kullanılarak dizileme işlemi gerçekleştirilmiştir. Hasta örneklerinden elde edilen dizi verilerinin analize uygunluğunun değerlendirilmesi

ardından varyant analizi ve saptanan varyantların klinik önemini değerlendirilmesinde QCI Analyze Universal 1.5.0 ve QCI Interpret (Qiagen) veri tabanları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Varyantların raporlanması politikası, hastanın teşhisi bağlamında önceden kullanıcı tarafından erişilen değişiklik sınıflandırmalarını dikkate alır. Hastanın tanısında değişiklik daha önce gözlenmişse, önceki kullanıcı seti değerlendirmeleri rapor edilecektir. Sistem, hastanın tanısında bu değişikliği daha önce tespit etmemişse, QCI Interpret, GnomAD popülasyon allel frekansı $>1\%$ olan değişiklikler, 5% allelik fraksiyonun altındaki değişiklikler hariç, QCI tarafından hesaplanan ACMG ve AMP sınıflandırması ile tüm değişiklikleri, genler arası bölgeye düşen yani 4. kademe olarak sınıflandırılan değişiklikler rapor edecektir. Raporlama politikası, tesadüfi bulguların raporlanmasını dikkate alır. Alel fraksiyonu $>40\%$ olan bir değişiklik bir ACMG59 genine düşerse ve değişikliğin değerlendirmesi (olası) tercih edilen ACMG59 hastalık fenotipi için patojenik ise, değişiklik ACMG59 tercih edilen fenotipi için (olası) patojenik olarak rapor edilecektir. QCI Interpret, alel fraksiyonu sağlanmadığında herhangi bir varyantın muhtemelen üreme hücresi olduğunu varsaymaz. Bu nedenle, alel fraksiyonu belirtilmediğinde, tüm varyantlar somatik varyantlar olarak sınıflandırılır.

NGS yöntemiyle değerlendirilen infertilite paneli testi içerisinde yer alan genler **Tablo 1**'de gösterilmiştir.

Tablo 1: İnfertilite Panelinde NGS Yöntemiyle Bakılan Genler ve Özellikleri

İnfertilite Panelindeki Genler	Lokasyon	Fonksiyonları ve Disfonksiyonları	REFERANS
AR (NM_000044.6)	Xp12	Androjen duyarsızlığı	(105)
BMP15 (NM_005448.2)	Xp11.2	Foliküler aktivasyon, gelişim ve maturasyon	(106)
CFTR (NM_000492.4)	7q31.2	Ovulasyon	(107)
CYP21A2 (NM_000500.7)	6p21.33	Adrenal hiperplazi, hiperandrojenizm	(108)
FSHB (NM_000510.2)	11p14.1	Foliküler aktivasyon, gelişim ve maturasyon	(109)
FSHR (NM_000145.3)	2p21-p16	Foliküler aktivasyon, gelişim ve maturasyon	(110)
LHB	19q13.33	Hipogonadotropik hipogonadizm	(111)
LHCGR (NM_000233.3)	2p16.3	Luteinizan hormon direnci	(112)
POU1F1 (NM_001122757.2)	3p11.2	Pitüiter hormon eksikliği	(113)
ZP1 (NM_207341.3)	11q12.2	Oosit matürasyonu	(114)

Hastanemiz immünoloji bilim dalı yerel serverda infertilite paneli bakılan hastaların arşivlenmiş verileri kullanılmıştır.

3.4. İstatiksel değerlendirme

Verilerin değerlendirilmesi SPSS for Windows 26.0 (Statistical Package of Social Science) paket program kullanılarak istatistiksel olarak analiz edildi. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Kolmogorov-Smirnov) kullanılarak incelendi. Normal

dağılıma uymayan sayısal veriler medyan ve çeyrekler açıklığı olarak sunuldu, kategorik veriler ise yüzde (%) olarak verildi. Bağımsız gruplar arasında normal dağılıma uymayan iki grup verileri için “Mann-Whitney U” testi kullanıldı. Bağımsız kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki-kare veya Fisher’in kesin sonuçlu olasılık testi kullanılarak değerlendirildi. Elde edilen sonuçlara göre verilerin istatistiksel anlamlılık değeri $p<0.05$ olarak anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

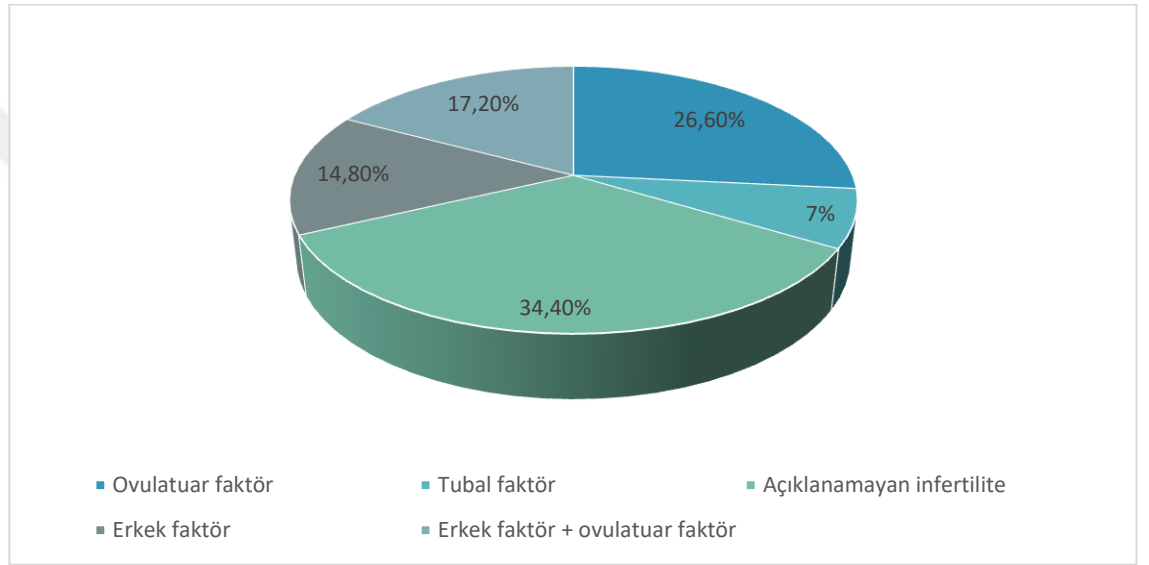
Tüm hastaların demografik ve klinik verilerinin ortanca ve 25-75 değerleri sırasıyla yaş için 32 yıl (28-35), BMI için 24,0 kg/m² (22,1-26,3), infertilite süresi 3,5 yıl (2-6) olarak tespit edildi. Hastaların tüm demografik ve klinik özellikleri **Tablo 2**'de gösterilmiştir.

Tablo 2: Hastaların Demografik ve Klinik Özellikleri

Parametre (n=128)	Tanımlayıcı Değerler (O) (25-75)
Yaş (yıl)	32 (28-35)
BMI (kg/m ²)	24,0 (22,1-26,3)
İnfertilite süresi (yıl)	3,5 (2-6)
Bazal FSH (mIU/ml)	7,6 (6,2-9)
Bazal LH (mIU/ml)	5 (3,3-7,7)
Bazal E ₂ (pg/ml)	42,5 (31,3-64,8)
Bazal AFC	8,5 (5-14)
FSH başlangıç dozu (IU)	225 (150-225)
LH başlangıç dozu (IU)	75 (75-93,8)
HMG başlangıç dozu (IU)	75 (75-150)
Toplam FSH dozu (IU)	1950 (1500-2475)
Toplam LH dozu (IU)	1012,5 (862,5-1275)
Toplam HMG dozu (IU)	1200 (750-1500)
Toplam doz (IU)	2662 (2025-3356,3)
Trigger günü dominant follikül	4 (2-7)
Trigger günü E ₂ (mIU/ml)	1950,5 (1343,8-3783,8)
Trigger günü endometrial kalınlık (mm)	10,3 (9-12)
Stimülasyon süresi (gün)	10 (9,3-12)
ET sayısı	2 (1-2)
Toplam oosit sayısı	7 (4-13)
M2 sayısı	5 (2-9,8)

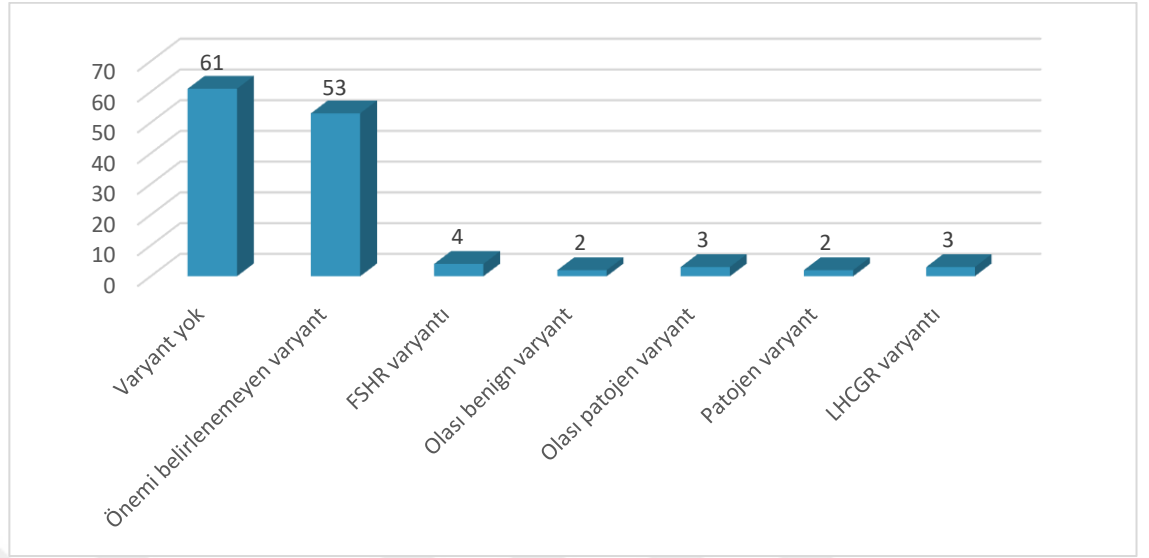
NOT: Veriler; O=ortanca (25. ve 75. persentil) şeklinde verilmiştir.

Çalışmadaki hastalara yardımcı üreme teknikleri merkezinde IVF tedavisi uygulanmıştır. Tedavi başlanan hastaların 34'ü (%26,6) ovulatuvar faktör, 9'u (%7) tubal faktör, 44'ü (%34,4) açıklanamayan infertilite, 19'u (%14,8) erkek faktör, 22'si (%17,2) ovulatuvar ve erkek faktör endikasyonuna sahipti (**Grafik 1**).



Grafik 1: IVF Tedavisi Başlanan Hastaların Endikasyonlarının Dağılımı

İnfertilite paneli testi yapılan hastaların %47,7'sinin “varyant yok”, %41,4'ünün “kesin önemi belirlenemeyen”, %1,6'sının “olası benign”, %2,3'ünün “olası patojen”, %1,6'sının “patojen” varyant, %3,1'inin “FSHR”, %2,3'ünün “LHCGR” varyantına sahip olduğu tespit edildi (**Grafik 2**).



Grafik 2: İnfertilite Paneli Test Sonuçları

Patojen varyantlar grubunda; CFTR (Exon 12, c.1624G>T, aminoasit p.G542), BMP15 (Exon 1, c.202C>T, aminoasit p.R68W), olası patojen varyantlar grubunda; AR (Exon 1 Nukleotit, c.170T>A, aminoasit p.L57Q), CFTR (Exon 4, c.443T>C, aminoasit p.I148T), CFTR (Exon 21, c.3454G>C, aminoasit p.D1152H) yer almaktaydı.

Reseptör polimorfizmi içinde yer alan FSHR ve LHCGR polimorfizmlerinin mutasyonları, protein değişiklikleri ve allel frekansları Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3: Hastalarda Tespit Edilen FSHR ve LHCGR Polimorfizmlerinin Özellikleri

Gen	Mutasyon	Protein değişiklikleri	Allel Frekansı
FSHR	c.737C>T, c.847C>T	p.Ala246Val, p.Arg246Val	%52, %68
	c.500C>T	p.Thr167Ile	%50
	c.323_dupTGCTCTACATCAACC	p.Leu108_N112dup	%44
	c.1252G>A	p.Ala418Thr	%46
LHCGR	c.625C>T	p.His209Tyr	%50
	c.81G>A	p.Glu27Glu	%40
	c.1985A>G	p.Asn662Ser	%50

Genetik varyanta sahip olanlarla olmayanların karşılaştırılması **Tablo 4**'te gösterilmiştir. Hastalardan 67'sinde genetik varyant bulunmaktaydı. İki grubun da yaşlarının, BMI değerlerinin, infertilite sürelerinin, bazal E₂ düzeylerinin, tedavi başlangıç dozlarının, trigger günü endometrial kalınlıklarının, stimülasyon sürelerinin, ET sayılarının, stimülasyon sonunda toplanan oosit sayılarının, M2 sayılarının ortanca değerleri benzerdi. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı tespit edildi ($p>0,05$).

Her iki grubun değişkenleri arasında anlamlı fark bulunmamasına rağmen genetik varyanta sahip olan grupta bazal FSH ve bazal LH düzeylerinin ortanca değerlerinin daha yüksek olduğu tespit edildi.

Tablo 4: Genetik Varyant Sonuçlarının Demografik Özelliklerle İlişkisi

Parametre	Genetik Varyant (n=128)		p Değeri
	Var (n=67)	Yok (n=61)	
Yaş (yıl)	32 (29-36)	31 (28-35)	0,15
BMI (kg/m ²)	23,9 (21,7-26,8)	24,3 (22,8-26)	0,47
İnfertilite süresi (yıl)	4 (2-7)	3 (2-5)	0,83
Bazal FSH (mIU/ml)	7,65 (6,2-9,7)	3 (2-5)	0,67
Bazal LH (mIU/ml)	5,5 (3,4-7,7)	4,6 (3,2-7,7)	0,40
Bazal E ₂ (pg/ml)	37 (28-50)	37 (28-53)	0,72
Bazal AFC	8 (5-13)	10 (6-15)	0,51
FSH başlangıç dozu (IU)	225 (150-225)	225 (150-225)	0,79
LH başlangıç dozu (IU)	75 (75-75)	75 (75-75)	0,70
HMG başlangıç dozu (IU)	150 (75-150)	75 (75-150)	0,33
Toplam FSH dozu (IU)	2025 (1500-2475)	1912,5 (1462,5-2400)	0,61
Toplam LH dozu (IU)	1200 (750-1500)	975 (900-1050)	0,70
Toplam HMG dozu (IU)	1275 (750-1575)	1050 (750-1500)	0,33
Toplam doz (IU)	2700 (1850-3375)	2625 (2100-3300)	0,92
Trigger günü dominant follikül	4 (2-6)	5 (2-7)	0,19
Trigger günü E ₂ (mIU/ml)	1762 (1271-3991)	2050 (1460-3630)	0,39
Trigger günü endometrial kalınlık (mm)	10,5 (9-12)	10,2 (9,2-12)	0,98
Stimülasyon süresi (gün)	10 (10-12)	10 (9-12)	0,82
ET sayısı	2 (1-2)	2 (1-2)	0,19
Toplam oosit sayısı	8 (3-13)	7 (4-12)	0,45
M2 sayısı	6 (2-10)	5 (3-9)	0,61

NOT: Veriler; median (25-75 persentil) şeklinde verildi. (Mann-Whitney U Test, $p<0,05$)

FSHR ve LHCGR’de polimorfizme sahip olanlarla olmayanların karşılaştırılması **Tablo 5**’te gösterilmiştir. Hastalardan 7’sinde reseptör polimorfizmi bulunmaktaydı. Hastaların bazal FSH değerleri açısından iki grup arasında anlamlı fark olduğu tespit edildi ($p=0,046$). Tabloda verilen diğer demografik özellikleri açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). Ancak istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da reseptör polimorfizmine sahip olan hastalarda bazal FSH, bazal LH düzeylerinin ve bazal AFC sayılarının ortanca değerlerinin daha yüksek olma eğilimi olduğu tespit edildi.

Tablo 5: Reseptör Polimorfizminin Demografik Özelliklerle İlişkisi

Parametre	Reseptör Polimorfizmi (n=128)		p Değeri
	Var (n=7)	Yok (n=121)	
Yaş (yıl)	32 (31-38)	32 (28-35)	0,30
BMI (kg/m ²)	23,7 (20,8-26,1)	24,0 (22,2-26,3)	0,63
İnfertilite süresi (yıl)	5 (1-7)	3,5 (2-6)	0,79
Bazal FSH (mIU/ml)	10,4 (8,8-11,4)	7,5 (6-8,6)	0,046*
Bazal LH (mIU/ml)	7,5 (5,8-12,8)	4,9 (3,3-7,2)	0,07
Bazal E ₂ (pg/ml)	35,7 (24-46)	37 (28,6-52)	0,59
Bazal AFC	10 (6-12)	8 (5-14)	0,93
FSH başlangıç dozu (IU)	225 (225-300)	225 (150-225)	0,10
LH başlangıç dozu (IU)	75 (75-75)	75 (75-75)	1
HMG başlangıç dozu (IU)	75 (75-112,5)	75 (75-150)	0,38
Toplam FSH dozu (IU)	2137,5 (1650-3000)	1950 (1500-2475)	0,49
Toplam LH dozu (IU)	1500 (1500-1500)	975 (900-1050)	0,33
Toplam HMG dozu (IU)	1087,5 (525-1575)	1200 (750-1500)	0,66
Toplam doz (IU)	2700 (1500-3375)	2625 (2025-3300)	0,97
Trigger günü dominant follikül	3 (2-6)	4 (2-7)	0,80
Trigger günü E ₂ (mIU/ml)	1462 (1177-1762)	2035 (1349-3855)	0,27
Trigger günü endometrial kalınlık (mm)	11(10-12)	10,2 (9-12)	0,39
ET sayısı	1 (0-2)	2 (1-2)	0,20
Stimülasyon süresi (gün)	11 (10-16)	10 (9-12)	0,16
Toplam oosit sayısı	4 (2-17)	7 (4-13)	0,49
M2 sayısı	4 (2-13)	5 (2-9)	0,74

NOT: Veriler; median (25-75 persentil) şeklinde verildi. (Mann-Whitney U Test, $p<0,05$)

Hastaların genetik varyant sonucunun FOI ile ilişkisi **Tablo 6**'da verilmiştir. Hastalardan genetik varyantı olanların %70,1'inde FOI normalken, genetik varyanta sahip olmayanların %34,4'ünde FOI düşük olarak saptandı. Ancak her iki grupta istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p=0,71$).

Genetik varyant olan hastalarla olmayanları yüzdelere göre kategorize etmeden FOI oranlarına bakıldığında; varyant olanların %83,5'inde, olmayanların %80,4'ünde normaldi. Her ikisi arasında anlamlı fark olmadığı görüldü ($p=0,24$).

Tablo 6: FOI Normal veya Düşük Oluşunun Genetik Varyant Sonuçlarına Oranı

Genetik varyant	FOI (n=128)			p Değeri
	Normal (n=87)	Düşük (n=41)		0,71
Var, % (n) (n=67)	%70,1 (47)	%29,9 (20)	%52,3	
Yok, % (n) (n=61)	%65,6 (40)	%34,4 (21)	%47,7	
	%68	%32	%100	

NOT: Chi square test , Fisher's Exact Test ($p<0,05$) , veriler = % , (n) olarak verildi.

Reseptör polimorfizmi durumunun FOI ile ilişkisi **Tablo 7**'de gösterilmiştir. Reseptör polimorfizmi olan hastaların %42,9'unda FOI normal olarak değerlendirilirken, reseptör polimorfizmi olmayanların %30,6'sında FOI düşük olarak tespit edildi. Grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,21$).

Reseptör polimorfizmi olan hastalarla olmayanları yüzdelere göre kategorize etmeden FOI oranlarına bakıldığında; polimorfizm olanların

%82,8’inde, olmayanların %86’sında normaldi. Her ikisi arasında anlamlı fark olmadığı görüldü ($p=0,46$).

Tablo 7: FOI Normal veya Düşük Oluşunun Reseptör Polimorfizm Sonuçlarına Oranı

Reseptör polimorfizmi	FOI (n=128)			p Değeri
	Normal (n=87)	Düşük (n=41)		0,21
Var, % (n) (n=7)	%42,9 (3)	%57,1 (4)	%52,3	
Yok, % (n) (n=121)	%69,4 (84)	%30,6 (37)	%47,7	
	%68	%32	%100	

NOT: Chi square test , Fisher’s Exact Test ($p<0,05$) , veriler = % , (n) olarak verildi.

FSHR polimorfizminin FOI ile ilişkisi **Tablo 8**’de verilmiştir. FSHR polimorfizmi olan 4 hastadan %50’sinde FOI normaldi. İki grup arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,61$).

Tablo 8: FOI Normal veya Düşük Oluşunun FSHR Polimorfizmine Oranı

FSHR polimorfizmi	FOI (n=65)			p Değeri
	Normal (n=42)	Düşük (n=23)		0,61
Var, % (n) (n=4)	%50 (2)	%50 (2)	%6,2	
Yok, % (n) (n=61)	%65,6 (40)	%34,4 (21)	%93,8	
	%64,6	%35,4	%100	

NOT: Chi square test, Fisher’s Exact Test ($p<0,05$) , veriler = % , (n) olarak verildi

LHCGR polimorfizm varlığının FOI'nin düşük veya normal oluşuyla ilişkisi **Tablo 9**'da gösterilmiştir. Bahsi geçen polimorfizme sahip olan 3 hastadan %33,3'ü normal follükül oosit indeksine (FOI) sahipti. LHCGR polimorfizmi mevcut olanlarla genetik varyantı olmayan iki grubun karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlam fark bulunamadı ($p=0,29$)

Tablo 9: FOI'nin Normal veya Düşük Oluşunun LHCGR Polimorfizmine Oranı

LHCGR polimorfizmi	FOI (n=64)			p Değeri
	Normal (n=41)	Düşük (n=23)		0,29
Var, % (n)	%33,3 (1)	%66,7 (2)	%4,7	
(n=3)				
Yok, % (n)	%65,6 (40)	%34,4 (21)	%95,3	
(n=61)				
	%64,1	%35,9	%100	

NOT: Chi square test, Fisher's Exact Test ($p<0,05$) , veriler = % , (n) olarak verildi

Genetik varyant sonuçlarının FORT ile ilişkisi **Tablo 10**'da verilmiştir. Hastaların %26,6'sında FORT normaldi. Genetik varyantı olanların %26,9'unda FORT normalken, genetik varyanta sahip olmayanların %73,8'inde FORT düşük olarak saptandı. Ancak her iki grupta istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p=1$).

Genetik varyant olan hastalarla olmayanları yüzdelere göre kategorize etmeden FORT oranlarına bakıldığında; varyant olanların %46,1'inde, olmayanların %50,4'ünde normaldi. Her ikisi arasında anlamlı fark olmadığı görüldü ($p=0,12$).

Tablo 10: FORT'un Normal Veya Düşük Oluşunun Genetik Varyant Sonuçlarına Oranı

Genetik varyant	FORT (n=128)			p Değeri
	Normal (n=34)	Düşük (n=94)		1
Var, % (n) (n=67)	%26,9 (18)	%73,1 (49)	%52,3	
Yok, % (n) (n=61)	%26,2 (16)	%73,8 (45)	%47,7	
	%26,6	%73,4	%100	

NOT: Chi square test , Fisher's Exact Test ($p<0,05$) , veriler = % , (n) olarak verildi.

Hastaların reseptör polimorfizm varlığının FORT ile ilişkisi **Tablo 11**'de verilmiştir. Reseptör polimorfizmine sahip olanların %28,6'sında FORT normalken, olmayanlarda %73,6 oranında FORT düşük olarak saptandı. Ancak her iki grupta istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=1$).

Reseptör polimorfizmi olan hastalarla olmayanları yüzdelere göre kategorize etmeden FORT oranlarına bakıldığında; polimorfizm olanların %53,1'inde, olmayanların %47,9'unda normaldi. Her ikisi arasında anlamlı fark olmadığı görüldü ($p=0,44$).

Tablo 11: FORT'un Normal veya Düşük Oluşunun Reseptör Polimorfizm Sonuçlarına Oranı

Reseptör polimorfizmi	FORT (n=128)			p Değeri
	Normal (n=34)	Düşük (n=94)		1
Var, % (n) (n=7)	%28,6 (2)	%71,4 (5)	%5,5	
Yok, % (n) (n=121)	%26,4 (32)	%73,6 (89)	%94,5	
	%26,6	%73,4	%100	

NOT: Chi square test, Fisher's Exact Test ($p<0,05$) , veriler = % , (n) olarak verildi.

FSHR polimorfizminin FORT ile ilişkisi **Tablo 12**'de gösterilmiş olup, FSHR polimorfizmine sahip olan 4 hastanın %50'sinde FORT normal olarak tespit edildi. Polimorfizmi olmayan 61 hastadan %34,4'ünde FORT düşük olarak saptandı. FSHR polimorfizmi olan ve genetik varyant bulunmayan iki grup arasında FORT'un düşük veya normal olması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0,31$).

Tablo 12: FORT'un Normal veya Düşük Oluşunun FSHR Polimorfizmine Oranı

FSHR polimorfizmi	FORT (n=65)			p Değeri
	Normal (n=18)	Düşük (n=47)		0,31
Var, % (n)	%50 (2)	%50 (2)	%6,2	
(n=4)				
Yok, % (n)	%26,2 (16)	%73,8 (45)	%93,8	
(n=61)				
	%64,6	%35,4	%100	

NOT: Chi square test, Fisher's Exact Test ($p<0,05$) , veriler = % , (n) olarak verildi.

LHCGR polimorfizmi olan hastaların FORT'la ilişkisi **Tablo 13**' te verilmiştir. Polimorfizmi olanlarda FORT'u normal saptanan hiçbir hasta olmadı. Bütün hastalarda FORT düşüktü. Genetik varyantı olmayan hastalarla LHCGR polimorfizmi olan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,57$)

Tablo 13: FORT'un Normal Veya Düşük Oluşunun LHCGR Polimorfizmine Oranı

LHCGR polimorfizmi	FORT (n=64)			p Değeri
	Normal (n=16)	Düşük (n=45)		0,57
Var, % (n)	%0 (0)	%100 (3)	%4,7	
(n=3)				
Yok, % (n)	%26,2 (16)	%73,8 (45)	%95,3	
(n=61)				
	%25	%75	%100	

NOT: Chi square test, Fisher's Exact Test ($p<0,05$) , veriler = % , (n) olarak verildi

Hastaların genetik varyant sonuçlarına göre gebelik ilişkisi **Tablo 14**'te gösterilmiştir. Hastalarımızın %52,3'ünde genetik varyant görüldü. Genetik varyantı olan hastaların %32,8'inde gebelik mevcut olup, genetik varyant olmayanların %27,9'unda gebelik olduğu tespit edildi. Gebelik olan ve olmayan grup arasında genetik varyant açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,34$).

Tablo 14: Gebelik Ve Genetik Varyant Sonuçları

Genetik varyant	Gebelik (n=128)			p Değeri
	Var (n=39)	Yok (n=89)		0,34
Var, % (n)	%32,8 (22)	%67,2 (45)	%52,3	
(n=67)				
Yok, % (n)	%27,9 (17)	%72,1 (44)	%47,7	
(n=61)				
	%30,5	%69,5		

NOT: Chi square test, Fisher's Exact Test ($p<0,05$) , veriler = % , (n) olarak verildi

İnfertilite paneli bakılan hastalarda reseptör polimorfizmi bulunan ve bulunmayanların fertilizasyon hızları karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla, %60, %67,3, $p=0,33$).

Çalışmamızdaki kadınların reseptör polimorfizmi durumunun gebelik sonuçlarıyla ilişkisi **Tablo 15**'te verilmiştir. Hastalarımızın %5,5'i reseptör polimorfizmine sahipti. Reseptör polimorfizmi olan hastaların %42,9'u gebeliğe sahipken, polimorfizm olmayan hastaların %29,8'inin gebe olduğu görüldü. Her iki gruptaki gebelik sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,44$).

Tablo 15: Gebelik Ve Reseptör Polimorfizmi Sonuçları

Reseptör polimorfizmi	Gebelik (n=128)			p Değeri
	Var (n=39)	Yok (n=89)		0,44
Var, % (n)	%42,9 (3)	%57,1 (4)	%5,5	
Yok, % (n)	%29,8 (36)	%70,2 (85)	%94,5	
	%30,5	%69,5	%100	

NOT: Chi square test, Fisher's Exact Test ($p<0,05$) , veriler = % , (n) olarak verildi

Hastaların FSHR polimorfizmi varlığının gebelik sonuçlarıyla ilişkisi **Tablo 16**'da verilmiştir. FSHR polimorfizmi olan 4 hastadan %50'si gebeydi. FSHR polimorfizmi olan ve genetik varyantı bulunmayan hastalar karşılaştırıldığında gebelik sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farka rastlanmadı ($p=0,57$).

Tablo 16: Gebelik ve FSHR Polimorfizmi Sonuçları

FSHR polimorfizmi	Gebelik (n=65)			p Değeri
	Var (n=19)	Yok (n=46)		0,57
Var, % (n)	%50 (2)	%50 (2)	%6,2	
Yok, % (n)	%27,9 (17)	%72,1 (44)	%93,8	
	%29,2	%70,8	%100	

NOT: Chi square test, Fisher's Exact Test ($p<0,05$) , veriler = % , (n) olarak verildi.

LHCGR polimorfizminin gebelik sonuçlarıyla ilişkisi **Tablo 17**'de gösterilmiştir. LHCGR polimorfizmi olan 3 hastadan %33'ünde gebelik mevcuttu. LHCGR polimorfizmi olan ve genetik varyantı bulunmayan hastalar karşılaştırıldığında gebelik sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p=1,0$)

Tablo 17: Gebelik ve LHCGR Polimorfizmi Sonuçları

LHCGR polimorfizmi	Gebelik (n=64)			p Değeri
	Var (n=18)	Yok (n=46)		1,0
Var, % (n)	%33,3 (1)	%66,7 (2)	%4,7	
Yok, % (n)	%27,9 (17)	%72,1 (44)	%95,3	
	%28,1	%71,9	%100	

NOT: Chi square test, Fisher's Exact Test ($p<0,05$) , veriler = % , (n) olarak verildi.

IVF endikasyonlarından ovulatuvar faktöre sahip olan hastaların genetik varyant sonuçları ile ilişkisi **Tablo 18**'de verilmiş olup genetik varyanta sahip

olan 67 hastadan %46,3'ünde ovulatuvar faktör mevcuttu. Varyantı olmayan hastaların %59'unda diğer IVF endikasyonları bulunmaktaydı. İki grubun karşılaştırılmasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0,60$).

Tablo 18: Ovulatuvar Faktör Ve Genetik Varyant Sonuçları

Genetik Varyant	Ovulatuvar Faktör (n=128)			p Değeri
	Var (n=56)	Yok (n=72)		0,60
Var, % (n) (n=67)	%46,3 (31)	%53,7 (36)	%52,3	
Yok, % (n) (n=61)	%41 (25)	%59 (36)	%47,7	
Toplam (128)	%43,8	%56,3	%100	

NOT: Chi square test, Fisher's Exact Test ($p<0,05$) , veriler = % , (n) olarak verildi

Hastalardan ovulatuvar faktöre sahip olan hastalarla reseptör polimorfizminin ilişkisi **Tablo 19**'da gösterilmiştir. Reseptör polimorfizmine sahip olan 7 hastadan %57,1'inin ovulatuvar faktöre sahip olduğu görüldü. Reseptör polimorfizmi olmayan 121 hastanın %43'ünde ovulatuvar faktör mevcuttu. Her iki grup arasında anlamlı fark olmadığı görüldü ($p=0,70$)

Tablo 19: Ovulatuvar Faktör Ve Reseptör Polimorfizm Sonuçları

Reseptör Polimorfizmi	Ovulatuvar Faktör (n=128)			p Değeri
	Var (n=56)	Yok (n=72)		0,70
Var, % (n) (n=7)	%57,1 (4)	%42,9 (3)	%5,5	
Yok, % (n) (n=121)	%43 (52)	%57 (69)	%94,5	
	%43,8	%56,3	%100	

NOT: Chi square test, Fisher's Exact Test ($p<0,05$) , veriler = % , (n) olarak verildi.

5. TARTIŞMA

İnfertilite küresel bir halk sağlığı sorunudur ve dünya çapında doğurganlık çağındaki çiftlerin yaklaşık %15-20'si infertilite ile mücadele etmektedir. Günümüzde IVF ve embriyo transferi (IVF-ET), en yaygın kullanılan ve verimli yardımcı üreme teknolojilerinden (ART) biridir. İnfertil çiftlerin üreme performansında yardımcı üreme tekniklerinin başarısını etkileyebilecek bireyler arası farklılıklar olabilir (115). Bununla birlikte, infertil kadınların yaklaşık %9-24'ü IVF tedavisinde over stimülasyonunu takiben hala zayıf ovaryen yanıt (POR) göstermektedir (116).

Gonadotropinler ve bunların reseptör genlerindeki polimorfizmler, glikoprotein hormonlarına hücresel yanıtta değişkenlik, fonksiyonel yumurtalık rezervinin genişlemesinde ilgili modifikasyonlarla ilişkilendirilebilir (92). Bu yüzden son dönemde ovaryen stimülasyon sonrası yeterli yanıt alınamayan hastalarda polimorfizm varlığı araştırılarak IVF tedavisinin kişi bazında özelleştirilebilmesi fikri gündeme gelmiştir.

Çalışmamızdaki hastalar; infertilite paneli testi için kullanılan kitin içerdiği genler bazında değerlendirildiğinde 67'sinde genetik varyant olduğu saptandı. Hastalarımızın yaş, BMI, infertilite süresi, bazal hormon düzeyleri, ultrasonografik verileri, gebelik sonuçları, tedavide kullanılan ajanlar ve dozları, stimülasyon süreleri, embriyo transfer sayıları gibi demografik özellikleri genetik varyant bulunan ve bulunmayan olarak karşılaştırıldı. Genetik varyant açısından anlamlı fark bulunamadı. Literatürlere bakıldığında çoğunlukla varyasyon araştırması için PCR kullanılmış olup NGS yeni bir araştırma alanıdır ve çalışmalarda hastaların genel olarak genetik varyasyonlarının karşılaştırılması

yerine genler spesifik (örn; FSHR, LHCGR, ER) olarak araştırılmıştır (117). Çalışmamızda baz aldığımız infertilite paneli kit bazlı bir test olduğu için bu kit ile bakıldığında herhangi bir genetik varyantın saptanıp saptanamaması ile IVF tedavisi sonuçlarının etkilenip etkilenmediğini de analiz ettik. Kadın infertilitesi açısından kullandığımız panel kitinde daha fazla gen taranmış olması çalışmamızın güçlü yanı olarak kabul edilebilir ve literatürde bu anlamda yeterli çalışma bulunmamaktadır.

Hastalarımızın 4'ünde FSHR polimorfizmi, 3'ünde LHCGR saptandı. Reseptör polimorfizmi olan 7 hastanın yaş, BMI, infertilite süresi, bazal hormon düzeyleri, ultrasonografik verileri, gebelik sonuçları, tedavide kullanılan ajanlar ve dozları, stimülasyon süreleri, embriyo transfer sayıları karşılaştırıldı. İki grup arasında bazal FSH düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, diğer parametrelerde anlamlı fark saptanmadı.

FSH reseptörünün (FSHR) genetik varyasyonlarının serum FSH düzeylerini ve hedef organın FSH stimülasyonuna fizyolojik tepkiyi etkilediğine dair kanıtlar vardır (118). Literatüre baktığımızda Levallet ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada FSHR geninde polimorfizm olan hastaların bazal FSH düzeyleri yüksek, E₂ düzeyleri nispeten düşük konsantrasyonda bulunmuş olup overlerin küçük antral aşamaya kadar normal foliküler gelişim gösterdiği ancak daha sonraki aşamada bir bozulma gösterdiği görülmüştür (119). Lingren ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; kontrol ve vaka grubu arasında ayrı ayrı FSHR ve LHCGR polimorfizmi olan hastaların yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur. Ayrıca yine aynı çalışmada LHCGR polimorfizmine göre karşılaştırma yapılan hastaların tedavisinde total FSH dozları

arasında fark olduğu verisine ulaşılmıştır. BMI, bazal FSH, LH, E₂, follikül sayısı ve embriyo transfer sayıları arasında fark olmadığı görülmüştür (120). Chun Gou ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada LHCGR polimorfizmi olan hastaların bazal LH düzeyleri ve AFC sayıları karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı fark olduğu görülmüştür. Bazal FSH, bazal E₂, yaş, BMI, stimülasyon süresi, total gonadotropin dozu, toplam oosit, M2 ve PN sayıları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığını bulmuşlardır. FSHR polimorfizmi olanlarda bazal FSH, bazal E₂, yaş, BMI, bazal LH, AFC sayısı açısından anlamlı fark saptanmamıştır (103). Çalışmaya dahil edilen hasta sayımızın az olmasının sonuç üzerinde etkili olduğu söylenebilir.

Genetik varyantı sonucu değerlendirilen hastaların gebelik sonuçlarına bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı ve bu infertilite panelinde herhangi bir genetik varyanta sahip olmayan hastaların gebelik yüzdelerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir. İnfertiliteye yönelik bakılan bu test panelinde yer alan parametrelerin varyantlarının gebelik sonucu ile ilişkisini araştıran yeterli çalışma mevcut değildir.

Çalışmamızda 128 hastadan 7'sinde gonadotropin reseptörlerinde polimorfizm bulunmuştur. Polimorfizmi olan hastaların gebelik yüzdelerinin daha düşük olduğu, aynı zamanda genetik varyantı olmayan veya gonadotropin reseptör polimorfizmi dışında genetik varyantı olan hastaların da gebelik açısından daha düşük yüzdeye sahip olduğu dikkati çekmiştir. FSHR ve LHCGR polimorfizmlerindeki gebelik sonuçları ayrıca değerlendirilmiştir. FSHR polimorfizmine sahip olan hastaların %50'si gebeyken, LHCGR polimorfizmine

sahip olan hastaların %33,3'ünün gebe olduğu saptandı. Her iki polimorfizm için de gebelik sonuçları arasından iki grup arasında anlamlı fark olmadığı görüldü.

Chun Gou ve arkadaşlarının çalışmasında FSHR polimorfizmi olan hastaların gebelik sonuçları arasında anlamlı fark olmadığını ancak; LHCGR polimorfizmi olan hastalarda ise fark olduğu gösterilmiştir (103). Lindgren ve arkadaşlarının gonadotropin reseptör polimorfizmi olan hastaların IVF sonrası gebelik sonuçlarını araştırdığı çalışmada her iki gonadotropik reseptör polimorfizm varlığının da gebelik sonuçları arasında anlamlı fark olmadığı görülmüştür (120). Reseptör polimorfizmine sahip olan hastalarımızın sayısının nispeten az olması çalışmamızın istatistiksel gücünü azaltabilir.

Genetik varyantı olan hastalarda IVF endikasyonları arasında saydığımız ovulatuvar faktörün bulunma yüzdesi diğer endikasyonlara göre daha düşüktü ve genetik varyantı olan grupla olmayanlar arasında ovulatuvar faktör açısından anlamlı fark olmadığı görüldü. Çalışmamızda kullandığımız kit bazlı test sayesinde infertil hastalarda, ovulatuvar faktör varlığının; herhangi bir genetik varyant durumundan etkilenip etkilenmediğini de analiz ettik. Herhangi bir genetik varyant ve IVF endikasyonları açısından değerlendirilerek benzer literatür araştırılması yapıldığında yeterli veri bulunamamıştır.

Reseptör polimorfizmi olan hastaların ovulatuvar faktöre sahip olma yüzdesi daha yüksek olup iki grup arasında anlamlı fark olmadığı görüldü. Lindgren ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada FSHR ve LHCGR polimorfizmleri hastaların endometriozise veya polikistik over sendromuna (PCOS) sahip olması açısından karşılaştırılmış olup iki grup arasında anlamlı fark olmadığı görülmüştür (120). Ralitsa Robeva ve arkadaşlarının çalışmasında PCOS'u olan hastalar

LHCGR polimorfizmi bakımında karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı sonucuna ulaşmışlardır (121). Joop Leaven'in çalışmasında FSHR SNP'leri ile PCOS fenotipi arasındaki ilişki hakkında sadece sınırlı bilgi mevcut olduğundan bahsedilmiştir (122). Du J ve arkadaşlarının çalışmasında FSHR polimorfizminin PCOS ile ilişkili olduğu bulunmuştur (123). Literatürde ovulatuvar faktörlerden PCOS ile ilişkili daha fazla çalışma mevcut olup diğer faktörlerle ilgili yeterli sayıda çalışma yoktur.

Çalışmamızda genetik varyant saptadığımız hastalarda FOI'nin normal olma yüzdesi daha yüksekken, FORT baz alındığında bu hastaların normal değere sahip olma yüzdesi daha düşüktü. Ancak her iki grup ayrı ayrı kıyaslandığında anlamlı fark olmadığı tespit edildi. Önceki yapılan çalışmalara bakıldığında genel olarak genetik varyant durumuna göre grup oluşturularak FOI veya FORT açısından kıyaslamaya yönelik veri olmadığı görülmüştür. Literatürde mevcutta bulunan çalışmalar spesifik gen polimorfizmine göre karşılaştırılmıştır (101, 102, 104).

Genetik varyant olmayan ve FSHR polimorfizmi olan hastalar FOI ve FORT açısından ayrı ayrı değerlendirildiğinde %50'sinde normal oranda bulundu aynı şekilde LHCGR polimorfizmi için olup FOI ve FORT bakımından normal cevaba sahip olan hastaların yüzdesinin daha düşük olduğu hatta FORT göz önüne alındığında normal yanıtı sahip hastanın hiç olmadığı görüldü. Ancak iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

FSHR geni, ovaryen stimülasyon ile ilgili en çok çalışılan genetik faktördür. Antonio La Marca ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada FSHR polimorfizmlerinden Ser680 genotipinin; FSH stimülasyonuna majör bir "direnç"

faktörü olduğunu ve bunun daha yüksek FSH serum seviyeleri ile sonuçlandığını ve böylece in vitro rolü henüz belirlenmemiş olsa da menstrual döngünün uzamasına yol açtığını ve bazı kadınların FSH tarafından aşırı stimülasyona bağlı olarak over hiperstimülasyonu açısından riski altında olabileceğini klinik çalışmalar doğrulamışlardır (92).

Chun Gou ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada FSHR polimorfizminin mutasyonları arasında fark saptanmış olup LHCGR polimorfizmi olan hastaların ovaryen yanıtlar arasında karşılaştırma yapıldığında fark olmadığı görülmüş (103). Carlo Alviggi ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada ovaryen cevap açısından FSHR polimorfizminin farklı mutasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir (124).

Gonadotropin stimülasyonuna “over rezistansı” olarak da bilinen gonadotropin stimülasyonuna verilen düşük yanıtı açıklayan patofizyoloji mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte, çevresel etkenlerin yanı sıra spesifik genotipik özellikler, olası katkıda bulunan faktörler olarak varsayılmıştır. Özellikle, gonadotropinleri ve reseptörlerini etkileyen genetik polimorfizmler, OS sonuçlarını etkileyebilir. Alessandro Conforti ve arkadaşlarının çalışmasında FSHR polimorfizmi olan hastalarda ovaryen stimülasyona alınan yanıtın daha az olduğu gösterilmiştir (104). Nikolaos Polyzos ve arkadaşlarının FSHR polimorfizminin FOI ve FORT indeksine etkileri üzerine yaptığı araştırmada farklı allellerde etkilenme gösteren polimorfizmlerin ovaryen yanıtı düşük olduğunu rapor etmişlerdir (125).

Sayyed Mohammed ve arkadaşlarının ovaryen response için SNP araştırması yaptığı bir çalışmadan LHCGR polimorfizmi olan hastalardaki farklı

mutasyonlar arasında (AA-AG) ovaryen stimölasyonna yanıt açısından iki grup arasında anlamlı fark olduğu göröldü (126). Laura Riccetti ve arkadaşlarının bir araştırmasında LHCGR/LHB SNP'ler ile ovaryen yanıt veya ovaryen stimölasyonna yanıt arasında bir ilişki belirlenmediğinden bahsedilmiştir (127).



6. SONUÇ

IVF tedavisinde gonadotropinlerle yapılan ovaryen stimulasyon temel bir basamak olup, son zamanlarda buna yanıtın ön görülmesinde ana parametrelere ek olarak gonadotropin reseptörlerindeki bazı mutasyon ve genetik varyasyonların da etkili olabileceğini savunan görüşler bulunmaktadır. Bu testlerin bu anlamda faydasının olup olmadığının incelendiği bu çalışmamızda elde edilen sonuçlar;

- 1) IVF tedavisinde en önemli basamaklardan biri ovaryen stimülasyondur.
- 2) FSHR ve LHCGR'deki farklı mutasyonların allel frekansları kendi içerisinde değişim göstermektedir.
- 3) Bazal FSH düzeylerinin FSHR polimorfizminden etkilendiği gösterilmiştir.
- 4) FOI ve FORT indeksine göre ovaryen yanıt göz önüne alındığında genetik varyant veya gonadotropin reseptör polimorfizmi açısından değişiklik görülmemiştir.
- 5) LHCGR polimorfizmi olan hastalarda FORT'un düşük olduğu görülmüştür.
- 6) Genetik varyant açısından hastaların demografik özellikleri üzerine etkisi bulunamamıştır.
- 7) Gebelik sonuçlarının ve ovulatuvar faktör varlığının genetik farklılıklardan etkilenmediği görülmüştür.

7. KAYNAKLAR

1. Broer S, Dolleman M, Opmeer B, Fauser B, Mol B, Broekmans F. AMH and AFC as predictors of excessive response in controlled ovarian hyperstimulation: a meta-analysis. *Human reproduction update*. 2011;17(1):46-54.
2. Altmäe S, Hovatta O, Stavreus-Evers A, Salumets A. Genetic predictors of controlled ovarian hyperstimulation: where do we stand today? *Human reproduction update*. 2011;17(6):813-28.
3. La Marca A, Sighinolfi G, Argento C, Grisendi V, Casarini L, Volpe A, et al. Polymorphisms in gonadotropin and gonadotropin receptor genes as markers of ovarian reserve and response in in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*. 2013;99(4):970-8.e1.
4. Ghaderian SMH, Akbarzadeh R, Salehpour S. Involvement of single nucleotide polymorphisms in ovarian poor response. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2021.
5. Rogerio A, Lobo M, David M Gershenson, MD, Gretchen M Lentz, MD and Fidel A Valea, MD. *Comprehensive Gynecology*. 7th edition. Elsevier. 2017.
6. Simoni M, Gromoll J, Nieschlag E. The follicle-stimulating hormone receptor: biochemistry, molecular biology, physiology, and pathophysiology. *Endocr Rev*. 1997;18(6):739-73.
7. Ascoli M, Fanelli F, Segaloff DL. The Lutropin/Choriogonadotropin Receptor, A 2002 Perspective. *Endocrine Reviews*. 2002;23(2):141-74.
8. Maston GA, Ruvolo M. Chorionic Gonadotropin Has a Recent Origin Within Primates and an Evolutionary History of Selection. *Molecular Biology and Evolution*. 2002;19(3):320-35.
9. Henke A, Gromoll J. New insights into the evolution of chorionic gonadotrophin. *Mol Cell Endocrinol*. 2008;291(1-2):11-9.
10. Mori T. *Ovarian Stimulation Protocols*, 2016.
11. Taylor HSP, Lubna; Seli Emre. *Speroff's clinical gynecologic endocrinology and infertility*. Lippincott Williams & Wilkins,. 2019.
12. Ackert CL, Gittens JE, O'Brien MJ, Eppig JJ, Kidder GM. Intercellular communication via connexin43 gap junctions is required for ovarian folliculogenesis in the mouse. *Dev Biol*. 2001;233(2):258-70.

13. Granot I, Dekel N. Developmental expression and regulation of the gap junction protein and transcript in rat ovaries. *Mol Reprod Dev.* 1997;47(3):231-9.
14. Granot I, Dekel N. The ovarian gap junction protein connexin43: regulation by gonadotropins. *Trends in Endocrinology & Metabolism.* 2002;13(7):310-3.
15. Barnes RB, Namnoum AB, Rosenfield RL, Layman LC. The role of LH and FSH in ovarian androgen secretion and ovarian follicular development: clinical studies in a patient with isolated FSH deficiency and multicystic ovaries. *Hum Reprod.* 2002;17(1):88-91.
16. Matthews CH, Borgato S, Beck-Peccoz P, Adams M, Tone Y, Gambino G, et al. Primary amenorrhoea and infertility due to a mutation in the beta-subunit of follicle-stimulating hormone. *Nat Genet.* 1993;5(1):83-6.
17. Vermesh M, Kletzky OA. Longitudinal evaluation of the luteal phase and its transition into the follicular phase. *J Clin Endocrinol Metab.* 1987;65(4):653-8.
18. Welt CK, Martin KA, Taylor AE, Lambert-Messerlian GM, Crowley WF, Jr., Smith JA, et al. Frequency modulation of follicle-stimulating hormone (FSH) during the luteal-follicular transition: evidence for FSH control of inhibin B in normal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(8):2645-52.
19. Christin-Maitre S, Taylor AE, Khoury RH, Hall JE, Martin KA, Smith PC, et al. Homologous in vitro bioassay for follicle-stimulating hormone (FSH) reveals increased FSH biological signal during the mid- to late luteal phase of the human menstrual cycle. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 1996;81(6):2080-8.
20. Yong EL, Baird DT, Hillier SG. Mediation of gonadotrophin-stimulated growth and differentiation of human granulosa cells by adenosine-3',5'-monophosphate: one molecule, two messages. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1992;37(1):51-8.
21. Oktay K, Briggs D, Gosden RG. Ontogeny of follicle-stimulating hormone receptor gene expression in isolated human ovarian follicles. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(11):3748-51.
22. McNatty KP, Makris A, DeGrazia C, Osathanondh R, Ryan KJ. The production of progesterone, androgens, and estrogens by granulosa cells, thecal tissue, and stromal tissue from human ovaries in vitro. *J Clin Endocrinol Metab.* 1979;49(5):687-99.

23. Hild-Petito S, West NB, Brenner RM, Stouffer RL. Localization of Androgen Receptor in the Follicle and Corpus Luteum of the Primate Ovary during the Menstrual Cycle. *Biology of Reproduction*. 1991;44(3):561-8.
24. McNatty KP, Makris A, Reinhold VN, De Grazia C, Osathanondh R, Ryan KJ. Metabolism of androstenedione by human ovarian tissues in vitro with particular reference to reductase and aromatase activity. *Steroids*. 1979;34(4):429-43.
25. Erickson GF, Magoffin DA, Dyer CA, Hofeditz C. The ovarian androgen producing cells: a review of structure/function relationships. *Endocr Rev*. 1985;6(3):371-99.
26. Chabab A, Hedon B, Arnal F, Diafouka F, Bressot N, Flandre O, ve ark. Follicular steroids in relation to oocyte development and human ovarian stimulation protocols. *Hum Reprod*. 1986;1(7):449-54.
27. Greisen S, Ledet T, Ovesen P. Effects of androstenedione, insulin and luteinizing hormone on steroidogenesis in human granulosa luteal cells. *Hum Reprod*. 2001;16(10):2061-5.
28. Eppig JJ, Chesnel F, Hirao Y, O'Brien MJ, Pendola FL, Watanabe S, ve ark. Oocyte control of granulosa cell development: how and why. *Hum Reprod*. 1997;12(11 Suppl):127-32.
29. McNatty KP, Makris A, De Grazia C, Osathanondh R, Ryan KJ. Steroidogenesis by recombined follicular cells from the human ovary in vitro. *J Clin Endocrinol Metab*. 1980;51(6):1286-92.
30. Andersen CY. Characteristics of human follicular fluid associated with successful conception after in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;77(5):1227-34.
31. Richards JS, Jahnsen T, Hedin L, Lifka J, Ratoosh S, Durica JM, ve ark. Ovarian Follicular Development: From Physiology to Molecular Biology. In: Clark JH, editor. *Proceedings of the 1986 Laurentian Hormone Conference*. 43. Boston: Academic Press; 1987. p. 231-76.
32. Jia X-C, Hsueh JW. Homologous Regulation of Hormone Receptors: Luteinizing Hormone Increases Its Own Receptors in Cultured Rat Granulosa Cells*. *Endocrinology*. 1984;115(6):2433-9.
33. Kessel B, Liu Y, Jia X, Hsueh AJ. Autocrine role of estrogens in the augmentation of luteinizing hormone receptor formation in cultured rat granulosa cells. *Biology of reproduction*. 1985;32(5):1038-50.
34. Filicori M, Cognigni G, Tabarelli Ce, Pocognoli P, Taraborrelli S, Spettoli D, ve ark. Stimulation and growth of antral ovarian follicles by selective LH

activity administration in women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002;87(3):1156-61.

35. Filicori M, Cognigni GE, Ciampaglia W. Effects of LH on oocyte yield and developmental competence. *Human Reproduction*. 2003;18(6):1357-8.
36. Young KA, Chaffin CL, Molskness TA, Stouffer RL. Controlled ovulation of the dominant follicle: a critical role for LH in the late follicular phase of the menstrual cycle. *Human Reproduction*. 2003;18(11):2257-63.
37. Young JR, Jaffe RB. Strength-duration characteristics of estrogen effects on gonadotropin response to gonadotropin-releasing hormone in women. II. Effects of varying concentrations of estradiol. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1976;42(3):432-42.
38. Filicori M, Santoro N, Merriam GR, Crowley JR WF. Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1986;62(6):1136-44.
39. Laatikainen T, Räisänen I, Tulenheimo A, Salminen K. Plasma β -endorphin and the menstrual cycle**Supported by grants from the Research Council for Medicine of the Academy of Finland, from the Sigrid Jusélius Foundation, Helsinki, and from the Aaltonen Foundation, Tampere, Finland. *Fertility and Sterility*. 1985;44(2):206-9.
40. Mortola J, Laughlin G, Yen S. A circadian rhythm of serum follicle-stimulating hormone in women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1992;75(3):861-4.
41. Rivier C, Rivier J, Vale W. Inhibin-mediated feedback control of follicle-stimulating hormone secretion in the female rat. *Science*. 1986;234(4773):205-8.
42. Yong E, Baird D, Yates R, Reichert Jr L, Hillier S. Hormonal regulation of the growth and steroidogenic function of human granulosa cells. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1992;74(4):842-9.
43. Fanchin R, Louafi N, Lozano DHM, Frydman N, Frydman R, Taieb J. Per-follicle measurements indicate that anti-müllerian hormone secretion is modulated by the extent of follicular development and luteinization and may reflect qualitatively the ovarian follicular status. *Fertility and sterility*. 2005;84(1):167-73.
44. Richards JS, Liu Z, Shimada M. Immune-like mechanisms in ovulation. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2008;19(6):191-6.

45. Vanderfiyden BC, Telfer EE, Eppig JJ. Mouse oocytes promote proliferation of granulosa cells from preantral and antral follicles in vitro. *Biology of reproduction*. 1992;46(6):1196-204.
46. Adams JM, Taylor A, Schoenfeld DA, Crowley Jr W, Hall JE. The midcycle gonadotropin surge in normal women occurs in the face of an unchanging gonadotropin-releasing hormone pulse frequency. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1994;79(3):858-64.
47. Caraty A, Antoine C, Delaleu B, Locatelli A, Bouchard P, Gautron J-P, et al. Nature and bioactivity of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secreted during the GnRH surge. *Endocrinology*. 1995;136(8):3452-60.
48. Wiele RLV, Bogumil J, Dyrenfurth I, Ferin M, Jewelewicz R, Warren M, et al., editors. *Mechanisms regulating the menstrual cycle in women. Proceedings of the 1969 Laurentian Hormone Conference; 1970: Elsevier.*
49. Hutchison JS, Zeleznik AJ. The rhesus monkey corpus luteum is dependent on pituitary gonadotropin secretion throughout the luteal phase of the menstrual cycle. *Endocrinology*. 1984;115(5):1780-6.
50. Richardson D, Goldsmith L, Pohl C, Schallenberger E, Knobil E. The role of prolactin in the regulation of the primate corpus luteum. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1985;60(3):501-4.
51. Erickson GF, editor *Physiologic basis of ovulation induction. Seminars in reproductive endocrinology; 1996: Copyright© 1996 by Thieme Medical Publishers, Inc.*
52. Yamoto M, Shima K, Nakano R. Gonadotropin receptors in human ovarian follicles and corpora lutea throughout the menstrual cycle. *Hormone Research in Paediatrics*. 1992;37(Suppl. 1):5-11.
53. Magoffin DA, editor *Regulation of differentiated functions in ovarian theca cells. Seminars in reproductive endocrinology; 1991.*
54. Sasano H, Okamoto M, Mason J, Simpson E, Mendelson C, Sasano N, et al. Immunolocalization of aromatase, 17 α -hydroxylase and side-chain-cleavage cytochromes P-450 in the human ovary. *Reproduction*. 1989;85(1):163-9.
55. Sasano H. Functional pathology of human ovarian steroidogenesis: normal cycling ovary and steroid-producing neoplasms. *Endocrine pathology*. 1994;5(2):81-9.
56. Patton PE, Hess DL, Cook DM, Loriaux DL, Braunstein GD. Human chorionic gonadotropin production by the pituitary gland in a

premenopausal woman. American journal of obstetrics and gynecology. 1998;178(6):1138-42.

57. Tse A, Hille B. GnRH-induced Ca^{2+} oscillations and rhythmic hyperpolarizations of pituitary gonadotropes. Science. 1992;255(5043):462-4.
58. Kaiser UB, Conn PM, Chin WW. Studies of Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) Action Using nRH Receptor-Expressing Pituitary Cell Lines. Endocrine reviews. 1997;18(1):46-70.
59. Gilman A. Guanine nucleotide-binding regulatory proteins and dual control of adenylate cyclase. The Journal of clinical investigation. 1984;73(1):1-4.
60. Kovalevskaya G, Genbacev O, Fisher S, Caceres E, O'connor J. Trophoblast origin of hCG isoforms: cytotrophoblasts are the primary source of choriocarcinoma-like hCG. Molecular and cellular endocrinology. 2002;194(1-2):147-55.
61. Lambert A, Talbot J, Anobile C, Robertson W. Gonadotrophin heterogeneity and biopotency: implications for assisted reproduction. Molecular human reproduction. 1998;4(7):619-29.
62. Beitins IZ, Padmanabhan V. Bioactive follicle-stimulating hormone. Trends in Endocrinology & Metabolism. 1991;2(4):145-51.
63. Wide L, Bakos O. More basic forms of both human follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in serum at midcycle compared with the follicular or luteal phase. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 1993;76(4):885-9.
64. Laphorn A, Harris D, Littlejohn A, Lustbader J, Canfield R, Machin K, et al. Crystal structure of human chorionic gonadotropin. Nature. 1994;369(6480):455-61.
65. Weiss J, Axelrod L, Whitcomb RW, Harris PE, Crowley WF, Jameson JL. Hypogonadism caused by a single amino acid substitution in the β subunit of luteinizing hormone. New England Journal of Medicine. 1992;326(3):179-83.
66. Su P, Shafiee-Kermani F, Gore AJ, Jia J, Wu JC, Miller WL. Expression and regulation of the β -subunit of ovine follicle-stimulating hormone relies heavily on a promoter sequence likely to bind Smad-associated proteins. Endocrinology. 2007;148(9):4500-8.
67. Besecke LM, Guendner MJ, Schneyer AL, Bauer-Dantoin AC, Jameson JL, Weiss J. Gonadotropin-releasing hormone regulates follicle-stimulating

hormone-beta gene expression through an activin/follistatin autocrine or paracrine loop. *Endocrinology*. 1996;137(9):3667-73.

68. Bilezikjian LM, Corrigan AZ, Blount A, Vale W. Pituitary follistatin and inhibin subunit messenger ribonucleic acid levels are differentially regulated by local and hormonal factors. *Endocrinology*. 1996;137(10):4277-84.
69. Jameson JL, Hollenberg AN. Regulation of chorionic gonadotropin gene expression. *Endocrine Reviews*. 1993;14(2):203-21.
70. Huhtaniemi I, Jiang M, Nilsson C, Pettersson K. Mutations and polymorphisms in gonadotropin genes. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 1999;151(1-2):89-94.
71. Fares FA, Suganuma N, Nishimori K, LaPolt PS, Hsueh A, Boime I. Design of a long-acting follitropin agonist by fusing the C-terminal sequence of the chorionic gonadotropin beta subunit to the follitropin beta subunit. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1992;89(10):4304-8.
72. Lapolt PS, Nishimori K, Fares FA, Perlas E, Boime I, Hsueh A. Enhanced stimulation of follicle maturation and ovulatory potential by long acting follicle-stimulating hormone agonists with extended carboxyl-terminal peptides. *Endocrinology*. 1992;131(6):2514-20.
73. Bouloux P, Handelsman D, Jockenhövel F, Nieschlag E, Rabinovici J, Frasa W, ve ark. First human exposure to FSH-CTP in hypogonadotrophic hypogonadal males. *Human Reproduction*. 2001;16(8):1592-7.
74. Duijkers IJ, Klipping C, Boerrigter PJ, Machielsen CS, De Bie JJ, Voortman G. Single dose pharmacokinetics and effects on follicular growth and serum hormones of a long-acting recombinant FSH preparation (FSH-CTP) in healthy pituitary-suppressed females. *Human Reproduction*. 2002;17(8):1987-93.
75. Adams T, Boime I. The expanding role of recombinant gonadotropins in assisted reproduction. *Reproduction in Domestic Animals*. 2008;43:186-92.
76. Perlman S, van den Hazel B, Christiansen J, Gram-Nielsen S, Jeppesen CB, Andersen KV, ve ark. Glycosylation of an N-terminal extension prolongs the half-life and increases the in vivo activity of follicle stimulating hormone. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2003;88(7):3227-35.
77. Gibreel A, Bhattacharya S. Recombinant follitropin alfa/lutropin alfa in fertility treatment. *Biologics: targets & therapy*. 2010;4:5.
78. Bosch E, Havelock J, Martin FS, Rasmussen BB, Klein BM, Mannaerts B, ve ark. Follitropin delta in repeated ovarian stimulation for IVF: a

controlled, assessor-blind Phase 3 safety trial. *Reproductive biomedicine online*. 2019;38(2):195-205.

79. Cole LA, Shahabi S, Oz UA, Bahado-Singh RO, Mahoney MJ. Hyperglycosylated human chorionic gonadotropin (invasive trophoblast antigen) immunoassay: a new basis for gestational Down syndrome screening. *Clinical chemistry*. 1999;45(12):2109-19.
80. Pandian R, Cole LA, Palomaki GE. Second-trimester maternal serum invasive trophoblast antigen: a marker for Down syndrome screening. *Clinical chemistry*. 2004;50(8):1433-5.
81. Bahado-Singh RO, Oz U, Shahabi S, Mahoney MJ, Baumgarten A, Cole LA. Comparison of urinary hyperglycosylated human chorionic gonadotropin concentration with the serum triple screen for Down syndrome detection in high-risk pregnancies. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2000;183(5):1114-8.
82. Casadesus G, Webber KM, Atwood CS, Pappolla MA, Perry G, Bowen RL, ve ark. Luteinizing hormone modulates cognition and amyloid- β deposition in Alzheimer APP transgenic mice. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2006;1762(4):447-52.
83. Jia X-C, Oikawa M, Bo M, Tanaka T, Ny T, Boime I, ve ark. Expression of human luteinizing hormone (LH) receptor: interaction with LH and chorionic gonadotropin from human but not equine, rat, and ovine species. *Molecular Endocrinology*. 1991;5(6):759-68.
84. Minegishi T, Nakamura K, Takakura Y, Ibuki Y, Igarashi M. Cloning and sequencing of human FSH receptor cDNA. *Biochemical and biophysical research communications*. 1991;175(3):1125-30.
85. Kelton CA, Cheng SV, Nugent NP, Schweickhardt RL, Rosenthal JL, Overton SA, ve ark. The cloning of the human follicle stimulating hormone receptor and its expression in COS-7, CHO, and Y-1 cells. *Molecular and cellular endocrinology*. 1992;89(1-2):141-51.
86. Gether U. Uncovering molecular mechanisms involved in activation of G protein-coupled receptors. *Endocrine reviews*. 2000;21(1):90-113.
87. Costagliola S, Panneels V, Bonomi M, Koch J, Many M-C, Smits G, ve ark. Tyrosine sulfation is required for agonist recognition by glycoprotein hormone receptors. *The EMBO journal*. 2002;21(4):504-13.
88. Menon K, Menon B. Structure, function and regulation of gonadotropin receptors—a perspective. *Molecular and cellular endocrinology*. 2012;356(1-2):88-97.

89. Latronico AC, Segaloff DL. Naturally occurring mutations of the luteinizing-hormone receptor: lessons learned about reproductive physiology and G protein-coupled receptors. *The American Journal of Human Genetics*. 1999;65(4):949-58.
90. Themmen AP, Huhtaniemi IT. Mutations of gonadotropins and gonadotropin receptors: elucidating the physiology and pathophysiology of pituitary-gonadal function. *Endocrine reviews*. 2000;21(5):551-83.
91. Müller T, Gromoll Jr, Simoni M. Absence of exon 10 of the human luteinizing hormone (LH) receptor impairs LH, but not human chorionic gonadotropin action. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2003;88(5):2242-9.
92. La Marca A, Sighinolfi G, Argento C, Grisendi V, Casarini L, Volpe A, et al. Polymorphisms in gonadotropin and gonadotropin receptor genes as markers of ovarian reserve and response in in vitro fertilization. *Fertility and sterility*. 2013;99(4):970-8. e1.
93. Piersma D, Verhoef-Post M, Berns E, Themmen A. LH receptor gene mutations and polymorphisms: an overview. *Molecular and cellular endocrinology*. 2006;260:282-6.
94. Doherty E, Pakarinen P, Tiitinen A, Kiilavuori A, Huhtaniemi I, Forrest S, et al. A novel mutation in the FSH receptor inhibiting signal transduction and causing primary ovarian failure. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002;87(3):1151-5.
95. Smits G, Olatunbosun O, Delbaere A, Pierson R, Vassart G, Costagliola S. Ovarian hyperstimulation syndrome due to a mutation in the follicle-stimulating hormone receptor. *New England Journal of Medicine*. 2003;349(8):760-6.
96. Dierich A, Sairam MR, Monaco L, Fimia GM, Gansmuller A, LeMeur M, et al. Impairing follicle-stimulating hormone (FSH) signaling in vivo: targeted disruption of the FSH receptor leads to aberrant gametogenesis and hormonal imbalance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998;95(23):13612-7.
97. Sundarajan C, Liao W-X, Roy A, Ng S. Association of oestrogen receptor gene polymorphisms with outcome of ovarian stimulation in patients undergoing IVF. *Molecular human reproduction*. 1999;5(9):797-802.
98. Westergaard LG, Erb K, Laursen S, Rasmussen PE, Rex S. The effect of human menopausal gonadotrophin and highly purified, urine-derived follicle stimulating hormone on the outcome of in-vitro fertilization in down-regulated normogonadotrophic women. *Human reproduction*. 1996;11(6):1209-13.

99. Yakin K, Balaban B, Isiklar A, Urman B. Oocyte dysmorphism is not associated with aneuploidy in the developing embryo. *Fertility and sterility*. 2007;88(4):811-6.
100. Sterrenburg M, Veltman-Verhulst S, Eijkemans M, Hughes E, Macklon N, Broekmans F, ve ark. Clinical outcomes in relation to the daily dose of recombinant follicle-stimulating hormone for ovarian stimulation in in vitro fertilization in presumed normal responders younger than 39 years: a meta-analysis. *Human reproduction update*. 2011;17(2):184-96.
101. Alviggi C, Conforti A, Esteves SC, Vallone R, Venturella R, Staiano S, ve ark. Understanding ovarian hypo-response to exogenous gonadotropin in ovarian stimulation and its new proposed marker—the follicle-to-oocyte (FOI) index. *Frontiers in endocrinology*. 2018;9:589.
102. Genro VK, Matte U, De Conto E, Cunha-Filho JS, Fanchin R. Frequent polymorphisms of FSH receptor do not influence antral follicle responsiveness to follicle-stimulating hormone administration as assessed by the Follicular Output RaTe (FORT). *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2012;29(7):657-63.
103. Guo C, Yu H, Feng G, Lv Q, Liu X, Liu X. Associations of FSHR and LHCGR gene variants with ovarian reserve and clinical pregnancy rates. *Reproductive BioMedicine Online*. 2021.
104. Conforti A, Esteves SC, Cimadomo D, Vaiarelli A, Di Rella F, Ubaldi FM, ve ark. Management of women with an unexpected low ovarian response to gonadotropin. *Frontiers in endocrinology*. 2019;10:387.
105. Zoppi S, Wilson CM, Harbison MD, Griffin JE, Wilson JD, McPhaul MJ, ve ark. Complete testicular feminization caused by an amino-terminal truncation of the androgen receptor with downstream initiation. *The Journal of clinical investigation*. 1993;91(3):1105-12.
106. Di Pasquale E, Beck-Peccoz P, Persani L. Hypergonadotropic ovarian failure associated with an inherited mutation of human bone morphogenetic protein-15 (BMP15) gene. *The American Journal of Human Genetics*. 2004;75(1):106-11.
107. Jain R, Taylor-Cousar JL. Fertility, Pregnancy and Lactation Considerations for Women with CF in the CFTR Modulator Era. *Journal of Personalized Medicine*. 2021;11(5):418.
108. Levine LS, Dupont B, Lorenzen F, Pang S, Pollack M, Oberfield S, ve ark. Cryptic 21-hydroxylase deficiency in families of patients with classical congenital adrenal hyperplasia. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1980;51(6):1316-24.

109. Layman LC, Shelley ME, Huey LO, Wall SW, Tho SP, McDonough PG. Follicle-stimulating hormone beta gene structure in premature ovarian failure. *Fertility and sterility*. 1993;60(5):852-7.
110. Aittomäki K, Lucena JD, Pakarinen P, Sistonen P, Tapanainen J, Gromoll J, ve ark. Mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene causes hereditary hypergonadotropic ovarian failure. *Cell*. 1995;82(6):959-68.
111. Phillips DJ, Albertsson-Wikland K, Eriksson K, Wide L. Changes in the isoforms of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone during puberty in normal children. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1997;82(9):3103-6.
112. Latronico AC, Chai Y, Arnhold IJ, Liu X, Mendonca BB, Segaloff DL. A homozygous microdeletion in helix 7 of the luteinizing hormone receptor associated with familial testicular and ovarian resistance is due to both decreased cell surface expression and impaired effector activation by the cell surface receptor. *Molecular Endocrinology*. 1998;12(3):442-50.
113. Tatsumi K-i, Miyai K, Notomi T, Kaibe K, Amino N, Mizuno Y, ve ark. Cretinism with combined hormone deficiency caused by a mutation in the PIT1 gene. *Nature genetics*. 1992;1(1):56-8.
114. Hughes DC, Barratt CL. Identification of the true human orthologue of the mouse Zp1 gene: evidence for greater complexity in the mammalian zona pellucida? *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*. 1999;1447(2-3):303-6.
115. Ganesh V, Venkatesan V, Koshy T, Reddy SN, Muthumuthiah S, Paul SFD. Association of estrogen, progesterone and follicle stimulating hormone receptor polymorphisms with in vitro fertilization outcomes. *Systems biology in reproductive medicine*. 2018;64(4):260-5.
116. Vaiarelli A, Cimadomo D, Trabucco E, Vallefucio R, Buffo L, Dusi L, ve ark. Double stimulation in the same ovarian cycle (DuoStim) to maximize the number of oocytes retrieved from poor prognosis patients: a multicenter experience and SWOT analysis. *Frontiers in endocrinology*. 2018;9:317.
117. Yatsenko SA, Rajkovic A. Genetics of human female infertility†. *Biology of Reproduction*. 2019;101(3):549-66.
118. Drakopoulos P, Santos-Ribeiro S, Bosch E, Garcia-Velasco J, Blockeel C, Romito A, ve ark. The effect of dose adjustments in a subsequent cycle of women with suboptimal response following conventional ovarian stimulation. *Frontiers in endocrinology*. 2018;9:361.

119. Levallet J, Pakarinen P, Huhtaniemi IT. Follicle-stimulating hormone ligand and receptor mutations, and gonadal dysfunction. *Archives of Medical Research*. 1999;30(6):486-94.
120. Lindgren I, Bååth M, Uvebrant K, Dejmeek A, Kjaer L, Henic E, ve ark. Combined assessment of polymorphisms in the LHCGR and FSHR genes predict chance of pregnancy after in vitro fertilization. *Human Reproduction*. 2016;31(3):672-83.
121. Robeva R, Andonova S, Tomova A, Kumanov P, Savov A. LHCG receptor polymorphisms in PCOS patients. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2018;32(2):427-32.
122. Laven JS. Follicle stimulating hormone receptor (FSHR) polymorphisms and polycystic ovary syndrome (PCOS). *Frontiers in endocrinology*. 2019;10:23.
123. Du J, Zhang W, Guo L, Zhang Z, Shi H, Wang J, ve ark. Two FSHR variants, haplotypes and meta-analysis in Chinese women with premature ovarian failure and polycystic ovary syndrome. *Molecular genetics and metabolism*. 2010;100(3):292-5.
124. Alviggi C, Conforti A, Santi D, Esteves SC, Andersen CY, Humaidan P, ve ark. Clinical relevance of genetic variants of gonadotrophins and their receptors in controlled ovarian stimulation: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*. 2018;24(5):599-614.
125. Polyzos NP, Neves AR, Drakopoulos P, Spits C, Alvaro Mercadal B, Garcia S, ve ark. The effect of polymorphisms in FSHR and FSHB genes on ovarian response: a prospective multicenter multinational study in Europe and Asia. *Human Reproduction*. 2021;36(6):1711-21.
126. Ghaderian SMH, Akbarzadeh R, Salehpour S. Involvement of single nucleotide polymorphisms in ovarian poor response. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2021:1-9.
127. Riccetti L, De Pascali F, Gilioli L, Santi D, Brigante G, Simoni M, ve ark. Genetics of gonadotropins and their receptors as markers of ovarian reserve and response in controlled ovarian stimulation. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2017;44:15-25.

8. ÖZET

IVF İÇİN YAPILAN OVARYEN STİMÜLASYONA SUBOPTİMAL YANITTA GONADOTROPİN RESEPTÖR POLİMORFİZMİNİN ROLÜ

Çalışmamızın amacı; IVF tedavisinde ovaryen stimülasyona yanıtın gonadotropin reseptör (FSHR, LHCGR) polimorfizmi ile olan ilişkisini incelemektir. Buna ek olarak genetik varyant varlığının, reseptör polimorfizminin gebelik verileri ve IVF endikasyonları ile olan ilişkiler ise ikincil amaç olarak araştırılmıştır.

Retrospektif planlanan bu çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yardımcı Üreme Teknikleri Merkezi'ne ve Novaart Tüp Bebek ve Kadın Sağlığı Merkezi'ne Ocak 2018 ve Aralık 2020 tarihleri arasında NGS ile infertilite paneli testi bakılan ve IVF tedavisine devam etmiş olan 128 infertil hasta dahil edildi. Hastaların arşivlenmiş demografik ve tedavi döngüsü özellikleri, gebelik verileri ve NGS kullanıldı. Hastalar genetik varyant varlığı, reseptör polimorfizmi açısından gruplandırılarak; demografik özellikler, gebelik sonuçları ve ovaryen yanıt sonuçlarına göre analiz edildi.

Hastaların demografik özellikleri, genetik varyant olup olmamasına göre karşılaştırılmasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Reseptör polimorfizmi olan grupta bazal FSH düzeyi daha yüksek bulundu ($p=0,046$). Ovaryen yanıt FOI ve FORT olarak ayrı ayrı değerlendirildiğinde FOI ve FORT'un düşük ya da normal olmasına göre gruplandırılarak genetik varyant, reseptör polimorfizmi, FSHR ve LHCGR polimorfizmi açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (FOI için sırasıyla $p=0,71$, $p=0,21$, $p=0,61$, $p=0,29$; FORT için

sırasıyla $p=1$, $p=1$, $p=0,31$, $p=0,57$). Gebeliği olan ve olmayan hastalar; genetik varyant, reseptör polimorfizmi, FSHR ve LHCGR polimorfizmi olup olmasına göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü (sırasıyla $p= 0,34$, $p=0,44$, $p=0,57$, $p=1$). Ovulatuvar faktör; genetik varyant ve reseptör polimorfizmi olup olmasına göre karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı (sırasıyla $p=0,60$, $p=0,70$).

Çalışma popülasyonumuzda genetik varyant, gonadotropin reseptör polimorfizm insidansı düşük olup bu hastaların ovaryen stimülasyon sonuçları ve gebelik sonuçları gonadotropin reseptör polimorfizminden etkilenmediği için IVF uygulanan hastalarda NGS ile bu genetik testlerin rutin olarak yapılmasına gerek yoktur.

Anahtar Kelimeler: FSHR Polimorfizmi, LHCGR Polimorfizmi, Gonadotropim Reseptör Polimorfizmi, FORT, FOI

9. SUMMARY

THE ROLE OF GONADOTROPIN RECEPTOR POLYMORPHISM IN THE SUBOPTIMAL RESPONSE TO OVARIAN STIMULATION FOR IVF

The aim of our study was to evaluate the relationship between response to ovarian stimulation and gonadotropin receptor (FSHR, LHCGR) polymorphism in patients having IVF treatment. In addition, relationship between the presence of genetic variants, receptor polymorphism, with pregnancy rates and indications of IVF were investigated as a secondary outcome measures.

This retrospective study included 128 infertile patients who underwent NGS infertility panel test and IVF treatment at Gazi University Faculty of Medicine Assisted Reproductive Techniques Center and Novaart IVF and Women's Health Center between January 2018 and December 2020. Archived data of demographic and treatment cycle characteristics, pregnancy rates and NGS were used. Presence of genetic variant, receptor polymorphism were analysed based on demographic characteristics, ovarian response to stimulation and pregnancy outcomes.

There was no significant difference in the comparison of the demographic characteristics of the patients according to whether they have genetic variant or not ($p>0.05$). Basal FSH level was found to be higher in the group with receptor polymorphism ($p=0.046$). When the ovarian response was evaluated separately as FOI and FORT, there was no statistically significant difference between the groups of decreased and normal FOI and FORT regarding presence of genetic variant, receptor polymorphism, FSHR and LHCGR polymorphism (for FOI

p=0.71, p=0.21, p=0.61, p=0.29, respectively; for FORT p=1, p=1, p=0.31, p=0.57, respectively). In comparison between patients with and without pregnancy, no statistically significant difference was found regarding genetic variant, receptor polymorphism, FSHR and LHCGR polymorphism (p= 0.34, p=0.44, p=0.57, p=1, respectively). The rates of genetic variant and receptor polymorphism were also similar between patients with and without ovulatory factor (p=0.60, p=0.70, respectively).

Since the incidence of genetic variants and gonadotropin receptor polymorphisms is low in this population and ovarian response to stimulation and pregnancy outcomes were not influenced by gonadotropin receptor polymorphisms, there is no need to perform routine these genetic tests with NGS in patients undergoing IVF.

Keywords: FSHR Polymorphism, LHCGR Polymorphism, Gonadotropy Receptor Polymorphism, FORT, FOI

