



**T.C.
BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
KLİNİK EMBRİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**POLİKİSTİK OVER SENDROMLU HASTALARDA SERUM
HORMON DEĞERLERİ VE ENDOMETRİUM KALINLIĞININ
TAZE VE DONDURULMUŞ-ÇÖZÜLMÜŞ EMBRİYO CANLILIĞI
VE GEBELİK ÜZERİNE ETKİSİ**

BARIŞHAN ÖZDEMİR

DANIŞMAN

Prof. Dr. Tülay İREZ

İSTANBUL

2019



T.C.
BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
KLİNİK EMBRİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

POLİKİSTİK OVER SENDROMLU HASTALARDA SERUM
HORMON DEĞERLERİ VE ENDOMETRİUM KALINLIĞININ
TAZE VE DONDURULMUŞ-ÇÖZÜLMÜŞ EMBRİYO CANLILIĞI
VE GEBELİK ÜZERİNE ETKİSİ

BARIŞHAN ÖZDEMİR

DANIŞMAN

Prof. Dr. Tülay İREZ

İSTANBUL

2019

Anabilim Dalı: Histoloji ve Embriyoloji

Program Adı: Klinik Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

Öğrencinin Adı Soyadı: Barışhan ÖZDEMİR

Danışman: Prof. Dr. Tülay İREZ

Biruni Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Barışhan ÖZDEMİR tarafından hazırlanan "Polikistik Over Sendromlu Hastalarda Serum Hormon Değerleri ve Endometrium Kalınlığının Taze ve Dondurulmuş-Çözülmüş Embriyo Canlılığı ve Gebelik Üzerine Etkisi" adlı tez çalışması jüri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:19/06/2019

(Jüri Üyesinin Ünvanı, Adı, Soyadı ve Kurumu)

İmza

Prof. Dr. Tülay İREZ

Biruni Üniversitesi

Prof. Dr. Neşet Cem FİÇICIOĞLU

Yeditepe Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Meryem ALAGÖZ

Biruni Üniversitesi

Biruni Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca bu tez jüri tarafından onaylanmış ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

I. BEYAN

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

BARIŞHAN ÖZDEMİR



II. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimime başladığım günden itibaren benimle çok ilgilenen, tez çalışmamın yapılmasında bilgisini ve değerli görüşlerini paylaşan, değerli danışmanım ve hocam, sayın **Prof. Dr.TÜLAY İREZ'e**, yüksek lisans eğitimimde beni yalnız bırakmayan, bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan değerli arkadaşım **Emb. SEVİL ÜNAL'a**, teşekkürlerimi borç bilirim.

Eğitimime başladığım ilk günden beri bana her konuda yardımcı olan ve manevi gücü bana hissettiren çok kıymetli eşime ve ailem'e çok teşekkür ederim.

Benden hiçbir zaman sevgi ve desteęini esirgemeyen sevgili eřim Yasin
ÖZDEMİR'e ve varlığı ve sevgisiyle destek veren canım kızım Ekin ÖZDEMİR'e ithaf
ediyorum.

III. İÇİNDEKİLER

I.BEYAN.....	I
II.TEŞEKKÜR	II
III.İÇİNDEKİLER	IV
IV.SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	VII
V.TABLO LİSTESİ	IX
VI.ŞEKİL LİSTESİ.....	X
1.ÖZET VE ANAHTAR KELİMELER.....	1
2.ABSTRACT	2
3.GİRİŞ VE AMAÇ	3
4.GENEL BİLGİLER	5
4.1. Kadın Üreme Sistemi Fizyolojisi	5
4. 2. Polikistik Over Sendromu	9
4. 2. 1. Polikistik Over Sendromunun Belirti ve Bulguları.....	10
4.2.1.1. Polikistik Over Sendromlu Hastalarda Serum Horman Değerleri	12
4.2.1.2. Polikistik Over Sendromlu Hastalarda Endometrial Reseptivite.....	13
4. 2. 2. Polikistik Over Sendromunun Etiyopatogenezi ve İnfertilite	14
4. 2. 2. 1. Gonadotropin Sekresyon Defektleri	14
4. 2. 2. 2. Steroidogenez Değişiklikleri.....	15
4. 2. 2. 3. İnsülin Salınım ve Etki Bozuklukları.....	15
4. 2. 2. 4. Genetik Faktörler	16
4.2.3. Polikistik Over Sendromlu Hastalarda Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu (OHSS)	17
4.3. Yardımla Üreme Tekniklerinde Kriyoprezervasyon Uygulamaları.....	18

4. 3. 1. Kriyoprezervasyon İşleminde Kullanılan Kimyasal Maddeler	20
4.3.1.1. Hücre İçine Nüfuz Edebilen Kriyoprotektanlar	21
4.3.1.2. Hücre İçine Nüfuz Edemeyen Kriyoprotektanlar	21
4.3.2.1. Yavaş Dondurma (Slow Freezing)	22
4.3.2.2 Hızlı Dondurma (Rapid Freezing)	23
4.3.2.3. Vitrifikasyon	24
4.4. Yardımla Üreme Tekniklerinde Embriyo Çözdürme.....	25
5. GEREÇ VE YÖNTEM	26
5.1. Hasta Seçimi.....	26
5.2. Hastanın Klinik Olarak Hazırlanması	27
5.3. Sperm Hazırlama.....	27
5.4. Oosit Toplama İşlemi.....	27
5.5. Oosit Soyma İşlemi (Denudasyon)	28
5.6. Mikroenjeksiyon İşlemi (ICSI)	28
5.7. Fertilizasyon Değerlendirmesi	29
5.8. Klivaj Değerlendirmesi	29
5.9. Gebelik Değerlendirmesi	30
6. BULGULAR	31
7. TARTIŞMA	36
8. SONUÇ VE ÖNERİLER	41
9.KAYNAKÇA.....	42
10.EKLER	50
EK1.GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	50
EK2.ETİK KURUL ONAYI.....	52
11.ÖZGEÇMİŞ	54



IV. SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ

ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
AMH	Antimüllerian Hormon
BKİ	Beden Kitle İndeksi
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
E2	Östradiol
EG	Etilen Glikol
FSH	Folikül Stimüle Edici Hormon
FOH	Fonksiyonel Ovarian Hiperandrojenizm
DHEA	Dihidroepiandrostenedion
DMSO	Dimetilsülfoksit
GnRH	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
GL	Gliserol
Hcg	İnsan Koryonik Gonadotropin
HSA	İnsan Serum Albumini
ICSI	İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu
IVF	İn Vitro Fertilizasyon
KOH	Kontrollü Over Hiperstimülasyonu
LH	Luteinizan Hormon
NIH	Ulusal Sağlık Entitüsü
OHSS	Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu
IGF-1	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1
IGF-2	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 2

OPS	Açık Çekilmiş Payet
OPU	Oocyte Pick Up (Oosit toplama işlemi)
PVA	Polivinil Alkol
PVP	Polivinil Pirrolidon
PrOH	Propanediol
P	Progesteron
PG-F2a	Prostaglandin F2a
PKO	Polikistik Over
PKOS	Polikistik Over Sendromu
SHBG	Seks Hormon Bağlayıcı Globulin
YÜT	Yardımla Üreme Teknikleri

V. TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Polikistik over sendromunun belirti ve bulguları	8
Tablo 2. OHSS Risk faktörleri ve Önlenmesi (ASRM 2008).....	18
Tablo 3. Gruplar arası Yaş, BKİ , Antral Folikül ve Endometrium kalınlığının karşılaştırılması.	25
Tablo 4. Gruplar arası serum hormon değerleri karşılaştırılması.	26
Tablo 5. Gruplar arası Gonadotropin başlangıç ve bitiş ünitesi ve E2 değerlerinin karşılaştırılması.	26
Tablo 6. Gruplar arası elde edilen Oosit, M2, 2PN ve Blastokist sayısı, Transfer Edilen Embriyo Kalitesi ve Klinik Gebelik oranlarının karşılaştırılması.....	27
Tablo 7. Gruplar arası gebelik yüzdesinin karşılaştırılması.....	28
Tablo 8. Fresh (Taze embriyo transferi), Frozen (Dondurulmuş -Çözülmüş emriyo transferi) üzerinde ki gebelik görülme sıklığı ve yüzdesi.	29

VI. ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Menstrüel siklus	6
---------------------------------	---



1. ÖZET VE ANAHTAR KELİMELELER

İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI) ile elde edilen embriyoların; PKOS'lu hastalarda OHSS riskini engellemek, endometrial reseptiviteyi ve implantasyonu arttırmak için, dondurulup-çözölmüş embriyo transferinin gebelik oranını arttırdığı düşünülmektedir. In Vitro fertilizasyon sikluslarında fazla sayıda oosit elde etmek için kullanılan ovulasyon indüksiyon ilaçları endometrial reseptiviteyi bozar ve implantasyonu azaltır. HCG sitömölasyonunun OHSS gelişiminde önemli rolü vardır. Çok sayıda corpus luteum ile karakterize, steroid hormonların aşırı üretimine bağılı olarak, kapiler permeabilite'nin artması sonucu vücut üçüncü boşluklarında aşırı sıvı birikmesine (asit) sebep olur. Ancak hastalarda HCG yerine OHSS' ye yol açmayan GnRH analogu ile yumurta olgunlaşmasını sağlayarak OHSS engellenir ve GnRH analogunun luteal faz desteğinde yetersizliğe sebep olması nedeniyle dondurulmuş-çözölmüş embriyo transferi yapılarak hastanın olası risklerden korunması sağlanmaktadır. Bu çalışmada 100 polikistik over hastası prospektif randomize olarak incelenmiştir. Bu hastaların verileri randomize olarak 50'si HCG ile tetiklenmiş taze embriyo transferi yapılan gruptan, hastaların 50' si GnRH analogu ile tetiklenmiş dondurulmuş embriyo transfer grubundan elde edilmiştir. Çalışmada rutin hormon analizleri (3.gün E2, FSH ve LH) değerleri hasta dosyalarından elde edilmiş, transfer günü endometrium kalınlığı, embriyo gelişim süreci, transfer edilecek embriyo kalitesi de rutin takip formlarından elde edilmiştir. İki grup arasında bazal hormon değerleri, endometrium kalınlığı ve embriyo kalitesi açısından bir farklılık bulunmamıştır. Serum AMH değeri dondurulup-çözölmüş embriyo transfer grubunda daha yüksek bulunmuştur. Klinik gebelik oranları dondurulmuş sikluslarda daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır. Polikistik over tanılı hastalarda dondurulup-çözölmüş embriyo transferinin taze embriyo transferi ile benzer sonuç verdiği ve OHSS' nin engellenmesi açısından iyi bir klinik yaklaşım olabileceğı görölmüştür.

Anahtar Kelimeler: Dondurulmuş-çözölmüş embriyo transferi, OHSS, Polikistik Over Sendromu, Taze embriyo transferi

2. ABSTRACT

THE EFFECT OF SERUM HORMONE VALUES AND ENDOMETRIUM THICKNESS ON FRESH AND FROZEN SOLVED EMBRIO VITALITY AND PREGNANCY IN PATIENTS WITH POLYCYSTIC OVER SYNDROME

Embryos obtained by intracytoplasmic sperm injection (ICSI); Freezing-thawed embryo transfer is thought to increase the pregnancy rate in PCOS patients to prevent the risk of OHSS and to increase endometrial receptivity and implantation. Ovulation induction drugs used to obtain a large number of oocytes in In Vitro fertilization cycles disrupt endometrial receptivity and reduce implantation. HCG stimulation plays an important role in the development of OHSS. However, OHS is prevented by providing egg maturation with GnRH analogue that does not cause OHSS instead of HCG, and the patient is protected from possible risks by transferring frozen-thawed embryos because GnRH analogue causes inadequate luteal phase support. In this study, 100 polycystic ovary patients were prospectively randomized. The data of these patients were obtained randomly from 50 fresh HCG-induced embryo transfer groups and 50 of the patients were from the frozen embryo transfer group triggered by the GnRH analogue. In the study, routine hormone analysis (E2, FSH and LH) values were obtained from patient files. There was no difference between the two groups in terms of basal hormone values, endometrial thickness and embryo quality. Serum AMH levels were higher in the freeze-thawed embryo transfer group. Although clinical pregnancy rates were higher in frozen cycles, no statistical difference was found. It was found that freeze-thawed embryo transfer in polycystic ovary patients had similar results with fresh embryo transfer and it could be a good clinical approach for OHSS prevention.

Keywords: Fresh embryo transfer, Frozen embryo transfer, OHSS, Polycystic Over Syndrome

3. GİRİŞ VE AMAÇ

İnfertilite, bir yıl içinde herhangi bir doğum kontrol yöntemi uygulanmamasına ve düzenli cinsel ilişki olmasına rağmen gebelik gerçekleşmemesi olarak tanımlanmaktadır. Yaklaşık olarak sağlıklı çiftlerin ilk bir yıl içerisinde %85-90 oranında gebelik gerçekleşmesi beklenir (Mosher and Pratt, 1991). Üreme çağındaki çiftlerin yaklaşık %10-15'i infertilite problemi ile karşı karşıyadır (Barbieri, 2004). İnfertilite tedavisinde yardımcı üreme teknolojisi invitro fertilizasyon (IVF) ve introstoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) yöntemleri umut kaynağı olmuştur. Bu sebeple dünyada binlerce çift yardım alabilmek için tedavi merkezlerine başvurmaktadır (Chian et al., 1999).

Embriyo kriyoprezervasyonu, (Yardımla Üreme Teknikleri) YÜT' nin kullanımının yaygınlaşması ile potansiyel fertilite prezervasyonu için önemli bir alternatif oluşturmuştur (Lobo, 2005). Kriyoprezervasyon (dondurulup saklama) uygulamaları fizyolojik olmayan ve yüksek ısı ile ozmotik değişikliklere ihtiyaç duyan laboratuvar uygulamalarıdır. Yardımla üreme teknikleri (YÜT) embriyo ve gametin kriyoprezervasyonunda çok kritik role sahiptir. YÜT, sadece ovaryumun stimüle edilmesinde değil aynı zamanda bu uyarılma sonucunda hastaların yüksek gonadotropin almadan gebeliklerin kümülatif olarak artırılmasında da etkilidir (Loutradi et al., 2008).

Çevresel ve genetik faktörlerin etkisi ile ortaya çıkan Polikistik Over Sendromunun (PKOS) hiperandrojenizm ve kronik anovulasyon ile karakterize olan metabolik bir bozukluktur (Witchel, 2007). Ultrasonografide PKOS saptanan hastalar klinik ve endokrin olarak PKOS olmasalar dahi Ovariyan Hiperstimülasyon Sendromu (OHSS) gelişimi açısından artmış risk altındadırlar (MacDougall et al., 2007). OHSS; Ayrıca HCG ya da Agonist tetikleyicilerin kullanıldığı hastalarda embriyoyu dondurmak sureti ile de engellenebilir. Bu şekilde agonist stimülanların kullanıldığı döngülerde endometriyal reseptivite ile ilişkili düşük implantasyon riski azaltılmış olur (Jee et al., 2010).

Bu alışmada, PKOS'lu hastalarda OHSS riskini önlemek ve endometrial reseptiviteyi arttırmak için ICSI ile vitrifikasyon yöntemlerinin kombine şekilde kullanılmasının sağlıklı embriyo üretimine ve başarılı implantasyon oranına etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



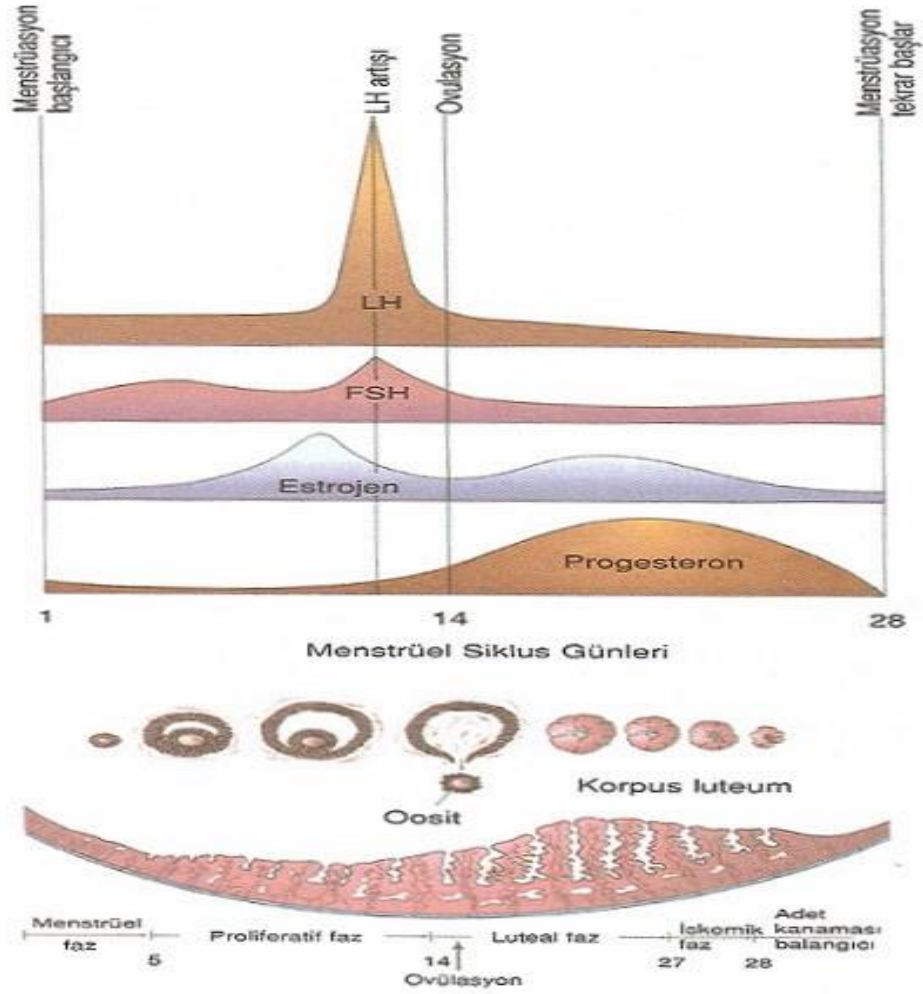
4. GENEL BİLGİLER

Kadınlarda en fazla karşılaşılan infertilite sebebi, ovulasyon bozukluğudur. İnfertilite problemi olan kadınların %40'ından fazlasında ovulasyon problemi bulunmaktadır. Çevresel ve genetik faktörlerin etkisi ile ortaya çıkan Polikistik Over Sendromunun (PKOS) hiperandrojenizm ve kronik anovulasyon ile karakterize olan metabolik bir bozukluktur (Witchel, 2007). Menstrüel siklus karmaşık bir yapıya sahiptir. Bu karmaşık yapıda ortaya çıkan bir değişiklik siklusu bozabilir ve ovulasyon engellenebilir. Modern tedavi yöntemleri ile bu hastaların gebe kalma şansları oldukça yüksektir. Polikistik over sendromu nedenlerine bakmadan önce doğal ovaryal siklusun fizyolojisine bakmak faydalı olacaktır (Johnson and Everitt, 1988).

4.1. Kadın Üreme Sistemi Fizyolojisi

Kadınlarda ergenliğin ilk belirteçlerden olan menarşdan menopoz dönemine kadar geçen sürede her ay periyodik olarak görülen fizyolojik karakterli vajinal kanamalara 'menstrüasyon' adı verilir. Adet kanamaları hipotalamustan salgılanan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH), hipofizden salgılanan follikül stimüle edici hormon (FSH), lüteinizan hormon (LH) ile ovaryal seks steroidleri arasındaki koordinasyonun hedef organ endometriyumundaki etkileşimler sonucu meydana gelir.

Bireysel farklılıklar ile birlikte genellikle 28 gün süren ovulatuvar sikluslar 21-40 gün arasında değişebilen düzenli aralıklar ile meydana gelmektedir. Gonadotropinin seviyesine bağlı olarak perimenapozal ya da perimenarşyal kadınlarda sikluslar normalden daha uzun ya da daha kısa olabilir. Overler folliküler ve luteal evreler olarak iki dönemi belirler. Folliküler evrenin endometriyal dokudaki karşılığı proliferatif, luteal dönemindeki karşılığı ise sekretuar evrelerdir.



Şekil 1. Menstrüel siklus: Üst panelde siklik FSH, LH, östradiol (E₂) ve progesteron (P) değişiklikleri ovulasyon zamanı esas alınarak gösterilmektedir. Alt panelde ovaryel siklusun folliküler ve luteal dönemlerinin endometriyal siklusdaki proliferatif ve sekretuar evreler ile kolerasyonu gösterilmektedir (Moore and Persaud, 2009).

Kadınlar, puberteden başlayan ve hipotalamus, hipofiz bez ve overler tarafından düzenlenen aylık üreme sikluslarına girerler. Bu sikluslar üreme sistemini gebeliğe hazırlar. Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH), hipotalamustaki nörosekretuar hücreler tarafından sentezlenir. Bu hormon ön hipofizde sentezlenen ve overlere etki eden gonadotropinlerin salınımını uyarır. Menstrüel siklus folliküler ve luteal evreleri içerir. Folliküler evre FSH, luteal evre LH hormonunun etkisi altında gerçekleşir. Yaklaşık 9 gün süren proliferatif evre ovaryal folliküllerin büyümesi ile aynı zamanda olur ve bu folliküller tarafından salgılanan östrojen sayesinde kontrol edilir. Bu süre içinde endometriyum kalınlığında iki üç kat artmış olur. Bu evrenin erken dönemlerinde endometriyumun yüzey epiteli yenilenir. Bezlerin sayı ve uzunlukları artar ve spiral arterlerde uzama olur. Luteal evrede LH, ovulasyon için tetik görevi yapar ve folliküler hücrelerle korpus luteumun progesteron üretimini uyarır. Yaklaşık 13 gün süren luteal evre, korpus luteumun oluşumu, işlev görmesi ve büyümesi ile eş zamanlıdır. Korpus luteum tarafından üretilen progesteron, bez epitelinin glikojenden zengin mukus salgılamasını uyarır. Bezler geniş ve kıvrımlı bir hal alır. Endometriyum korpus luteumdan salgılanan progesteron ve östrojen hormonlarının etkisi ve bağ dokusu içindeki sıvı miktarının artışı ile kalınlaşır.

Bir kadının reproduktif dönemi boyunca yaklaşık 400 follikülde ovulasyon meydana gelir. Rezidiüel over rezervleri foliküllerin gelişmesini etkilemektedir. Bu şekilde FSH; foliküler dönemin ilk 5 gününde artarak 3-30 arasında değişen folikülün büyümesini sağlar ve bu foliküllerden sadece bir tanesinde ovulasyon meydana gelirken diğerleri atrofiye olur. Follikül Stimüle edici Hormon (FSH) uyarısı follikülleri preantral folliküllere dönüştürür. Östrojen ise testosteron, androstenodion, interstisyel ve teka hücrelerinden salgılanır. Teka hücreleri tarafından senteze dilen androjenik hormonlar granüloza hücrelerine diffüze olduktan sonra buradan FSH ile uyarılmaları sonucunda aromatisasyon ile östrodiol üretilmiş olur. Granüloza ve teka hücrelerinin bu şekildeki iş birliği “iki hücre, iki gonadotropin teorisi” olarak adlandırılmaktadır. Bu şekilde Östrodiol ile FSH foliküllerde bulunan FSH reseptörünün sayısını artırır. FSH reseptörü yönü ile zengin olan follikül dominant olurken östrojenin geribildirimisi sayesinde bu dominant follikül dışındaki foliküllerin tamamı östrojen tarafından inhibe edilir.

Foliküler döngünün ikinci yarısında östrojen FSH'nın sinerjistik etkisi ile LH reseptörünün meydana gelmesini sağlarken FSH'da ise bundan dolayı bir düşme meydana gelir. Düşük östrojen seviyesi LH'nın salgılanmasını inhibe ederken yüksek östrojen seviyesi LH salınımını artırmaktadır. LH ve östrojen arasındaki bu ilişki iki özelliğe dayanmaktadır. Bunlar;

- 200 pg/ml yi aşan konsantrasyonlar
- 50 saati geçen östrojene maruz kalma

Artan östrojen hipofiz bezinin GnRH' ya duyarlılığını artırır ve GnRH'nın etkisi ile LH pik seviyeye ulaşana kadar devam etmektedir. Ovulasyon süresi her siklusa farklılık gösterebilmektedir. Ancak genel olarak LH pik seviyeye ulaştıktan 10-12 saat sonra başlamaktadır. Östrodiol pikinden ortalama 30 saat sonra ise LH'da artış meydana gelir ve maksimum seviyeye geldiğinde östrodiol düşmeye başlar. LH'nın artış göstermesi;

- Granüloza hücrelerinin luteinizasyonunu,
- Mayozun sürdürülmesini,
- Progesteron seviyesinin yükselmesini,
- Kümüls ooforus'un genişlemesini sağlar.

Foliküllerdeki hacim artışı progesterone artışına paralel olarak devam eder. FSH ve LH'nın indüklemesi ile salgılanan proteolitik enzimler ile prostaglandin F2 α (PGF-2 α) ovumun salınmasına neden olur.

Luteal evre oositlerin salınması ile başlar. Ovulasyondan sonra ise progesteron seviyesinde önemli bir artış meydana gelir ve LH'nın yükselmesinden yaklaşık 8 gün sonra progesteron pik seviyeye ulaşır. İnhibin A ve östrojenin etkisi ile yeni foliküllerin gelişmesi engellenmiş olur. Döllenme meydana gelmezse yaklaşık 1 hafta içinde progesteron düşer ve menstrual kanama başlar (Moore and Persaud, 2009; Austin and Short, 1984).

4. 2. Polikistik Over Sendromu

Klinik olarak kendini menstürel düzensizlikler, kronik anovulasyon, disfonksiyonel kanamalar, oligomenore ve infertilite ile gösteren PKOS; çevresel ve genetik faktörler ile de ilişkili hormonal bir bozukluktur (Mosher and Pratt, 1991). Kadınlarda bütün yaş gruplarında hirsutizm, anovulasyon ve infertilinin birincil sebebi olarak polikistik over sendromu gösterilmektedir (Witchel, 2007). Sebebi henüz aydınlatılamamış olan PKOS'da her menstrual siklusta çatlaması gereken yumurta çatlamaz ve yumurtalık dokusu içinde 3-10 mm çapında bir kiste dönüşür. Kistlerin sayısı arttıkça ise yumurtalık dokusu bozulur ve 'polikistik' bir görünüme ulaşır (Stein and Leventhal, 1935).

Stein ve Leventhal ilk defa 1935 yılında kadınlarda PKOS'u hirsutizm amenore ve polikistik overler olarak nitelendirdiler. 1990 yılında ise National Institutes of Health (NIH) PKOS tanı kriterlerini belirledi. Bunlar:

- Anovulasyon ve Kronik oligomenorenin bulunması,
- Hiperandrojenizm klinik ya da biyokimyasal bulguların varlığı,
- Ve konjenital adrenal hiperplazi, androjen sekrete eden tümör, Cushing sendromunun dışlanmasıdır.

NIH kriterleri polikistik over görüntüsünü içermediği için daha geniş bir tanımlamaya ihtiyaç duyuldu ve son olarak 2003 yılında Rotterdam Kriterleri oluşturulmuştur; polikistik over tanısı için bu 3 Kriterden en az ikisinin bulunması gerektiği bildirildi. Bu üç kriter:

- Anovulasyon ve oligoanovulasyon
- Hiperandrojenizm biyokimyasal ya/ ya da klinik bulguların varlığı
- Polikistik over görüntüsünün ultrasonografik olarak tespit edilmesi (ESHRE/ASRM, 2004).

4.2.1. Polikistik over sendromunun belirti ve bulguları

Belirti ve bulgular görülme sıklığına göre hirsutizm, oligomenore, infertilite, ultrasonografide PKO görüntüsü, obezite, amenore, akne, disfonksiyonel uterin kanamadır. Başlıca klinik özellikler; hiperandrojenizm bulguları, obezite, kronik anovulasyon ve infertilitedir (Goldzieher and Green, 1962).

Hiperandrojenizm

Hirsutizm; PKOS'da en sık görülen hiperandrojenizm bulgusudur. Modifiye Ferriman-Gallwey yöntemi ile değerlendirilen Hirsutizm; dokuz vücut alanının skorlanması ile tanımlanır. Bu metot ile göğüs bölgesi, üst dudak, üst ve alt abdomen, sırtın üst ve alt bölgeleri, çene, bacak ve kolların üst kısımları değerlendirilir. Skorun ≥ 6 olması hirsutizm olarak ifade edilir. Ayrıca hiperandrojenizme bağlı olarak akne, androjenikalopesi veya cilt yağlanması gözlemlenebilir. Tanı için belirtilen klinik bulguların olması şart değildir. Ayrıca; hirsutizm bireysel özellikler ile etnik farklılıklardan etkilenebilmektedir (Williamson et al., 2001; Carmina et al., 1992).

Obezite

Obezitenin PKOS hastalarında görülme yüzdesi %40-60 civarındadır. Toplumlar arasında farklılık göstermekle beraber genel olarak obezite ile PKOS'un yüksek ilişkili olduğu bilinmektedir. Özellikle santral obezitenin (bel/kalça oranının fazla) PKOS için ek bir risk faktörü olduğu düşünülmektedir (Bjorntorp, 1988). Ayrıca normal vücut kitle indeksine sahip PKOS'luların sağlıklı kontrollere oranla kalça/bel oranında artış bulunmaktadır (Pasquali et al., 1993).

Kronik anovulasyon

PKOS da kronik anovulasyon, anormal follikülogenezisi yansıtır. PKOS da dolaşımdaki FSH un düşük olması nedeniyle granüloza hücrelerinde aromataz sisteminin tam olarak aktive olmaması ve LH reseptörlerinin oluşamaması sonucunda anormal follikülogenezis görülür (Richards, 1980).

İnfertilite oranı %35-%94 arasındadır (Chian et al., 1999). İnfertil çiftlerin %15’de sorun ovulasyon bozukluklarından kaynaklanmakta iken kadına bağlı infertilite nedenleri arasında ise ovulasyon bozukluğu %40 gibi yüksek bir seviyededir. PKOS olgularda az da olsa spontan ovulasyon oluşabilir ve gebelik görülebilir (Mashe and Pratt, 1991).

İnfertilite

PKOS'da infertilitenin başlıca nedeni anovulasyon olmasına rağmen, bu hastalarda erken gebelik kayıpları da görülebilir. Yüksek LH ve tonik LH salınımı endometriumun kalitesini bozarak implantasyonu engeller ve erken gebelik kayıpları ortaya çıkar. LH yüksekliği oosit için uygun olmayan ortam ve olgunlaşma dışında, birinci mayotik bölünmenin erken tamamlanması sonucu da erken gebelik kaybına neden olabilir (Sagle et al., 1988).

Ultrasonografik görüntülemelerde 2-9 mm çapında, >12 adet follikül varlığı ve/veya artmış over volümü (>10 ml) polikistik over olarak tanımlanmaktadır. Bu bulgunun tek taraflı olması bile PKOS tanısı için yeterlidir (ESHRE/ASRM, 2004). Oral kontraseptif ilaçların kullanılması over morfolojisini etkilerken yine PKOS tanısı için bu overlerin dağılımı dikkate alınmaz. Ayrıca, multifolliküler over hipogonadotropik hipogonadizmden normal döneme geçmekte olan hastalarda overde spontan folliküler aktiviteye ya da ovülasyon indüksiyonu ile over stimülasyonuna bağlı olarak gelişebilmektedir. Sağlıklı kadınların %20’de ultrasonografik polikistik over görüntüsü gözlenebilir (Polson et al., 1988).

Tablo 1. Polikistik Over Sendromunun belirti ve bulguları

Belirti ve bulgular	%
Hirsutizm	%60-90
Oligomenore	%50-90
İnfertilite	%55-75
Polikistik over	%50-75
Obezite	%40-60
Amenore	%25-50
Akne	%25
Disfonksiyonel uterus kanaması	%30
Normal menstrüel patern	%22

** Goldzieher 'dan (1961) uyarlanmıştır*

4.2.1.1. Polikistik over sendromlu hastalarda serum hormon değerleri

PKOS'lu olguların %80'de androjen kaynağı overlerdir ve özellikle adolesan PKOS'lular da serum androjen seviyeleri oldukça yüksek oranlarda bulunur. Bu durum fonksiyonel ovarian hiperandrojenizm (FOH) olarak adlandırılmaktadır. FOH; glukokortikoid ile adrenal baskılanmış olmasına rağmen serum testosteron seviyesinin baskılanmaması ve HCG ya da gonadotropin hormonunun uyarısına 17-hidroksiprogesteron cevabının artması sonucu meydana gelir. Vakaların %60'da deksametazon ile baskılanabilen fonksiyonel adrenal hiperandrojenizm (FAH) bulunur. FAH ise DHA artışı ya da ACTH uyarısına orta derecede 17-hidroksipregnenolon ile tanımlanır. FAH'lı olguların yaklaşık yarısında FOH da bulunmaktadır ve bu hastaların insülin dirençleri vardır (Rosenfield et al., 2008).

PKOS'da dikkat edilmesi gereken diğer durumlar ise prolaktin salgılanmasındaki bozukluklar ile tiroid hastalıklarıdır. Çünkü yapılan çalışmalarda PKOS'luların %30'da hafif ya da orta düzey prolaktin yüksekliği gözlenebilir.

Trioid hastalarında ise menstrual bozukluklar görülebilir. Ancak genellikle hastalıkla ilişkili diğer bulgu ve semptomlar tanıya olanak sağlar.

- Aktif androjenlerden olan testosteron ve androstenedionin dolaşımdaki seviyeleri artmıştır çünkü bu hormonlar primer olarak overler tarafından üretilirler.
- DHEA-S ve DHEA gibi adrenal androjenler vakaların %50'de yüksek seviyelerde bulunurlar.
- Östrojen E2 düzeyi E1'den daha düşüktür ve normal E1/E2 oranı tersine dönmüştür.
- LH vakaların ortalama 2/3'ünde artmıştır ve neredeyse tamamında ise FSH baskılanmıştır.
- Progesteron seviyesi ovulasyon yokluğunda düşük seyir gösterir.
- Serum insülin seviyesinde önemli artış vardır.
- Prolaktin düzeyi vakaların yaklaşık %25'inde artar (Rosenfield et al., 2008).

4.2.1.2. Polikistik over sendromlu hastalarda endometrial reseptivite

İnsan endometriyumu fertilite belirleyici bir faktör olarak düşünülebilir (Guidice, 1999). Endometrium, biyokimyasal faktörlerin çoğunun üretildiği ve damarsal yapı olarak değişen derecelerde kanlanan karmaşık bir dokudur (Maughey-Laulom et al., 2002). Seks steroidlerinin yüksek konsantrasyona ulaşması endometrial reseptivitenin azalmasına neden olabilir. Bu durum implantasyon oranını düşür ve infertiliteye sebep olur (Macklon and Fauser, 2000).

Endometrium her adet kanamasında rahim içinden dökülen dokudur. Amenore görülen hastalarda üç ayda bir endometriumun dökülmesi gerekir. PCOS olgularında anovulasyon yaşayan kadınlarda yüksek östrojen seviyelerinden dolayı endometrial hiperplazi ve endometrial kanser riski artar. Yapılan çalışmalarda PCOS olan kadınlarda endometrium kanser riski diğer kadınlara göre daha fazla olduğu görülmüştür (Fearnley et al., 2010).

4. 2. 2. Polikistik over sendromunun etiyopatogenezi ve infertilite

Kadın infertilitesine neden olan sebepler arasında polikistik over sendromunun ayrı bir yeri vardır. Adet düzensizlikleri ve infertilitenin altında yatan sebep bu sendromun temel özelliği olan kronik anovülasyondur (Goldzieher and Gren, 1961). Polikistik over sendromu anovülatuar infertilitenin en sık görülen sebebidir. Çevresel ve genetik faktörlerin etkisi ile oluşan PKOS'un etiyolojisi kesin olarak bilinmemektedir. Ancak sendromun fizyopatolojisinde steroidogenez kusurları, gonadotropin seviye değişimleri, insülin salınım bozuklukları ve genetik etmenlerin ön planda olduğu tahmin edilmektedir (Chang and Katz, 1999).

4. 2. 2. 1. Gonadotropin sekresyon defektleri

Endokrin kaynaklı hastalıklarda olduğu gibi hipotalamus-hipofiz-over aksının fonksiyonel bozukluğu PKOS ile sonuçlanabilmektedir. Ortalama serum LH konsantrasyonu luteinizan sekresyonunun frekans ve şiddeti ile artmıştır. GnRH'ın sık sık salgılanması ise GnRH'ye olan yanıtın ve östrojen seviyesinin artmasına neden olur (Franks, 1989). PKOS'lu hastalarda hipofizer FSH salgısı erken folliküler fazda önemli oranda düşmektedir. Düşük FSH düzeyinin nedeni tam olarak bilinmemesine rağmen patogeneizde rol oynadığı fark edilen iki mekanizma bulunmaktadır.

GnRH salgısının östrojenin negatif geribildirimini ile artması,

FSH beta gen ekspresyonunun LH beta gen ekspresyonuna göre daha fazla olması (Yen, 1980).

4. 2. 2. 2. Steroidogenez değişiklikleri

PKOS etiyopatogenezi ile ilgili en önemli değişiklikler over/adrenal bez steroidogenezinde meydana gelmektedir. LH'nın artması steroidogenez ile overlerdeki cAMP artışını androjenlerin üretimi yönünde etkiler. Dolayısı ile bu durum follikül gelişiminde duraklamaya sebep olur.

PKOS'lularda GnRH agonistlerinin kullanılması sonucunda sağlıklı kadınlara göre teka hücrelerinde androstenedion artışına ve 17 (OH) progesteron saptanması neden olur. Bu durum tek hücrelerinde novo steroidogenez farklılığını düşündürmektedir. Ayrıca LH'ın bu sistemi etkilediğı de tahmin edilmektedir (Gilling-Smith et al., 1994). Teka hücrelerinde insülin, IGF-1 ve IGF-2 reseptörleri bulunmaktadır ve bu reseptörlerin stimüle edilmelerinin over androjen sekresyonunda rol oynadıkları tespit edilmiştir (Gilling-Smith et al., 1994). Bu bulguya rağmen henüz insülinin etkisi tam olarak bilinmemektedir fakat insülin seviyesindeki düşüşlerin LH'ı etkilemeden serum androjen seviyesinde azalma meydana getirdiğı belirlenmiştir. PKOS'lu kadınların ortalama %20-50'sinde artmış 11 p (OH) androstenedion ve dihidroepiandrostenedion sülfat (DHEAS) artması androjen sekresyonuna işaret etmektedir (Sohrabvand et al., 2006). Fakat ACTH düzeyinin sağlıklı kadınlar ile aynı olduğu saptandığı için bu farklılığın ACTH'a verilen yanıttan ya da ACTH dışında gerçekleşen bir uyarandan kaynaklandığı düşünülmektedir. Özetle; PKOS'da DHEAS seviyesi, bazal ve adrenal androjen sekresyon yanıtındaki artışta genetik faktörler son derece önemlidir (Yildiz et al., 2004).

4. 2. 2. 3. İnsülin salınım ve etki bozuklukları

Hem obez hem de zayıf PKOS hastalarında sık görülen bulguların başında kompensatuar hiperinsülinemi ve insülin salınımı gelmektedir. PKOS vakalarında insülin direnci ile ilgili yapılan araştırmalarda hangi insülin direnci ölçüm yönteminin kullanıldığı ve çalışılan popülasyonun taşıdığı nitelikler oldukça büyük önem taşır (Yildiz and Gedik, 2004).

1980 yılında ilk kez Burghen ve arkadaşlarınca obez polikistik over sendromu hastalarının hiperinsülinemin ve hiperandrojenizmin bağlantılı olduğuna dair elde edilen bulgularla birlikte daha sonra yapılan ve gerek obez gerekse de zayıf PKOS hastalarını kapsayan araştırmalarda da bu hastalarda insülin direnci gösterilmiştir. Ancak PKOS vakalarında görülen bu insülün etki bozukluğunu yalnızca androjen fazlalığı veya obezite ile açıklamak mümkün değildir (Dunaif, 1997). Bununla birlikte tüm PKOS hastalarında insülün direnci görülmemektedir. Aynı zamanda insülün direnci ölçümü de hastalığın tanı kriterleri arasında yer almamaktadır.

PKOS’da insülin direnci ve hiperinsülinemi overde androjen sentezini ve ayrıca seks hormon bağlayıcı globulin (SHBG) düzeyinde azalmayla serbest testosteron seviyesini arttırmaktadır. İnsülün direncinin konu edildiği bazı çalışmalarda insülinin reseptöre bağlanmasının normal olduğu durumlarda insülin aracılı glukoz transportunun azalmış olduğu (artmış serin fosforilasyonuna bağlı postreseptör defekt) saptanmıştır (Burghen et al., 1980).

4. 2. 2. 4. Genetik faktörler

Sendromun hem metabolik hem de reproduktif gelişiminde genetik faktörlerin rolü büyüktür. Hasta bireylerin kız kardeşleri ile annelerinde menstrüel disfonksiyon ve hiperandrojenizmin arttığı görülmekle birlikte erkek kardeş ve baba da ise androjen seviyesinin yükseldiği tespit edilmiştir.

Bunun yanı sıra tüm birinci derece yakınlarda, beden kitle indeksi (BKİ) ve yaşı benzer olan sağlıklı kontrol grubuna göre değişik derecelerde glukoz homeostaz ve insülün direnci bozukluklarının görülme riskinin arttığı gözlemlenmiştir (Yildiz et al., 2003).

4.2.3. Polikistik over sendromlu hastalarda ovaryan hiperstimülasyon sendromu (OHSS)

Over Hiperstimülasyon Sendromu (OHSS); kontrollü over hiperstimülasyonu veya ovülasyon indüksiyonu yapılan olgularda iatrojenik olarak gelişen fazla sayıda luteal kistlerle birlikte overlerin büyüdüğü, ciddi hayatı tehdit eden bir sendromdur (Doreen et al., 2000; Beerendonk et al., 1998).

OHSS’unda artan kapiller geçirgenlik sonucu proteinden zengin sıvı intravasküler aralığı terkeder. Buna bağlı olarak hemokonsantrasyon, üçüncü boşluklarda sıvı birikimi ve bütün bunların kliniğe yansımaları ile abdominal gerginlik, asit, hipovolemi, oligüri, plevral ve/veya perikardiak efüzyon, böbrek, karaciğer ve solunum yetersizliği ortaya çıkabilir (Tollan et al., 1990).

OHSS hafif, orta, şiddetli ve kritik olarak dört sınıfta incelenir. OHSS’ nin bilinen risk faktörleri şunlardır;

- OHSS öyküsü
- PKOS
- AMH’ nun >3,3ng/mL olması ve >8 antral folikül varlığı
- Folikül sayısı (>10mm üzeri >20 adet follikül)
- Östradiol konsantrasyonu yüksek olması ve hızla yükselmesi
- IVF’de toplanan oosit sayısı arttıkça risk artar
- Luteal faz desteği için progesteron yerine HCG kullanmak
- Gebelik (Delvigne, 2009).

OHSS’yi tedavi etmekten ziyade oluşumunu engellemek gerekir. Bunun için riskli hasta grubu iyi belirlenmelidir. Genç kadınların, Polikistik Over Sendromlu (PKOS), zayıf vücut yapılı olanları riskli grubu oluşturur (Navot et al., 1988; Levis et al., 1990). GnRH agonisti ve gonadotropin tedavisi kullanılan hastalarda OHSS riski artmaktadır (Forman et al., 1990). Gebelikte özellikle çoğul gebelikte ve molar gebelikte ve luteal fazın HCG ile desteklendiği durumlarda OHSS’ye daha sık rastlanılır (MacDougall et al., 1993).

İncelenen OHSS gelişen hastalarda en sık görülen infertilite nedeni erkek faktörü ve ovulatuvar faktördür. Ovulatuvar faktör olarak nitelendirilen kadınların çoğu PKOS'lu ve bir olgu hipogonadotropik hipogonadizm olgusu olup ultrasonda PKO görünümüne sahiptir. OHSS' nin oluşmasını engellemek için çeşitli yöntemler önerilmiştir. Bunlardan en sık başvurulana HCG' nin verilmemesi veya geciktirilmesi'dir. Başka HCG dozunun azaltılması da ağır OHSS'nin engellenmesi için bir çözümdür (Schenker, 1999).

Tablo 2. OHSS risk faktörleri ve önlenmesi (Navot et al., 1988)

OHSS Risk Faktörleri	OHSS Önlenmesi
Genç Yaş	Antagonist siklusa agonist triggering
Düşük BMI	Step-up Protokol Seçimi
PKOS	Siklus İptali
Yüksek Doz Gonadotropin	Hcg iptali
Yüksek E2	LOD
OHSS Öyküsü	Coasting
	Metformin

4.3. Yardımla Üreme Tekniklerinde Kriyoprezervasyon Uygulamaları

Whittingham ve ark. tarafından 1972 yılında fare embriyolarının dondurulması ile ilk başarılı embriyo dondurma işlemi gerçekleştirilmiştir. İlerleyen dönemde ise Wilmut ve Rowson sığır embriyolarını dondurup-çözündürmek suretiyle gebelik elde etmeyi başarmışlardır. Gerçekleştirilen bu ilk denemelerde kriyoprotektan olarak DMSO (dimetilsülfoksit) kullanılmış ve soğutma hızı dakikada 0,2°C olarak uygulanmıştır. Daha sonraları yapılan çalışmalarda ise hem insan hem de hayvan embriyolarının dondurulma işlemi başarılı bir şekilde tamamlanmıştır (Bağış et al., 2002).

Kriyoprezervasyon işlemi üç grupta incelenir. Bunlar; geleneksel yavaş dondurma, hızlı dondurma ve vitrifikasyondur (Dattena et al., 2000). İlk embriyo dondurma işlemlerinde kullanılan yavaş dondurma metodu kademeli soğutmayı gerektiren bir yöntemdir. Geleneksel bir nitelik taşıyan bu yöntemde embriyoların dondurulması için komplike cihazlar kullanılır ve oldukça pahalı bir yöntemdir. Yüksek donma hızlarının kullanıldığı hızlı dondurma işleminde ise minimum iki kriyoprotektan madde kullanılması gerekir. Sonraki yıllarda yapılan çalışmalar neticesinde vitrifikasyon adı verilen yeni bir kriyoprezervasyon metodu 1985 yılında kullanılmaya başlanmıştır (Rall and Fahy, 1985).

Gerek vitrifikasyon gerekse de hızlı dondurma yöntemleri sayesinde yavaş dondurma yönteminde ihtiyaç duyulan komplike ve pahalı cihazların kullanılması zorunluluğu ortadan kalkmıştır. Vitrifikasyon yönteminin kullanımının özellikle son yıllarda en oldukça yaygınlaştığı görülmektedir. Bu yöntemde buz kristallerinin şekillenmesine izin vermeyen camsı veya vitröz bir durum oluşturulur ve hücrelerin dondurulma işlemi doğrudan sıvı azota daldırmak suretiyle gerçekleştirilir.

Kriyoprotektan ismi verilen değişik maddeler dondurma ve çözündürme çözeltilerine katılarak hücrelerin zarar görmesi engellenmeye çalışılır. Günümüzde uygulanan dondurma yöntemlerinde çeşitli kriyoprotektanlar ile yavaş veya hızlı soğutma ve çözme (ısıtma) yöntemleri kullanılmaktadır (Sağırkaya, 2001).

Dondurma yöntemlerinin tamamında temel hedef gerek donma gerekse de çözünme esnasında ortaya çıkması muhtemel hücre içi buz kristallerine engel olmak ve böylelikle onların hücreye zarar vermesinin önüne geçmektir. Bunu sağlamak amacıyla hücre içi sıvısının, hücre membranından geçebilen başka bir deyişle nüfuz edebilen ve hücrelere olabildiğince zararsız olan kriyoprotektan maddelerle yer değiştirmesi hedeflenmektedir (Goa and Crister, 2000).

4. 3. 1. Kriyoprezervasyon İşleminde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bir çeşit kimyasal madde olan kriyoprotektanlar, hücrenin dondurma ve çözündürme esnasında zarar görmesine engel olmak amacıyla kullanılırlar. Bu maddeler dondurma işleminde intrasellüler kristal oluşumu ve soğuk şoku zararını engellerken çözme işleminde de gelişen membransel destabilizasyona ve dekristalizasyona karşı koruma sağlarlar. Hücre, dondurulmadan önce kriyoprotektanlarla inkübasyona tabi tutularak, intrasellüler bakımdan dengeye gelmesi sağlanmaktadır. Kriyoprotektanların iki önemli özelliği vardır. Bunlar toksik etkilerinin yalnızca belli oranlarda katıldıklarında ortaya çıkması ve sahip oldukları düşük moleküler ağırlıklarıdır. Hücre dondurma medyumundaki kriyoprotektanlar ile hücrenin kriyoprotektaanlara maruz kalma süresinin kısaltılması, kriyoprotektanların toksisitesini azaltmak için çok önemlidir. Ayrıca kriyoprotektanlar, hücreler yüksek konsantrasyonda tuz ile çevrildiğinde hücreleri yoğun dehidrasyonun şekillendiği dönemde korumaktadırlar (Palasz and Mapletopt, 1996).

Hücre membranından tesir edebilme özelliklerine göre kriyoprotektan maddeler iki sınıfa ayrılırlar:

- Hücre içine nüfuz eden (hücre membranından geçebilen) kriyoprotektanlar,
- Hücre içine nüfuz edemeyen (hücre membranından geçemeyen) kriyoprotektanlar.

4.3.1.1. Hücre içine nüfuz edebilen kriyoprotektanlar

Düşük moleküler ağırlığa sahip olan bu kriyoprotektanlar, propilen glikol, 1.2 propanediol, 2.3 bütanediol, etilen glikol (EG), gliserol, dimetilsülfoksit (DMSO) ve diğer bazı alkoller kapsarlar. Ozmotik basınç farkı sebebiyle donma işlemi öncesinde embriyo hücreleri içerisindeki sıvı kriyoprotektan maddeler ile yer değiştirir ve hücre hacmindeki değişiklikler azaltılarak embriyo hücreleri içerisindeki buz kristallerinin oluşumu en aza indirilerek dondurma işlemi sırasında hücrelerin zarar görmesinin mümkün olduğunca önüne geçilir. Suyu bağlanabilme özelliklerinin yanı sıra diğer bileşenlerin yüksek konsantrasyonları nedeniyle sebep oldukları toksik etkileri azaltmak suretiyle koruyucu özellik gösteren ve hücre içine tesir edebilen bu kriyoprotektanların iki önemli özelliği vardır. Bunlar; ısı etkisine sahip olmaları ve yüksek seviyede suda çözünme yetenekleridir. Bu özellikleri sayesinde suyun hidrojen bağlarını kopararak suyun yapısının değişmesine neden olan hücre içine nüfuz edebilen kriyoprotektanlar, aynı zamanda su molekülleri ile hidrojen bağları da meydana getirebilmektedirler. Örneğin; gliserol kendi hidroksil grubu ile su molekülündeki mevcut oksijen arasında hidrojen bağı şekillendirmektedir. Benzer şekilde suyun protonları ile DMSO'nun oksijenin birleşmesi neticesinde ısı ortaya çıkmaktadır. Bunun yanı sıra, kriyoprotektanlar hücreler yüksek konsantrasyonda tuz ile çevrildiğinde hücreleri yoğun dehidrasyonun şekillendiği dönemde korumaktadırlar (Palasz and Mapletopt, 1996).

4.3.1.2. Hücre İçine Nüfuz Edemeyen Kriyoprotektanlar

Bu grup kriyoprotektanları kendi içinde iki sınıfa ayırmak mümkündür. Bunlar; hücre içine nüfuz edemeyen yüksek molekül ağırlıklı polimer karakterli (polivinil pirrolidon (PVP), polivinil alkol (PVA) ve diğer bazı polimerler) ve düşük molekül ağırlıklı (glukoz, galaktoz, rafinoz, trehaloz, süktroz ve diğer bazı sakkaritler) kriyoprotektanlardır (Palasz and Mapletopt, 1996).

Düşük molekül ağırlığına sahip hücre içine nüfuz edemeyen kriyoprotektanlar soğutmadan önce hücreleri dehidre etmek suretiyle donma işlemi boyunca gerçekleşen buz kristallerinin oluşumunu azaltacak bir etki ortaya koyarlar. Şekerler donma ve çözünme sırasında meydana gelen membran zararına karşı, membrandaki fosfolipitlerle yüzey artışı sağlayacak bir etkileşimde bulunarak koruma sağlamakta ve çözüm işlemi esnasında da hücrelerin ozmotik şoka girmelerine engel olmaktadır (Mcgaan, 1978). Aynı zamanda bunlar hücrede donma-çözünme esnasında meydana gelen lipid peroksidasyonunu azaltmaya çalışırlar. Sulandırıcıya ilavelerinde düşük oranda hücre içerisine nüfuz edebilen kriyoprotektan kullanılmakta, hücre içerisine nüfuz edebilen kriyoprotektanların olası toksik etkilerini azaltmaktadır (Arav et al., 1993).

Yüksek molekül ağırlığına sahip olan ve hücre içine nüfuz edemeyen kriyoprotektanlar ise hücrelerin hem dondurulma hem de çözündürülmesi işleminde ortaya çıkan buz kristallerinin büyüklüklerini ve şekillerini değiştirerek onları zarar vermeyecek bir hale getirirler (Palasz and Mapletopt, 1996). Antifriz protein (AFP) ve albümin fikol gibi bazı proteinler hücre içerisine nüfuz edemeyen yüksek molekül ağırlıklı kriyoprotektanlar içerisinde yer almaktadırlar.

4.3.2.1. Yavaş dondurma (Slow Freezing)

Yavaş dondurma yönteminde, farklı aşamalar takip edilerek embriyoların dondurulma işlemi gerçekleştirilir. Bu süreç kısaca şu şekilde işler:

- EG, GL, PGL ve DMSO hücre içine giren düşük molekül ağırlıklı kriyoprotektanlardır. Bu kriyoprotektanlardan herhangi birinin farklı molar konsantrasyonlarına, embriyo ve kriyoprotektan çözeltisi arasındaki ekilibasyonu sağlamak için genellikle oda sıcaklığında veya daha düşük sıcaklıklarda maruz bırakılmaları,

- -5 °C -6 °C’lerde buz kristallerinin oluşumunun sağlanması,
- Embriyo dondurma cihazı aracılığı ile -0.2-2°C/dakika kademesinde bir yavaş soğutma yoluyla ve kontrollü olarak -30 °C ile -70 °C arasında bir soğukluğa ulaşma,

- İstenilen ısı seviyesine gelindiğinde sıvı azot (-196 °C) içine daldırma ve saklama,
- Yaklaşık olarak dak.'da 250 °C olacak bir şekilde kontrollü olarak çözündürme
- Embriyoların kültüre alınmalarından ya da taşıyıcılara aktarılmasından önce uzaklaştırılması.

Başarılı bir embriyo kriyoprezervasyon işlemi yapabilmek için bu aşamaların her birinin özel bir önemi vardır. Donma ve çözünme sürecinde hücre yapısını koruyan hücre içine nüfuz edebilen nitelikteki kriyoprotektanlar bunu hücre içi buz kristallerinin meydana gelmesine engel olarak gerçekleştirilir (Palasz and Mapletopt, 1996). Düşük sıcaklıklara özellikle donmaya toleransı olan hastalarda hücre içine geçiş gösteren veya toksik olmayan kriyoprotektanın yüksek konsantrasyonlarında dengelendiği ve sıcaklığın 0 °C'nin altına düştüğü durumlarda buz kristallerinin gelişimi, spesifik buz çekirdeklerini oluşturan proteinlerce başlatılır. Böylelikle buz çekirdeklenmesinin şekillendiği dönemde buz kristallerinin oluşumunun kontrolsüz ve kendiliğinden ortaya çıkması engellenerek hızlı dondurmanın sebep olacağı olumsuzlukların önüne geçilmiş olur (Begin et al., 2003). Yavaş soğutma (dakikada - 2 °C'den daha az) yolu ile hücreler için ölümcül bir etkiye sahip olan ve buz kristallerinin oluşumu başladığında meydana gelen buz kristallerinin büyüme yönündeki eğilimleri engellenmiş olur. Bu sayede dondurma işlemi boyunca hücrelerin dehidre olmaları mümkün olur.

4.3.2.2. Hızlı dondurma (Rapid Freezing)

Dakikada ortalama olarak 1200 °C gibi yüksek donma hızı uygulamasından önce hücrelerin kısmen dehidre edilmesi işlemine 'hızlı dondurma' denir. Hızlı dondurma işleminde maksimum verim alınabilmesi için PrOH, GL, EG veya DMSO gibi hücre içine etki edebilen kriyoprotektanların kullanılması gerekmektedir. Bu kriyoprotektanlardan herhangi birinin 2-4.5 M'lık laktoz, trehaloz, süktroz veya galaktoz gibi hücreye etki edemeyen kriyoprotektanlardan birinin 0.25-0.5 M'lık karışımlarından meydana gelen dondurma çözeltilerinin kullanılması gerekmektedir (Cseh et al., 1997).

Ortalama 3 dakika sonra ekilibrasyondan hemen sonra embriyolar kısmi olarak dehidre olurlar ve bu basamakta embriyolar sıvı azotun buharında çok az bir süre tutulduktan sonra sıvı azotun kendisinin içine daldırılırlar.

4.3.2.3. Vitrifikasyon

Organ, doku ya da hücrelerin düşük ısılarda hücre içinde camsı ceya vitröz bir durumun oluşturması ile dondurulması işlemine ‘vitrifikasyon’ denir.

Bu yöntemde buz kristalleri hiç şekillenmemektedir. Vitrifikasyon tekniğinde hücre canlılığı, konsantrasyonu yüksek kriyoprotektanlar yardımıyla ani ısı düşüşüyle birlikte hücre etrafında cam bir katı yüzey oluşturularak korunmaya çalışılır. Vitrifikasyon tekniğinde sıcaklığın ani düşürülmesi çok önemlidir. Bunun başlıca iki nedeni bulunmaktadır;

- Soğutma hızı yüksek olursa, vitrifikasyon için gereken kriyoprotektan miktarı azalmakta, böylece toksik hasar riski düşmektedir.
- Aynı şekilde, soğuğa duyarlı olan biyolojik yapıların zarar gördüğü, sıcaklık dereceleri (-5 -15°C arası) hızla geçilebilmektedir.

Vitrifikasyon işleminin başarılı olabilmesi için viskozitenin ciddi oranlarda artması gerekir. Bunu sağlamak için düşük sıcaklık derecelerinde buz kristallerinin oluşumunu engelleyen ve viskoziteyi arttıran kriyoprotektan çözeltilerin veya yüksek soğutma oranlarının kullanılması gereklidir (Vajta, 2000). Bu yöntemde hücre ultra hızlı bir şekilde (>-10.000 °C/dk) cam şeklinde dondurulurken dondurma işleminde yüksek konsantrasyonlarda kriyoprotektanlar kullanılır. Vitrifikasyonda en önemli unsur kriyoprotektanlar tarafından dondurma işleminde buz oluşumunun engellenmesi ve sıcaklığın düşmesi ile birlikte çözeltinin tamamen viskoz bir yapıya bürünerek nihayetinde camsı bir faza geçmesidir. Farklı kriyoprotektanlar farklı camsı faz oluşturma nitelikleri gösterirler. Bu durumun temel sebebi ise kriyoprotektanların her birinin donmaya olan eğilimi azaltmada veya vitrifikasyonun gelişmesine yardımcı olmada farklı bir biçimde su ile etkileşimde olmalarıdır (Macfarlane and Forsyth, 1990).

İlk olarak embriyoların vitrifikasyonu 0.25 ml'lik payetlerde yapılmıştır. Sonraki yıllarda yüksek termal ısıya dayanıklı cam mikropipetlerin geliştirilmesi ile birlikte gel loading tip (GL-tip), kriyotoplar, kriyoloop veya open pulled payetlerde dondurulmaya başlanmıştır (Kong et al., 2000).

4.4. Yardımla Üreme Tekniklerinde Embriyo Çözdürme

Çözündürme işleminde (warming veya thawing) öncelikle embriyoları taşıyan payetler (straw) veya embriyoları içerisinde bulunduran diğer taşıyıcılar sızı azottan çıkarılırlar. Daha sonra bunlar 10-20 saniye boyunca genellikle direkt olarak 20 ile 37°C arasında değişen su banyosu içerisine daldırılırlar. Kriyoprotektif maddeler neden olabilecekleri ozmotik şok ve benzeri zararlı tesirlerin önlenmesi için hızlı bir biçimde embriyodan uzaklaştırılırlar (Martines et al., 1998; Martinez and Matkovic, 1998). Bu amaçla galaktoz, trehaloz ya da sükroz gibi hücre içine nüfuz edemeyen şekerler kullanılırlar. Kriyoprotektif madde bu maddelerin ortamda bulunmasından dolayı oluşan yoğunluk farkı nedeniyle hücrenin dışına taşınır.

Tek ya da üç aşamada gerçekleşen bu işlemin tek aşamada gerçekleşmesi durumunda çoğunlukla çözündürme işleminin hemen ardından payetin elle sallanması suretiyle solüsyon karıştırılır ve transfer pipeti içine yerleştirilen embriyonun doğrudan transferi sağlanır (Dochi et al.,1998; Pugh et al., 2000). Sükrozun 0.5 ile 1 M konsantrasyonu çözündürme işleminde sıklıkla kullanılır (Nowshari and Brem, 1998).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Hasta Seçimi

Maslak Acıbadem Hastanesi Tüp Bebek Bölümü' ne başvuran ve PKOS tanısı konulan, 25-41 yaş arası, 100 kadın hasta çalışma kapsamına alındı. Çalışma kapsamındaki 50 hastaya siklus sırasında geliştirilen taze embriyo transferi gerçekleştirildi. Diğer 50 hastaya ise siklus sırasında gelişen embriyolar donduruldu ve daha sonra dondurulmuş-çözülmüş embriyo transferi yapıldı.

Polikistik over sendromu tanı kriterleri olarak, 2003 yılında yapılan "Rotterdam PKOS Fikir Birliği Semineri" (ESHRE/ASRM, 2004) inde yeniden gözden geçirilen tanı kriterleri kullanıldı. Bu tanı kriterleri;

- Biyokimyasal hiperandrojenizm ya/ya da klinik bulguları,
- Oligo-anovülasyon,
- Polikistik over ve Cushing Sendromu, Ovaryan Hipertekozis ve diğer etyolojik sebeplerin ekarte edilmesi

• Polikistik over görüntüsü ve over morfolojisi tanı kriteri olarak, ultrasonografide en az tek bir overde, 2-9 mm çaplı, 12 veya daha fazla sayıda follikül olması ve/veya artmış ($> 10 \text{ cm}^3$) over volümü esas alındı (ESHRE/ASRM, 2004). Hiperandrojenizm değerlendirilmesi için hirsutismus skorlaması (Farriman Galloway skorlaması) yapılmadı. Hiperandrojenizm belirlenmesinde serum total testosteron ($>2.6 \text{ nmol/l}$) ve serbest testosteron ($> 50 \text{ pmol/l}$) değerlerine bakıldı. Sperm parametreleri İCSİ uygulaması için uygundu.

5. 2. Hastanın Klinik Olarak Hazırlanması

Araştırmaya alınan bütün katılımcılara siklusun 2-3. gününde ovulasyonun indüklenmesi ile birlikte gonadotropin başlandı. Takip edilen dominant follikül ortalama 12-13 mm'ye ulaştığı zaman ovulasyonu indüklemek için 150-200 IU rekombinant FSH (Gonal F, Orgalutran, Puregon, Merional) kullanılmıştır. BKİ <25 kg/m² olan hastalara 150 IU, BKİ >25kg/m² olanlara ise 175-200 IU gonadotropin uygulanmıştır.

Ultrasonografik foliküllerin boyutlarına östradiol seviyesine göre gonadotropin dozları ayarlanmıştır. En az 3 folliküle çapları >18 mm üzerine ulaştığı zaman 10000 IU HCG enjekte edildi. Enjeksiyondan yaklaşık 36 saat sonra Oocyte pick-up uygulanmıştır. Oosit toplama işlemi bütün hastalara yapılmıştır.

5.3.Sperm Hazırlama

Örnekler; mastürbasyon yolu ile tam oositlerin toplanma günü gradiyent yöntemi ile hazırlandı. Gradiyentlerin %50 ve %90'lık medyumları (All Grad%100 Life Global) hazırlandı. Konik bir tüpü alt kısmına sırası ile; %90'lık üzerine 0,5 ml, %50'lik üzerine 0,5 ml spermgradlar eklendi. Bunların üzerine ise 0,5 ml semen örneği ilave edildi. Tüpler 12 dak. boyunca 2000 rpm de santrifüj edildi. Pipet ile dipteki pellet alınarak temiz bir tüpe aktarıldı ve 1 ml'lik yıkama medyumunu (All Grad Wash Life Global) ile karıştırılarak 1000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. Oluşan süpernatant tekrar alınarak sperm sayısına bağlı olarak 0.5-1 ml pellete sperm yıkama medyumunu eklendi ve etüve kaldırıldı.

5.4.Oosit Toplama İşlemi

Oosit toplama işlemi vajinal ultrasonografi eşliğinde aspirasyon iğnesi ile genel anestezi altında follikül aspirasyonu yapılarak toplandı. Aspirasyon pompasının basıncı 100 -120 mm Hg olarak ayarlandı.

Follikül sıvısı yaklaşık 2-3 ml sıcak (37 °C) medyum (Flushing Media) içeren 14 ml'lik tüplere (Falcon 2001) alındı. Folliküler sıvı, kumulus-oosit kompleksi tayini stereomikroskop altında incelendi Oosit bulunduğunda, pastör pipeti ile oosit korona kumulus kompleksi alınır ve bir gün önceden etüve konulan üzeri yağ ile kapatılmış Global HEPES (+HSA eklenmiş.) solüsyonuna kaldırıldı. İşlem sırasında oosit kalitesini ve embriyo gelişimini etkileyebilecek olan ısı, osmolarite ve pH değişimlerini en aza indirmek için, oositler en kısa zamanda kültür medyumuna alınıp inkübatöre kaldırılır.

5.5.Oosit Soyma İşlemi (Denudasyon)

OPU'dan hemen sonra inkübasyondan 1 saat sonra 1/3 oranında hyalüronidaz enzimi ihtiva eden Global HEPES medyumunu hazırlandı. Dishlerde 10 saniye boyunca pipetleme işlemi yapıldı. Oositler kümülüs hücrelerinden temizlendikten sonra hyalüronidaz enziminden kurtarılmak için temiz droplara alınarak pipetleme işlemine devam edilir. Pipetlerin çapı düşürüldükten sonra oositlerdeki bütün kümülüs hücrelerinin temizlenmesi sağlanır. Pipetleme işlemi sonrası İnvert mikroskopta maturasyon değerlendirilmesi yapılır, 1 polar cisimciği bulunan oositler metafaz 2 olarak değerlendirilir ve işlem yapılmak üzere tekrar inkübatöre kaldırılır.

5.6.Mikroenjeksiyon İşlemi (ICSI)

X400 büyütmede invert mikroskobun ısıtıcı tablası üzerinde oositlerin denudasyon işleminden yaklaşık 45 dak. sonra motil spermier seçilir. 1215 mikrometre çaplı mikropipetler ile hareket eden spermier toplandıktan sonra, spermierin hareketsiz kalmasını sağlayan PVP'de sperm membranının zedelenmesi ve sperm kuyruğunun kıvrılması sağlanmıştır. Oositin bulunduğu damlada mikroenjeksiyon pipeti ile alınan spermier oosite enjekte edilir. Oositi in vitro ortamda aktive edebilmek için, enjeksiyon işlemi esnasında hafif bir sitoplazma aspirasyonu yapılır.

ICSI işlemi tamamlandıktan sonra bir gün önceden hazırlanan kültür mediumuna (GLOBAL MEDYUM) konularak inkübatöre kaldırılır.

5.7.Fertilizasyon Değerlendirmesi

ICSI işlemini takiben 18. Saatte inverted mikroskop altında Hoffman modülatörüyle ısıtıcı tabla üzerinde incelenen oositlerde, biri oositte, diğeri ise sperm hücresinden gelen iki adet pronukleusun, 1. ve 2. Kutup cisimciğinin görülmesi fertilizasyon bulgusu olarak değerlendirildi.

5.8.Klivaj Değerlendirmesi

Laboratuvarımızda 2. günden 5. güne kadar olan klivaj dönemindeki embriyolar mitotik açıdan değerlendirilirken bazı kriterlere dikkat edilmiştir. Bu kriterler;

- Blastomer sayısı,
- Embriyonun içerdiği fragmentasyon
- Blastomer morfolojisi,
- Sitoplazma yapısı,
- ICM yapısı
- Trofektoderm hücrelerin gelişimi
- Zona pellucidanın kalınlığı.

Normal klivaj hızına sahip bir embriyo; 24-25. saatte 2 hücre, 2. günde 3-4 hücre, 3. günde 6-8 hücre ve 4. günde hücrelerin birleşme işaretlerine bağlı olarak 10 ve üzerinde hücreye sahip olması ve 5.günde ICM, blastosöl ve trofektoderm hücrelerinin oluştuğu embriyo olarak kabul edilir.

5.9.Gebelik Değerlendirmesi

Embriyo transferinden 12 gün sonra kanda yapılan β HCG testi sonucu 20 mIU/mL' nin üzerinde çıkan değerler ile 4 hafta sonra elde edilen sak pozitif olgular klinik gebelik olarak değerlendirilmiştir.



6. BULGULAR

Çalışmamızda poklikistik over tanısı konulmuş 100 çiftin dahil edildiği, taze embriyo transferi ve dondurulup-çözülmüş embriyo transferinin gebelik üzerine etkisi değerlendirildi. 50 hastaya taze embriyo transferi, 50 hastaya dondurulmuş-çözülmüş embriyo transferi yapılarak, muayene/ USG bulguları, kullanılan ilaç dozları, serum hormon değerleri, OPU sonrası elde edilen oosit, M2 ve Blastokist sayısı, Transfer Edilen Embriyo Kalitesi ve gebelik oranları karşılaştırıldı.

Araştırma sonucu elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir.

Tablo 3. Gruplar arası Yaş, BKİ, Antral folikül ve Endometrium kalınlığının karşılaştırılması.

Özellikler	Grup 1 (n:50)		Grup 2 (n:50)		p
	ortalama ±ss		ortalama± ss		
Yaş	31,52	5,48	29,18	4,76	0,025
BKI	25,44	4,41	27,03	7,18	0,188
Antral Folikül Sayısı	25,18	10,66	29,28 15,84		0,132
Endometrium Kalınlığı	10,29	2,17	10,65	1,99	0,393

BKİ: Beden Kitle Endeksi, Grup 1: Taze embriyo transferi yapılan hastalar, Grup 2: Dondurulmuş-Çözülmüş embriyo transferi yapılan hastalar.

Grup 1'in ortalama Yaş 31,52 grup 2'nin ortalama Yaş 29,18 olarak bulunmuştur. 2 grup arasında ortalama Yaş değeri istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. (P>0,05)

Grup 1'in ortalama BKİ 25,44 grup 2'nin ortalama BKİ 27,03 olarak bulunmuştur. 2 grup arasında ortalama BKİ istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. (P>0,05)

Grup 1'in ortalama Antral Folikül Sayısı 25,18 grup 2'nin ortalama Antral Folikül Sayısı 29,28 olarak bulunmuştur. 2 grup arasında Antral Folikül Sayısı istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. (P>0,05)

Grup 1'in Endometrium kalınlığı ortalama 10,29 mm grup 2'nin endometrium kalınlığı 10,65 mm olarak bulunmuştur. 2 grup arasında Endometrium kalınlığı bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. ($P>0,05$)

Tablo 4. Gruplar arası serum hormon değerleri karşılaştırılması.

Özellikler	Grup 1 (n:50)		Grup 2 (n:50)		p
	X	ss	X	ss	
LH	7,27	2,77	6,63	1,86	0,181
FSH	5,85	1,58	5,60	1,49	0,432
AMH	3,87	1,51	4,91	1,38	0,001

Grup 1: Taze embriyo transferi yapılan hastalar, Grup 2: Dondurulmuş-çözülmüş embriyo transferi yapılan hastalar.

Grup 1'in LH ortalaması 7,27 grup 2'nin LH ortalaması 6,63 olarak bulunmuştur. 2 grup arasında LH durumlarına göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. ($P>0,05$)

Grup 1'in FSH ortalaması 5,85 grup 2'nin FSH ortalaması 5.60 olarak bulunmuştur. 2 grup arasında E2 durumlarına göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. ($P>0,05$)

Grup 1'in ortalama AMH 3,87 grup 2'nin ortalama AMH 4,91 olarak bulunmuştur. 2 grup arasında ortalama AMH durumlarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. ($P>0,05$)

Tablo 5. Gruplar arası Gonadotropin başlangıç ve bitiş ünitesi ve E2 değerlerinin karşılaştırılması.

Özellikler	Grup 1 (n:50)		Grup 2 (n:50)		p
	Ortalama± ss		Ortalama± ss		
Başlangıç Ünitesi (gnd)	220,50	75,11	194,75	62,53	0,06
Bitiş Ünitesi (gnd)	217,00	76,96	197,00	62,45	0,157
E2	3061,46		3634,44		0,100
	1603,24		1840,27		

Grup 1: Taze embriyo transferi yapılan hastalar, Grup 2: Dondurulmuş-çözülmüş embriyo transferi yapılan hastalar.

Grup 1'in Gonadotropin Başlangıç dozu ortalaması 220,50 grup 2'nin Gonadotropin Başlangıç dozu ortalaması 194,75 olarak bulunmuştur. 2 grup arasında Gonadotropin Başlangıç dozu ortalaması durumlarına göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. ($P>0,05$)

Grup 1'in Gonadotropin Bitiş dozu ortalaması 217,00 grup 2'nin Gonadotropin Bitiş dozu ortalaması 197,00 olarak bulunmuştur. 2 grup arasında Gonadotropin Bitiş dozu ortalaması durumlarına göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. ($P>0,05$)

Grup 1'in E2 ortalaması 3061,46 grup 2'nin E2 ortalaması 3634,44 olarak bulunmuştur. 2 grup arasında E2 durumlarına göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. ($P>0,05$)

Tablo 6. Gruplar arası elde edilen Oosit, M2, 2PN ve Blastokist sayısı, Transfer edilen embriyo kalitesi ve Klinik gebelik oranlarının karşılaştırılması.

Özellikler	Grup 1 (n:50)		Grup 2 (n:50)		p
	ortalama ± ss		ortalama ± ss		
Oosit sayısı	18,66	6,31	25,66	12,35	0,01
M2 Sayısı	16,08	6,11	17,96	9,54	0,003
2-pn sayısı	10,82	5,65	14,74	8,00	0,06
Blastokist	1,98	0,38	1,96	0,19	0,051
Transfer Edilen Grade 1 Embriyo	1,11	0,92	1,06	0,97	0,051
Transfer Edilen Grade 2a Embriyo	1,00	1,09	0,80	0,95	0,645
Transfer Edilen Grade 2b Embriyo	1,08	0,99	0,18	0,53	0,906
Gebelik	0,60	0,49	0,76	0,43	0,088

Grup1: Taze embriyo transferi yapılan hastalar, Grup2: Dondurulmuş-çözülmüş emriyo transferi yapılan hastalar

Grup 1'in Oosit sayısı ortalaması 18,66 grup 2'nin Oosit sayısı 25,66 olarak bulunmuştur. 2 grup arasında Oosit sayısında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. ($P>0,05$)

Grup 1'in M2 sayısı ortalaması 16,08 grup 2'nin M2 sayısı 17,96 olarak bulunmuştur. 2 grup arasında M2 sayısında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. ($P>0,05$)

Grup 1'in 2PN sayısı ortalaması 10,82 grup 2'nin M2 sayısı 14,74 olarak bulunmuştur. 2 grup arasında M2 sayısında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. ($P>0,05$)

Grup 1'in Blastokist sayısı ortalaması 1,98 grup 2'nin Blastokist sayısı ortalaması 1,96 olarak bulunmuştur. 2 grup arasında Blastokist sayısında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. ($P>0,05$)

Grup 1'in ortalama Transfer Edilen Embriyo Sayıları ile, grup 2'nin ortalama Transfer Edilen Embriyo Sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. ($P>0,05$)

Grup 1'in Gebelik ortalaması 0,60 grup 2'nin Gebelik ortalaması 0,76 olarak bulunmuştur. 2 grup arasında Klinik Gebelik ortalamasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. ($P>0,05$)

Tablo 7. Gruplar arası gebelik yüzdesinin karşılaştırılması.

	Grup 1 (n:50)	Grup 2 (n:50)	p
	%	%	
Gebelik	60	76	0.088

Grup1: Taze embriyo transferi yapılan hastalar, Grup2: Dondurulmuş-çözülmüş embriyo transferi yapılan hastalar.

Grup 1'in gebelik oranı %60 grup 2'nin gebelik oranı % 76 olarak bulunmuştur. Klinik gebelik oranları dondurulmuş siklularda daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır. ($P>0,05$)

Tablo 8. Fresh (Taze embriyo transferi), Frozen (Dondurulmuş - Çözölmüş embriyo transferi) üzerinde ki gebelik görölme sıklığı ve yüzdesi.

	Sıklık	Yüzde
Taze ET 1- 50	20	40
	30	60
Dondurulmuş ET 2- 50	12	24
	38	76

Taze embriyo transfer durumu 50 kişi üzerinde uygulandığında, %60 oranla 30 sıklıkla gerçekleşir.

Dondurulmuş embriyo transferi durumu 50 kişi üzerinde uygulandığında, %76 oranla 38 sıklıkla gerçekleşir.

En yüksek ve doğru sonucu %76 oranla 38 kere tekrarlanması durumu kuvvetlendirmektedir. Yani frozen et 2 durumu gerçekleştiğinde gebeliğin olması %76 orandadır bu da sıklık olarak 38 kere tekrarlanabileceği anlamını taşır.

Çalışmaya katılan hastalarda; taze embriyo transferi yapılan grupta gebelik oranı %60, dondurulmuş-çözölmüş embriyo transferi yapılan hastalarda gebelik oranı %76 olarak bulundu. İki grup arasında istatistiksel anlamlılık saptanmadı.

7. TARTIŞMA

PCOS, kronik anovulasyon ve hiperandrojenizm bulgularını hem endokrin hem de metabolik bir hastalıktır. Patofizyolojisinde gonadotropin sekresyon defektleri, steroidogenez bozukluğu, insülin rezistansı ve hiperinsülinemi, genetik faktörler rol oynamaktadır (Witchel, 2007).

Klinik belirtileri; hirsutizm, menstrüel düzensizlikler, obezite, infertilite olmakla beraber uzun dönem riskleri, endometrium kanseri, tip II diabetes mellitus, kardiyovasküler hastalık, hipertansiyon ve dislipidemi şeklinde görülmektedir (Goldzieher and Green, 1962).

Bu çalışmada; PCOS tanısı konmuş hastalarda serum hormon değerleri ve endometrium kalınlığının taze ve dondurulmuş-çözülmüş embriyo canlılığı ve gebelik üzerine etkisi incelenmiştir.

İlk tüp bebek olan Louise Brown'un 25 Temmuz 1978'de İngiltere'de doğumundan itibaren klinikte uygulanmaya başlanan İVF ve 1992'den beri uygulanan İCSİ yöntemleri infertilite tedavisinde umut olmuştur. Gonadotropinlerle ovulasyon indüksiyonu, infertilite tedavisindeki en büyük gelişmelerdendir (Navot et al., 1992). Bu tedavide öncelikle gonadotropin (GnRH) salgılatıcı hormon analogu ilaçların yardımı ile vücudun kendi hormonları baskılanıyor ve bu şekilde oosit gelişimi tamamen dışarıdan verilen ilaçlarla kontrol edilebilir hale gelir. Yardımcı üreme teknikleri kullanılacak hastalarda kontrollü over hiperstimulasyonu (KOH) ile çok sayıda folliküllerin, dolayısıyla da çok sayıda oosit ve embriyoların elde edilebilmesi ile YÜT'nin başarısını arttırmak hedeflenmiştir.

Ovulasyon indüksiyonu sonrası OHSS gelişme riski mevcuttur (Navot et al., 1992; Delvinge and Rozenberg, 2003). Hafif OHSS'nin klinik olarak fazla önemi olmasada, ciddi OHSS over boyutlarında artma, asit, plevralefüzyon, oligoüri, hemokonsantrasyon ve tromboembolik özelliklerle karakterize hayatı tehdit eden bir durumdur (Schenker and Weinstein, 1978; Hock and Seifer, 2000). Ovulasyon indüksiyonu sonrası PKOS'lu hastalarda OHSS görülme olasılığı diğer hastalara göre oldukça yüksektir (Navot et al., 1992).

Over hiperstimulasyonu sendromu gelişimi için çeşitli teoriler öne sürülmüştür ancak gelişim mekanizması tam olarak bilinmemektedir (Balash et al., 1991). Over hiperstimulasyonu sendromu gelişimini tam olarak önleyen farmakolojik bir yaklaşım olmasa da komplikasyonun görülme oranını azaltacak bazı tedbirler alınabilir (Cantelli and Recorari, 1999).

Polikistik over sendromu hastalarında OHSS riskini önlemek amacıyla bu hastalarda İVF sikluslarında daha düşük gonadotropin dozu ile başlanmalı, tedavi sırasında serum estradiol düzeyleri ve ultrason izlemleri iyi monitorize edilmelidir (Rizk and Aboulghar, 1999). Embriyonun dondurulması, hipofiz baskılanması için GnRH agonistinden ziyade GnRH antagonist protokolünün tercih edilmesi, hCG enjeksiyonunu ertelemek, hCG yapılmaması veya siklus iptali ciddi OHSS geliştirme riski olan PKOS hastalarında alınan diğer tedbirlerdendir (Rizk and Aboulghar, 1999).

Kriyoteknolojinin 1980'li yılların ortalarında kullanılmaya başlanması ile gündeme gelen konsept embriyoların transfer edilmeden dondurulmaları olmuştur. İlk dönemlerde kullanılan yavaş dondurma metodu ile blastosistler veya klivaj dönemi embriyoların dondurulması başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiş ve ilerleyen süreçte gebelikler elde edilmiştir. Hızlı bir dondurma işlemi olan ve yüksek konsantrasyonlarda kriyoprotektan kullanılan vitrifikasyon yönteminde ise hücre içerisinde daha düşük seviyede kristal formasyonu yakalanmıştır. Bu sayede hücrelerin daha az hasar görmesi ile birlikte elde edilen sonuçlardaki başarı oranı da yükselmiştir (Liz et al., 2014).

Gonadotropinlerin KOH sikluslarında farklı dozlarda uygulanması yoluyla büyük miktarda folikülün stimüle edilmesi hormonal mikroçevrede bazı değişikliklere sebep olmuştur. Özellikle suprafizyolojik seviyelere çıkan progesteron ve estradiol hormonlarının tetiklendiği bazı faktörlerin ve sitokinlerin salgılanmaları neticesinde stimüle sikluslar doğal sikluslarından tamamen farklı durumlar göstermektedir. Söz konusu sikluslardaki hormonal değişimin neticesinde endometriyal reseptivitenin bozulmasına bağlı olarak implantasyon sürecinde bozulabilir veya implante olmuş embriyonun endometriyum ile arasındaki iletişimin bozulmasına bağlı olarak perinatal-obstetrik kötü sonuçlar görülebilir (Ubaldi et al., 1997).

Dondurulmuş embriyo sikluslarının, taze siklusa nazaran daha optimal reseptivite, mikroçevre ve uterin sağlamaları gibi farklı sebepler sayesinde daha yüksek gebelik seviyeleri sağladığı iddia edilmiştir. Yapılan güncel bir meta-analiz neticesinde de benzer bir sonuca ulaşılmış, taze siklusa göre dondurulmuş-çözülmüş embriyo transferi yapılan sikluslarda klinik ve devam eden gebeliklerin daha yüksek olduğu saptanmıştır (Roque et al., 2013).

Embriyo transferini takiben implantasyon başarısızlığı birçok sebebe bağlı olarak gelişebilir. Endometriyum ve implante olan blastosist arasındaki hücresel ve moleküler etkileşimler henüz iyi aydınlatılamamıştır.

Bu nedenle implantasyon başarısızlığı İVF'teki problemlerin başında gelmektedir (Nikas and Makrigiannakis, 2003; Pacey et al., 1995). İmplantasyon başarısızlığının tanımı her yerde değişiktir. Ancak en sık kullanılan kriter, 3 İVF denemesinde embriyoların tekrarlayan, ardısıra implantasyon başarısızlığıdır. Etiyolojik etkenler sıklıkla çakışsa da implantasyon başarısızlığı anne yaşı ve oosit-embriyo kalitesi, immünolojik etkenler, endometrial reseptivite ve luteal faz bozuklukları, uterin, tubal ve peritoneal etkenler ve stimülasyon protokolü ile embriyo kültür ortamının altında sınıflandırılmıştır (Ola and Li, 2006).

In vitro fertilizasyonda uygulanan KOH'un yarattığı ana problemlerden biri endometrial faktörlerdeki değişimlerdir (Gulekli et al., 2004). İn vitro fertilizasyon sikluslarında çok sayıda oosit elde etmek için kullanılan gonadotropinler suprafizyolojik seviyelerde steroid hormon üretimine yol açarak endometrial reseptivitenin ve takiben implantasyonun olumsuz yönde etkilenmesine neden olur.

Embriyo morfolojisi ve gebelik arasındaki korelasyonların sonucu olarak embriyologlar transfer edilen embriyoların kalitesini belirlemek için evreleme şeması kullanırlar. Bu şemaların çoğu sitoplazmik fragmentasyon ve büyüme hızıyla ilişkiliyken, bazıları da zona pellusida kalınlığı, blastomer büyüklüğü ve düzenliliği gibi başka faktörleri kapsar. Derece I; mükemmel morfolojiyi anlatmak üzere eşit büyüklükte blastomerleri olan ve sitoplazmik fragmanları olmayan pre-embriyoyu ifade eder, farklı büyüklükteki blastomerlerin ve pre-embriyo yüzeyinin kaplayan minör sitoplazmik fragmanların artması embriyo derecesini negatif yönde etkileyerek embriyo kalite derecesini arttırır (Derece II, Derece III) ve takiben başarıyı azaltır (Veede, 1998; Polge et al., 1949).

Transferden hemen önce yapılan embriyo skorlamasında, elde edilen embriyoların çoğu I. Ve II. derece olarak sonuçlanmıştır. Polikistik over sendromlu hasta grubunda embriyo kalitesi ve gelişim potansiyeli daha düşük çıkmıştır. Polikistik over sendromlu hastalarındaki bu sonuçlara, bu grubun yüksek androjen değerleri ya da kültür ortamının yetersizliği neden olmuş olabilir.

1949'da sperm hücrelerinin dondurulmasında kriyoprotektan olarak gliserolün kullanımında başarı kazanılması embriyoların ve oositlerin de dondurularak saklanması araştırmalarına başlanmasına neden olmuştur (Polge et al., 1949). Kriyoprotektanlar dondurma işleminde intrasellüler kristal oluşumu ve soğuk şoku zararını engellerken çözme işleminde de gelişen membransel destabilizasyona ve dekrizalizasyona karşı koruma sağlarlar.

Kriyoprotektanlar koruyucu özelliklerini çoğunlukla ortamdaki iyon miktarını azaltarak ve donmamış fraksiyonu artırarak ortaya koyarlar. Hücreler intrasellüler bakımdan dengeye gelmeleri amacıyla dondurulmadan önce kriyoprotektanlarla inkübasyona tabi tutulurlar. . Kriyoprotektanların iki önemli özelliği toksik etkilerinin yalnızca belli oranlarda katıldıklarında ortaya çıkıyor oluşu ve sahip oldukları düşük moleküler ağırlıklarıdır (Polge et al., 1949). Plazma membranından kriyoprotektanların ve suyun basit difüzyonunu ve hızlı transportu ile hücrelerin başarıyla dondurulması gerçekleştirilir. Son yıllarda membranda transport işlevli protein yapısında olan su kanalları (aquaporin) saptanmıştır. Hücrelerin yaşam gücünü arttırmak amacıyla bu proteinler dondurma sıvısına ilave edilmektedirler (Edashige et al., 2003). Hatta son yıllarda yapılan yeni çalışmalar dondurulmuş-çözülmüş embriyo transferinin taze embriyo transferine üstünlüğünü (premature doğum oranları, düşük doğum ağırlığı oranları, ölü doğum oranları ve başarılı implantasyon oranları) destekleyecek verilere sahiptir ve özellikleri PCO tanısı konmuş hasta grubunda, hastaları olası tehlikelere karşı koruma niteliğine sahiptir (Pelkonen et al., 2008).

Shi Y. Ve arkadaşlarının 2014 de yaptıkları çok merkezli bir çalışmada PCOS hastalarında canlı doğum ile sonuçlanan gebelikleri incelediler ve dondurulmuş embriyo transferi sikluslarında canlı doğum oranlarının daha yüksek olduğunu gösterdiler (Shi et al., 2014).

Yine Lyu ve ark 2018 de canlı doğum ile sonuçlanan gebelikleri incelediler ve dondurulmuş embriyo transferi sikluslarında daha düşük ovaryum hiperstimulasyon sendromu olgusuna rastlandığını ve doğan bebeklerin neonatal gelişiminin diğer gruba kıyasla daha iyi olduğunu ileri sürdüler (Zhonghua, 2018).

Çalışmamızda dondurulmuş embriyo transferi sikluslarında serum AMH değerlerinin istatistiki olarak anlamlı bir yükseklik gösterdiği görülmüştür. Ocal P. ve arkadaşlarının 2011 de yaptıkları çalışmada 3,3 ng/ml AMH değerinin OHSS riskini belirlediği ve antimüllerian hormon değerinin hiperstimulasyona giden hastalar için bir kriter olabileceğini gösterdiler (Ocal et al., 2011). Irez T. ve arkadaşlarının 2011 de yaptıkları çalışmada çok yüksek ve çok düşük serum AMH değerlerinin oosit kalitesi, embriyo gelişimi ile ilişkisini gösterdiler (Irez et al., 2011). Çalışmamızda embriyo kriyoprezervasyonu' nun bu nedenle yükselen AMH değerlerinde de incelenmesi ve PCOS 'lu hasta popülasyonunun farklı serum AMH değerleri açısından da dondurulmuş ve taze siklularda incelenmesi ve gebeliklerin değerlendirilmesi gereklidir.

8. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada; PCOS tanısı konmuş hastalarda serum hormon değerleri ve endometrium kalınlığının taze ve dondurulmuş-çözölmüş embriyo canlılığı ve gebelik üzerine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla PCOS tanısı konmuş olan 100 çiftin yarısının embriyoları taze transfer yapıp, yarısı dondurulmuş-çözölmüş embriyo transferi yapılmıştır.

Çalışmaya katılan hastalarda; taze embriyo transferi yapılan grupta gebelik oranı %60, dondurulmuş-çözölmüş embriyo transferi yapılan hastalarda gebelik oranı %76 olarak bulundu. Klinik gebelik açısından fark olmasına rağmen, dondurulmuş-çözölmüş embriyo transferinde gebelik oranlarının istatistiksel olarak anlamlı artış göstermemiştir. Ancak dondurulmuş-çözölmüş embriyo transferi; Ovaryum hiperstimulasyonunu engellenmesi açısından iyi bir klinik yaklaşım olabileceği görölmüştür.

9. KAYNAKÇA

- Arav, A., Hehu, D., Mattioli, M. (1993). Osmotic and cytotoxic study of vitrification of immature bovine oocytes, *J Reprod Fertil*, 99:353-358.
- Austin, C.R., Short, R.V. (1984). *Reproduction In Mamals:3, Hormonal Control Of Reproduction*, Cambridge University Press.
- Bağış H, Sağırkaya H, Dınnyes A. Vitrification of pronuclear stage mouse embryos in mi- crodrops vs. cryotubes and the effect of the sugar content of the vitrification solution. *Theriogenol- ogy* 2002; 57: 461.
- Balasch, J., Arroyo, V., Carmona, F., Llach, J., Jimenez, W., Pare, J.C. and Vanrell, J.A. (1991). Severe ovarian hyperstimulation syndrome: role of peripheral vasodilation, *Fertility and Sterility*, 56:1077-1083.
- Barbieri, R.L. (2004). Female infertility, In Strauss FJ, Barbieri RL (eds), *Reproductive endocrinology*, Pensylvania: Elsevier Inc. 5th ed., 663-668.
- Beerendonk CCM, Van Dop PA, Braat DDM, Merkus JMWM. Ovarian Hyperstimulation Syndrome. Facts and fallacies. *Obstet Gynecol Surv* 1998; 53:439-49.
- Begin, I., Bhatia, B., Baldassarre H., Dinyess, A., Keefer, C.L. (2003). Cryopreservation of goat oocytes and in vivo derived 2- to 4-cell embryos using the cryoloop (CLV) and solidsurface vitrification (SSV) methods, *Theriogenology*, 59:1839-1850.
- Bjorntorp, P. (1988). The associations between obesity, adipose tissue distribution and disease, *Acta Med Scand Suppl*, 723:121-134
- Burghen, G.A, Givens, J.R., Kitabchi, A.E. (1980). Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease, *J Clin Endocrinol Metab*, 50:113-116.
- Cantelli, B. and Recorari, R. (1999). Prevention of ovarian hyperstimulation syndrome.
- Carmina, E., Koyama, T., Chang, L., Stanczyk, F.Z., Lobo, R.A. (1992). Does ethnicity influence the prevalence of adrenal hyperandrogenism and insulin resistance in polycystic ovary syndrome? *Am J Obstet Gynecol*, 167:1807- 1812.
- Chang, R.J., Katz, S.E. (1999). Diagnosis of polycystic ovary syndrome, *Endocrinol Metab Clin North Am*, 28:397-408.

Chian, R.C., Gulekli, B., Buckett, W.M., Tan, S.L. (1999). Priming with human chorionic gonadotropin before retrieval of immature oocytes in women with infertility due to the polycystic ovary syndrome, *N Engl J Med*, 341:1624.

Claman, P., Armant, D.R., Seibel, M.M. et al. (1987). The impact of embryo quality and quantity on implantation and the establishment of viable pregnancies, *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 4:218-222.

Cseh, S., Corselli, J., Nehlsencannarella, S.L., Bailey, L.L., Szalay, A.A. (1997). The effect of quick-freezing in ethylene glycol on morphological survival and in vitro development of mouse embryos frozen at different preimplantation stages, *Theriogenology*, 48:43-50.

Dattena, M., Ptak, G. Loi, P., Cappai, P. (2000). Survival and viability of vitrified in vitro and in vitro produced bovine blastocysts, *Theriogenology*, 53:1511-1519.

Delvigne A. Symposium: Update on prediction and management of OHSS. *Reprod Biomed Online* 2009; 19:8-13.

Delvigne, A. and Rozenberg, S. (2003). Review of clinical course and treatment of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS), *Hum Reprod Update*, 9:1-20.

Dochi O, Yamamoto Y, Saga H, Yoshida N, Kano N, Maeda J, Miyata K, Yamauchi A, Tominaga K, Oda Y, Nakashima T, Inohara S. Direct transfer of bovine embryos frozen-thawed in the presence of propylene glycol or ethylene glycol under on-farm conditions in an integrated embryo transfer program. *Theriogenology* 1998; 49: 1051-1058.

Doreen L. Hock, David B. Seifer, Ovarian hyperstimulation syndrome. In: Diamond M, DeCherney A, eds. *Art of ovulation induction Clinics of North America* 2000; 11:399-417.

Dunaif, A. (1997). Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis, *Endocr Rev*, 18:774-800.

Edashige, K., Yamaji, Y., Kleinhans, F.W., Kasai, M. (2003). Artificial expression of aquaporin-3 improves the survival of mouse oocytes after cryopreservation, *Biol Reprod*, 68:87-94.

European Society for Human Reproduction and Embryology [ESHRE] / American Society for Reproductive Medicine [ASRM], (2004).

Fearnley EJ, Marquart L, Spurdle AB, et al. Polycystic ovary syndrome increases the risk of endometrial cancer in women aged less than 50 years: an Australian case-control study. *Cancer Causes Control*. 2010, 21:2303-2308.

Forman RG, Frydman R, Egan D, Ross C, Barlow DH. Severe ovarian hyperstimulation syndrome using gonadotropin releasing hormone agonists for in vitro fertilization: an European series and a proposal for prevention. *Fertil Steril* 1990; 53:502-9.

Franks, S. (1989). Polycystic ovary syndrome: a changing perspective, *Clin Endocrinol (Oxf)*, 31:87-120.

Gilling-Smith, C., Willis, D.S., Beard, R.W., Franks, S. (1994). Hypersecretion of androstenedione by isolated thecal cells from polycystic ovaries, *J Clin Endocrinol Metab*, 79:1158-1165.

Gilling-Smith, C., Willis, D.S., Beard, R.W., Franks, S. (1994). Hypersecretion of androstenedione by isolated thecal cells from polycystic ovaries, *J Clin Endocrinol Metab*, 79:1158-1165.

Giudice LC. Potential biochemical markers of uterine receptivity. *Hum Reprod* 1999; 14:3-16.

Goa, D., Critser, J.K., (2000). Mechanisms of cryoinjury in living cells, *ILAR*, 41:186-187.

Goldzieher JW, Green JV : The Polycystic Ovary.I.Clinical and Histological Features.*J Clin Endocrinol Metab*.22:325, 1962

Goldzieher, J.W., Gren, J.A. (1961). The polycystic ovary I. Clinical and histological features, *J Clin Endocrinol Metab*, 22:325-338.

Gulekli, B., Buckett, W.M., Chian, R.C., Child, T.J., Abdul-Jalil, A.K., Tan, S.L. (2004). Randomized, controlled trial of priming with 10,000 IU versus 20,000 IU of human chorionic gonadotropin in women with polycystic ovary syndrome who are undergoing in vitro maturation, *Fertility and Sterility*, 82:1458-1459.

Hatch, R., Rosenfield, R.L., Kim, M.H., Tredway, D. (1981). Hirsutism: implications, etiology, and management, *Am J Obstet Gynecol*, 140:815-830.

Hock, D.L. and Seifer, D.B. (2000). Ovarian hyperstimulation syndrome, *Infertil Reprod Med Clin North Am*, 11:399-417.

Irez T, Ocal P, Guralp O, Cetin M, Aydogan B, Sahmay S. Different serum anti-Müllerian hormone concentrations are associated with oocyte quality, embryo development parameters and IVF-ICSI outcomes. *Arch Gynecol Obstet*. 2011 Nov;284(5):1295-301. doi: 10.1007/s00404-011-1979-6. Epub 2011 Jul 1

Jee BC, Suh CS, Kim YB, Kim SH, Choi YM, Kim JG, et al. Administration of intravenous albumin around the time of oocyte retrieval reduces pregnancy rate without preventing ovarian hyperstimulation syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Gynecol Obstet Invest* 2010; 70:47- 54.

Johnson, M., Everitt, B. (1988). *Essential Reproduction*, Oxford, Blackwell Scientific Publications Third Edition.

Kong, I. K., Lee, S. I., Cho, S. G., Cho, S. K., Park, C. S. (2000). Comparison of open pulled straw (OPS) vs glass micropipette (GMP) vitrification in mouse blastocyst, *Theriogenology*, 53:1817-1826.

Lewis CG, Warnes GM, Wang XJ, Matthews CD. Failure of body mass index or body weight to influence markedly the response to ovarian hyperstimulation in normal cycling women. *Fertil Steril* 1990; 53:1097-9.

Li z, Wang YA, Ledger W, Edgar DH, Sullivan EA. Clinical outcomes following cryopreservation of blastocysts by vitrification or slow freezing: a population based cohort study. *Hum Reprod* 2014; 29:2794-801.

Lobo R. Current Concepts: Potential Options for Preservation of Fertility in Women. *N Engl J Med* 2005; 353:64– 73.

Loutradi, K.E., Kolibianakis, E.M., Venetis, C.A., Papanikolaou, E.G., Pados, G., Bontis, I., Tarlatzis, B.C. (2008). Cryopreservation of human embryos by vitrification or slow freezing: a systematic review and meta- analysis, *Fertility and Sterility*, 90(1):186-193

MacDougall, J., Tan, S.L., Balen, A., Jacobs, H.S. A. (1993). Controlled study comparing patients with, and without, polycystic ovaries undergoing in-vitro fertilisation, *Hum. Reprod*, 8:233-237.

MacDougall, J., Tan, S.L., Balen, A., Jacobs, H.S. A. (1993). Controlled study comparing patients with, and without, polycystic ovaries undergoing in-vitro fertilisation, *Hum. Reprod*, 8:233-237.)

Macfarlane, D.R., Forsyth, M. (1990). Recent insight on the role of cryoprotective agents in vitrification, *Cryobiology*, 27:345-358.

Macklon NS, Fauser BC. Impact of ovarian hyperstimulation on the luteal phase. *J Reprod Fertil Suppl* 2000;55: 101-8.

Martines AG, De Matos DG, Furnus CC, Brogliatti GM. In vitro evaluation and pregnancy rates after vitrification of in vitro produced bovine embryos. *Theriogenology* 1998; 50: 757-767.

- Martinez AG, Matkovic M. Cryopreservation of bovine embryos: slow freezing and vitrification. *Theriogenology* 1998; 49: 1039-1049.
- Mashe WD, Pratt WF: Fecundity and Infertility in the United States Incidence and Trends. *Fertil Steril*.56:192,1991.
- Maugey-Laulom B, Commenges-Ducos M, Jullien V, Papaxanthos-Roche A, Scotet V, Commenges D. Endometrial vascularity and ongoing pregnancy after IVF. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Bio* 2002;104: 137-43.
- Mcgann, L.E. (1978). Differing action of penetrating and nonpenetrating agents, *Cryobiology*, 15:382-390.
- Moore, K.L., Persaud, T.V.N. (2009). *Before We Are Born Essentials of Embryology and Birth Defect*, Saunders Elsevier.
- Mosher, W.D., Pratt, W.F. (1991). Fecundity and infertility in the United States: Incidence and trend, *Fertility and Sterility*,56:192.
- Navot D, Relou A, Birkenfeld A, Rabinowitz R, Brzezinski A, Margalioth EJ. Risk factors and prognostic variables in the ovarian hyperstimulation syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 159:210–5.
- Navot, D., Bergh, P.A. and Laufer N. (1992). Ovarian hyperstimulation syndrome in novel reproductive technologies: prevention and treatment, *Fertility and Sterility*, 58:249-261.
- Navot, D., Bergh, P.A. and Laufer N. (1992). Ovarian hyperstimulation syndrome in novel reproductive technologies: prevention and treatment, *Fertility and Sterility*, 58:249-261.
- Nikas, G., Makrigiannakis, A. (2003). Endometrial pinopodes and uterine receptivity, *Ann N Y Acad Sci*, 997:120-123.
- Nowshari MA, Brem G. Effect of cryoprotectants and their concentration on post-thaw survival and development of expanded mouse blastocyst frozen by a simple rapid-freezing procedure. *Theriogenology* 1998; 50: 1001-1013.
- Ocal P, Sahmay S, Cetin M, Irez T, Guralp O, Cepni I. Serum anti-Müllerian hormone and antral follicle count as predictive markers of OHSS in ART cycles. *J Assist Reprod Genet*. 2011 Dec;28(12):1197-203. doi: 10.1007/s10815-011-9627-4. Epub 2011 Sep 1.
- Ola, B., Li, T.C. (2006). Implantation failure following in vitro fertilisation, *Current Opinion in Obstetrics and Gynaecology*, 18:440-445

Pacey, A.A., Hill, C.J., Scudamore, I.W. Warren, M.A., Barratt, C.L.R., and Cooke, I.D. (1995). The interaction in vitro of human spermatozoa with epithelial cells from the human uterine (Fallopian) tube, *Human Reproduction*, 10(2):360-366.

Palasz, A.T., Maplet, R.J. (1996). Cryopreservation of mammalian embryos and oocytes: recent advances, *Biotechnol Adv*, 14:127-149.

Pasquali, R., Casimirri, F., Cantobelli, S., et al. (1993). Insulin and androgen relationships with abdominal body fat distribution in women with and without hyperandrogenism, *Horm Res*, 39:179-187.

Pelkonen, S., Koivunen, R.M, Martikainen, H., Gissler, M., Hartikainen, A.L., Tiitinen A. (2008). Obstetric and perinatal outcome of children born after the transfer of cryopreserved and fresh embryos, *Abstracts of the Scientific Oral & Poster Sessions Program Supplement Fertility and Sterility*, *Abstracts of the Scientific Oral & Poster Sessions Program Supplement*, 90:64-65.

Polge, C., Smith, A.U., Parkes, A.S. (1949). Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures, *Nature*, 164: 666-667.

Polson, D.W., Adams, J., Wadsworth, J., Franks, S. (1988). Polycystic ovaries a common finding in normal women, *Lancet*, 1:870-872.

Pugh PA, Tervit HR, Neimann H. Effect of vitrification medium composition on the survival of bovine in vitro produced embryos, following in straw-dilution, in vitro and in vivo following transfer. *Anim. Reprod. Sci.* 2000; 58: 9-22.

Rall, W.F., Fahy G.M. (1985). Ice-free cryopreservation of mouse embryos, *Nature*, 313:573-574.

Richards JS: Maturation of Ovarian Follicles: Action and Interaction. *Physiol Rev.* 60:51,1980.

Rizk, B. and Aboulghar, M.A. (1999). Classification, pathophysiology and management of ovarian hyperstimulation syndrome, In Brinsden, P. (ed.) *In Vitro Fertilization and Assisted Reproduction*. The Parthenon Publishing Group, New York, London, pp. 131-155

Roque M, Lattes K, Serra S, Sola I, Geber S, Carreras R, et al. Fresh embryo transfer versus frozen embryo transfer in in-vitro fertilization cycles: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2013; 99:156-62.

Rosenfield RL, Cooke, D.W., Radovick, S. Puberty and its disorders in the female. In: Sperling MA (ed). *Pediatric Endocrinology* 3rd ed-Philadelphia, Saunders Elsevier, 2008:530-609

Rotterdam ESHRE/ASRM Sponsored PCOS Consensus Workshop (2004). Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility* 81:19-25.

Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004; 19: 41-7.

Sagirkaya, H., (2001). Değişik gelişim dönemlerinde bulunan hibrit fare embriyolarının vitrifikasyon yöntemiyle dondurulması (Doktora Tezi). U.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa.

Sagle M, Bishop K, Ridley N et Ali: Recurent Early Miscarriage and Polycystic Ovaries. *Br Med J*.297:1027,1988.

Schenker JG, Ezra Y. Complications of assisted reproductive techniques. *Fertil Steril* 1994; 61:411-22.

Schenker JG: Clinical aspects of ovarian hyperstimulation syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Rep Biol* 1999; 85:13-20.

Schenker, J.G. and Weinstein, D. (1978). Ovarian hyperstimulation syndrome: a current survey, *Fertility and Sterility*, 30:255-268.

Shi Y, Wei D, Liang X, Sun Y, Liu J, Cao Y, Zhang B, Legro RS, Zhang H, Chen ZJ. Live birth after fresh embryo transfer vs elective embryo cryopreservation/frozen embryo transfer in women with polycystic ovary syndrome undergoing IVF (FrePro-PCOS): study protocol for a multicenter, prospective, randomized controlled clinical trial. *Trials*. 2014 May 2;15:154. doi: 10.1186/1745-6215-15-154

Sohrabvand, F., Ansari, Sh., Bagheri, M. (2006). Efficacy of combined metformin-letrozole in comparison with metformin-clomiphene citrate in clomiphene-resistant infertile women with polycystic ovarian disease, *Hum Reprod*, 21:1443-1445.

Stein, I.F., Leventhal, M.L. (1935). Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries, *Am J Obstet Gynecol*, 29:181

Tollan A, Holst N, Forsdahl F, Fadnes HO, Oian P, Maltau JM. Transcapillary fluid dynamics during ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162:554-8.

Ubaldi F, Bourgain C, Tournaye H, Smits J, Van Steirteghem A, Devroey P. Endometrial evaluation by aspiration biopsy on the day of oocyte retrieval in the embryo transfer cycles in patients with serum progesterone rise during the follicular phase. *Fertil Steril* 1997; 67:521-6.

- Vajta, G. (2000). Vitrification of the oocytes and embryos of domestic animals, *Anim Reprod Sci*, 60/61:357-364.
- Veede, L. (1998). Preembryo grading and degree of cytoplasmic fragmentation. In: Veede, ed. *An Atlas of human Gametes and conceptuses*, London, 46-51.
- Williamson, K., Gunn, A.J., Johnson, N., Milsom, S.R. (2001). The impact of ethnicity on the presentation of polycystic ovarian syndrome, *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 41:202-206.
- Witchel SF. Hirsutism and polycystic ovary syndrome In: Lifshitz F (ed) *Pediatric Endocrinology* New York, Informa Healthcare USA Inc, 2007: 325-48.
- Yen, S.S. (1980). The polycystic ovary syndrome, *Clin Endocrinol (Oxf)*, 12:177-207.
- Yildiz, B.O., Gedik, O. (2004). Assessment of glucose intolerance and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome, *Reprod Biomed Online*, 8:649-656.
- Yildiz, B.O., Woods, K.S., Stanczyk, F., Bartolucci, A., Aziz, R. (2004). Stability of adrenocortical steroidogenesis over time in healthy women and women with polycystic ovary syndrome, *J Clin Endocrinol Metab*, 89:5558-55562.
- Yildiz, B.O., Yarali, H., Oguz, H., Bayraktar, M. (2003). Glucose intolerance, insulin resistance, and hyperandrogenemia in first degree relatives of women with polycystic ovary syndrome, *J Clin Endocrinol Metab*, 88:2031-2036.
- Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. Analysis of pregnancy outcomes of polycystic ovary syndrome patients after frozen embryo transfer 2018 Jan 25;53(1):31-34. doi: 10.3760/cma.j.issn.0529-567X.2018.01.007

10. EKLER

EK 1. GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

Sizi **Barışhan Özdemir** tarafından yürütülen “POLİKİSTİK OVER SENDROMLU HASTALARDA SERUM HORMON DEĞERLERİ VE ENDOMETRİUM KALINLIĞININ TAZE VE DONDURULMUŞ-ÇÖZÜLMÜŞ EMBRİYO CANLILIĞI VE GEBELİK ÜZERİNE ETKİSİ. .” başlıklı araştırmaya davet ediyoruz. Bu araştırmanın amacı Polikistik over sendromlu hastalarda embriyo dondurma ve çözme işlemi sonrasında yapılan transferde elde edilen gebelik oranlarını etkileyen faktörlerin ortaya çıkarılmasıdır. Araştırmada sizden tahminen 10 dakika (süreyi saat veya dakika olarak belirtebilirsiniz) ayırmanız istenmektedir. Araştırmaya sizin dışınızda tahminen 100 kişi katılacaktır. Bu çalışmaya katılmak tamamen gönüllülük esasına dayanmaktadır. Çalışmanın amacına ulaşması için sizden beklenen, bütün soruları eksiksiz, kimsenin baskısı veya telkini altında olmadan, size en uygun gelen cevapları içtenlikle verecek şekilde cevaplamanızdır. Bu formu okuyup onaylamanız, araştırmaya katılmayı kabul ettiğiniz anlamına gelecektir. Ancak, çalışmaya katılmama veya katıldıktan sonra herhangi bir anda çalışmayı bırakma hakkına da sahipsiniz. Bu çalışmadan elde edilecek bilgiler tamamen araştırma amacı ile kullanılacak olup kişisel bilgileriniz gizli tutulacaktır; ancak verileriniz yayın amacı ile kullanılabilir. İletişim bilgileriniz ise sadece izninize bağlı olarak ve farklı araştırmacıların sizinle iletişime geçebilmesi için “ortak katılımcı havuzuna” aktarılabilir. Eğer araştırmanın amacı ile ilgili verilen bu bilgiler dışında şimdi veya sonra daha fazla bilgiye ihtiyaç duyarsanız araştırmacıya şimdi sorabilir veya barishanarzul@gmail.com e-posta adresi ve 0553 603 67 79 numaralı telefondan ulaşabilirsiniz. Araştırma tamamlandığında genel/size özel sonuçların sizinle paylaşılmasını istiyorsanız lütfen araştırmacıya iletiniz.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce katılımcıya verilmesi gereken bilgileri okudum ve katılmam istenen çalışmanın kapsamını ve amacını, gönüllü olarak üzerime düşen sorumlulukları anladım. Çalışma hakkında yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı/araştırmacılar tarafından yapıldı. Bana, çalışmanın muhtemel riskleri ve faydaları sözlü olarak da anlatıldı. Kişisel bilgilerimin özenle korunacağı konusunda yeterli güven verildi.

Bu koşullarda söz konusu araştırmaya kendi isteğimle, hiçbir baskı ve telkin olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Katılımcının

Adı ve Soyadı:

İmzası: İletişim Bilgileri: e-posta:

Telefon:

İletişim bilgilerimin diğer araştırmacıların benimle iletişime geçebilmesi için “ortak araştırma havuzuna” aktarılmasını; ☐ kabul ediyorum ☐ kabul etmiyorum (lütfen uygun seçeneği işaretleyiniz)

Araştırmacının

Adı-Soyadı: Barışhan ÖZDEMİR

İmzası:

EK.2 ETİK KURUL ONAYI



SAYI: ATADEK-2018/1
KONU: Etik Kurul Kararı

Sayın Prof. Dr. Tülay İREZ, Bio. Barışhan ÖZDEMİR, Prof.Dr.Bülent Tıraş,

Sorumluluğunu yürüttüğünüz **“POLİKİSTİK OVER SENDROMLU HASTALARDA SERUM HORMON DEĞERLERİ VE ENDOMETRİUM KALINLIĞININ TAZE VE DONDURULMUŞ-ÇÖZÜLMÜŞ EMBRİYO CANLILIĞI VE GEBELİK ÜZERİNE ETKİSİ.”** başlıklı proje 11.01.2018 tarih 2018/1 Sayılı Atadek Toplantısında görüşülmüş olup 2018-1/24 karar numarası ile tıbbi etik yönden uygun bulunmuştur.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be "I. H. ULUS".

Prof.Dr. İsmail Hakkı ULUS
ATADEK Başkanı

ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
TIBBİ ARAŞTIRMALAR DEĞERLENDİRME KURULU (ATADEK)

Etik onay istenen tıbbi araştırmanın başlığı:

POLİKİSTİK OVER SENDROMLU HASTALARDA SERUM HORMON DEĞERLERİ VE
ENDOMETRİUM KALINLIĞININ TAZE VE DONDURULMUŞ-ÇÖZÜLMÜŞ EMBRİYO
CANLILIĞI VE GEBELİK ÜZERİNE ETKİSİ.

Etik onay istenen tıbbi araştırmanın yürütücüsü (sorumlusu):

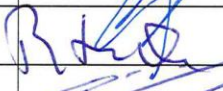
Prof. Dr. Tülay İREZ, Bio. Barışhan ÖZDEMİR, Prof.Dr.Bülent Tıraş

Karar:

Kabul (Etik olarak uygun) (X) Revizyon ()* Etik olarak uygun değil ()**

Toplantı Tarihi:11.01.2018

Karar Numarası: 2018-1/24

		Karara	Karara
Kurul Üyesi-Unvan Ad-Soyad	İmza	Katılıyorum	Katılmıyorum***
Prof. Dr. İsmail Hakkı Ulus (Başkan)		(X)	()
Prof. Dr. Güldal Süyen (Başkan Yrd)		(X)	()
Prof.Dr. Mert Ülgen		()	()
Doç.Dr. Ükke Karabacak		()	()
Doç.Dr. A.Elif Eroğlu Büyüköner		()	()
Doç.Dr. Berrin Karadağ		(X)	()
Yrd.Doç.Dr. Fatih Artvinli		(X)	()
Yrd.Doç.Dr. Günseli Bozdoğan		(X)	()

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Barışhan Özdemir

Doğum Tarihi ve Yeri : 12.10.1989

Mail Adresi: barishanarzul@gmail.com

Unvanı: Biyolog

Öğrenim Durumu: Lisans

Derece	Okul Adı ve Bölümü	Mezuniyet Yılı
Lise	Muratlı Lisesi	2007
Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi/ Biyoloji	2012

İNTİHAL RAPORU

POLİKİSTİK OVER SENDROMLU HASTALARDA SERUM
HORMON DEĞERLERİ VE ENDOMETRİUM KALINLIĞININ
TAZE VE DONDURULMUŞ-ÇÖZÜLMÜŞ EMBRİYO CANLILIĞI
VE GEBELİK ÜZERİNE ETKİSİ

ORIJINALLIK RAPORU

%18

BENZERLİK ENDEKSİ

%15

İNTERNET
KAYNAKLARI

%5

YAYINLAR

%11

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ