

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

**RAT OVARYAN HİPERSTİMÜLASYON
MODELİNDE RELCOVAPTAN' IN GNRH
ANTAGONİSTİ İLE KARŞILAŞTIRMALI ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. CAHİT CENKSOY**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. RIFAT GÜRSOY**

**ANKARA
MART 2012**

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

**RAT OVARYAN HİPERSTİMÜLASYON
MODELİNDE RELCOVAPTAN' IN GNRH
ANTAGONİSTİ İLE KARŞILAŞTIRMALI ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. CAHİT CENKSOY**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. RIFAT GÜRSOY**

**Bu tez Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından
G.Ü. ET-09.084 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**ANKARA
MART 2012**

TEŞEKKÜR

Kadın Hastalıkları ve Doğum uzmanlık tezimi sunarken, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı' ndaki uzmanlık eğitimim süresince bana yol gösteren ve eğitimimde katkısı bulunan tüm hocalarıma, tezimin hazırlanma süreci içinde benden yardımlarını esirgemeyen tez danışmanın Prof. Dr. Rıfat Gürsoy ve Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Anıl Onan' a, yardımlarından ötürü patoloji anabilim dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Özlem Erdem' e, hayatım boyunca bana yol gösteren, bugünlere gelmem için bana sonsuz destek olan ve sevgilerini esirgemeyen aileme; acı tatlı günleri beraber paylaştığımız değerli asistan arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Cahit CENKSOY

KISALTMALAR

ARDS	: Yetişkin Respiratuar Distres Sendromu.
AVP	: Arjinin Vazopressin.
FDA	: Birleşik Devletler Gıda Ve İlaç Derneği.
FSH	: Folikül Stimüle Edici Hormon.
GnRH	: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon.
HCG	: İnsan Koryonik Gonadotropini.
ICSI	: İntra Stoplazmik Sperm Enjeksiyonu.
İGF	: İnsulin Benzeri Büyüme Faktörü.
İ.P.	: İntra Peritoneal.
IV	: İntravenöz.
IVF	: İn Vitro Fertilizasyon.
KOH	: Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon.
LH	: Luteinize Edici Hormon.
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Asit.
OHSS	: Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu.
PKO	: Polikistik Over Sendromu.
PMSG	: Gebe Kısırak Serum Gonadotropini.
Oİ	: Ovulasyon İndüksiyonu.
S.C.	: Cilt Altı.
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü.
VEGFR–2	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Reseptörü-2.
YÜT	: Yardımcı Üreme Teknikleri.

İÇİNDEKİLER

Teşekkür

Kısaltmalar

İçindekiler

Tablolar Dizini

Şekiller Dizini

Resimler Dizini

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. İnfertilite	5
2.1.1. Kontrollü ovaryan hiperstimülasyon	6
2.1.2. GnRH agonistleri ve antagonistleri	7
2.1.3. Gonadotropinler	9
2.1.4. Ovaryan hiperstimülasyon sendromu	10
2.2. Etiyoloji	11
2.3. Sistemik Semptomların Patogenezi	12
2.4. OHSS' yi Önleme	15
2.4.1. OHSS' nin primer olarak engellenmesi	18
2.4.2. OHSS' nin sekonder olarak engellenmesi	20
2.5. OHSS Tedavisi	23
2.5.1. Sıvı tedavisi	26
2.6. Parasentez	27
2.7. Medikal tedavi	27
2.7.1. Dopamin ve dopamin agonistleri	27
2.7.2. Doksisisiklin	28
3. MATERYAL VE METOD	30
3.1. Araştırmanın Yeri ve Ortam	30
3.2. Araştırma Tipi	30

3.3. Anestezi	30
3.4. Araştırma Grupları	31
3.5. Araştırma Parametreleri ve Yöntemi	33
3.5.1. Araştırma modeli	33
3.5.2. Histopatolojik inceleme	35
3.5.3. Sitokin ölçümleri	36
3.6. İstatistiksel Analiz	36
4. BULGULAR	38
5. TARTIşMA	45
6. SONUÇ	51
7. KAYNAKLAR	52
8. ÖZET	70
9. SUMMARY	72

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.	OHSS şiddetinin sınıflaması	15
Tablo 2.	OHSS gelişme riski yüksek olan hastaların özellikleri	17
Tablo 3.	Tüm grupların genel karakteristikleri.	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	OHSS' nin patogenezi.	12
Şekil 2.	Ovaryan hiperstimülasyon sendromunun yönetimi.	25
Şekil 3.	Relcovaptan® organik yapısı	29
Şekil 4.	Deney öncesi ve sonrası rat vücut ağırlıklarının karşılaştırılması.	40
Şekil 5.	Gruplar arasında toplam over ağırlıklarının karşılaştırılması.	40
Şekil 6.	Gruplar arasında periton VEGF düzeyi karşılaştırması.	42
Şekil 7.	Gruplar arasında korpus luteum sayılarının karşılaştırılması.	43
Şekil 8.	Gruplara göre atretik folikül sayılarının karşılaştırılması.	44

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	Diseksiyonun örnek görüntüsü.	35
----------	------------------------------------	----

1. GİRİŞ

Ovaryan hiperstimülasyon sendromu (OHSS) özellikle eksojen gonadotropinler kullanılarak oluşturulan ovulasyon indüksiyonunun iyatrojenik komplikasyonudur ¹⁻². Bu sendromun patofizyolojisi tam olarak anlaşılamamıştır. İnsan koryonik gonadotropini (hCG) etkisindeki overlerden salgılanan vazoaktif maddelerin tetiklediği artmış kapiller geçirgenliğin bu sendromun oluşumunda rol oynadığı düşünülmektedir³. Periferel arteriolar vazodilatasyon, artmış kapiller geçirgenlik ile birlikte proteinden zengin assit sıvısının ektravazasyonu OHSS' nin esas özellikleridir ⁴⁻⁵.

Semptomatik hastalarda artmış kapiller geçirgenlik vücut boşluklarına yoğun sıvı geçişine neden olur. Bu durum artmış hemokonsantrasyonla birlikte böbrek başta olmak üzere organ perfüzyon bozukluklarına neden olur. Kan pıhtılaşma sistemindeki değişiklikler tromboembolik olaylara, sıvının abdomen kavitesine sızması; batında gerginliğe, akciğerlere sızması ise respiratuar distress sendromuna neden olur ⁶⁻⁷.

Luteinize edici hormon (LH) benzeri etkilerinden dolayı hCG ovulasyon indüksiyonunda kullanılmaktadır. hCG' nin biyoaktivitesi ise, yarılanma ömrünün uzun olmasından ve genel reseptöre olan afinitesinden dolayı LH' ya göre altı kat fazladır ⁸.

Over (corpus luteum ve/veya antral foliküller) ve hCG, OHSS için gerekli olan mutlak faktörlerdir. Ooferektomi yapılan deneklere hCG uygulansa dahi OHSS gelişmemektedir. hCG' nin vazoaktif bir özelliği olmadığı için bu etkisini over tarafından salgılanan bir veya daha fazla vazoaktif madde aracılığıyla gerçekleştirir.

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)' nün overler tarafından sentezlendiği ve salgılandığı bilinmektedir ⁹⁻¹². VEGF, hCG bağımlı ovarian anjiogenezin en önemli mediatörüdür ¹³⁻¹⁶. hCG uygulaması sonrası, VEGF granuloza hücrelerinde mesajcı ribonükleik asit (mRNA) düzeyinde yükselmeye başlar ¹⁷⁻²¹ ve ardından serum, plazma, periton sıvılarında protein düzeyinde yükselir ²²⁻²⁴. VEGF sadece overde yeni kan damarlarının oluşumunu sağlamakla kalmaz ²⁵⁻²⁶ ayrıca VEGF reseptörü 2 (VEGRF-2) ile ²¹⁻²⁷ etkileşime girerek hiperpermeabiliteyi de oluşturur ²⁸⁻³⁰.

En çok suçlanan mediatör VEGF olsa da bu tam olarak anlaşılamamış meknizmada hCG, östradiol, progesteron, renin-anjiotensin sistemi, kinin kallikrein sistemi, prostaglandinler, sitokinler ve nitrik oksit' in de rol oynadığı düşünülmektedir ³. Bradikinin' in de enflamatuar reaksiyonda rol oynadığı, kapiller geçirgenliği artırdığı, ağrı algısı ve vazodilatasyona neden olduğu bilinmektedir. Bradikinin, kinin-kallikrein sisteminin temel metabolitidir. Kallikrein' in kininojenleri aktif kininlere dönüştürme görevi vardır. Ayrıca kinin oluşumundan bağımsız olarak vazodilatasyona da neden olur ³¹.

Arjinin vazopressin üriner miktarı ve bileşimi belirleyerek osmolaliteyi düzenler. Bu hormon özellikle hipotalamusun spesifik iki nukleusunda; supraoptik ve paraventriküler nukleuslarındaki nörosekretuar hücrelerinde üretilir. Bu nöronların aksonları posterior hipofizin (nörohipofiz) nöral lobunda sonlanır ve arginin vazopressin buradan salınır. Arginin vazopressin plazma tonisitesine (çok hassas stimulus) veya plazma volümündeki azalmaya (daha az hassas stimulus) cevap olarak salınır. Üç reseptör tipi; V1a, V1b ve V2 vardır ve bunlar büyük rhodopsin benzeri sınıf-A, G-proteini ile eşleşen reseptör ailesine aittir. V1 reseptörleri etkilerini fosfatidilinositol ve 1,2,-diaçilgliserol sinyalizasyon yolu ile gösterirler. V1a reseptörleri yaygın biçimde bulunsalar da esas olarak vasküler düz kaslarda bulunurlar. Bu reseptörlerin stimülasyonu ile vazokonstriksiyon ve kardiyak hipertrofi başta olmak üzere, çok çeşitli etkiler ortaya çıkar.

Vazopressin anjiyotensin II benzeri bir etki ile düz kas hücrelerinde VEGF mRNA ekspresyonunu artırır. Relcovaptan® (SR49059) güçlü ve doza bağımlı şekilde vazopressin tarafından stimüle edilen VEGF sekresyonunu baskılayan bir ajandır.

Arjinin vazopressin ise insan düz kas hücrelerinden VEGF üretimini artırır.

Relcovaptan®, arjinin vazopressin V1a reseptörleri için potent ve spesifik, oral olarak aktif olduğu gösterilmiş non-peptid bir antagonistdir. Optik olarak saf bir enantiomerdir. Vazopressin V1a reseptörleri genel olarak vasküler düz kas

hücreleri, hepatositler, plateletler, adrenokortikal ve uterus düz kas hücreleri üzerinde bulunmaktadır ³². Relcovaptan daha önce rat modelleri ve faz III çalışmalarında, intraserebral hemorajik beyin hasarlarında nörolojik sonuçları iyileştirmek, Raynaud fenomeninin tedavisi, dismenoreyi azaltmak ve preterm eylemi durdurmak için kullanılmıştır.

Bizim bu çalışmaki amacımız yukarıdaki bilgiler ışığında Relcovaptan' ı kullanarak VEGF salgılanmasını baskılamaktır. Böylece vasküler geçirgenliği azaltıcı etkisine bağlı olarak henüz kesin bir tedavi ve profilaksi yöntemi olmayan OHSS ile ilgili bir model oluşturarak, Relcovaptan®' ın OHSS bulguları, serum ve plazma VEGF düzeyleri ile folikül gelişimi üzerine etkilerini belirlemektir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. İnfertilite

İnfertilite genellikle bir yıllık korunmasız ilişkiye rağmen konsepsiyon olmaması olarak tanımlanır. Sağlıklı, genç çiftlerin yaklaşık %85-90'ı bir yıl içinde gebe kalır ³³. Bir menstrüel siklusta gebe kalabilme olasılığına *fekundabilite* (sağlıklı çiftlerde %20-25), bir siklusta canlı doğuma kadar gidebilecek gebelik oluşma olasılığına ise *fekundite* denir.

Gelişmiş ülkelere bakıldığında, son 30 yılda 15-44 yaşları arası kadınlarda fertilite oranı giderek azalmıştır. Kadınların giderek artan eğitim talepleri, geç evlilikler ve artan boşanmalar, ilerleyen kontrasepsiyon yöntemleri, giderek yayılan aile planlama servisleri, gebeliklerin ertelenmesi bu durumun nedenleri arasında sayılabilir ³⁴⁻³⁵.

İnfertilitenin esas nedenleri; ovaryan disfonksiyon (%20–40), tubal-peritoneal patoloji (%30–40) ve erkek faktörüdür (%30-40); uterin patoloji nadirdir, geri kalanı da açıklanamayan infertilitedir.

Kadın infertilitesinin tanımlanabilen faktörleri, ovulasyon bozuklukları (%25), endometriosis (%15), pelvik adezyonlar (%12), tubal blokaj (%11), diğer tubal anomaliler (%11), hiperprolaktinemi (%7) şeklinde sıralanabilir.

Ovulasyonu laboratuvar olarak kanıtlamak gerekli ise; 28 günlük siklusu olan bir kadında 21. gün progesteronu > 3 ng/ml olması; ovulasyonu büyük ölçüde desteklemektedir ³⁶. Ovulatuar disfonksiyonun tedavisi, anovulasyonun altta yatan nedenine göre yapılmalıdır. Her hastaya yönelik seçilecek tedavinin etkinliği, maliyeti, riskleri ve potansiyel komplikasyonları dikkatlice belirlenmelidir. Ovaryan yetmezlik nedenli olmayan oligoanovulasyon, ovulasyon indüksiyonu ile başarılı şekilde tedavi edilebilir ³⁷.

Yardımcı Üreme Teknikleri (YÜT) oositlere vücut dışında yapılan her tür manipölasyonu kapsamaktadır. Bunların ilki ve hala en yaygın olarak kullanılanı in vitro fertilizasyondur (IVF). IVF eksojen gonadotropinlerin kullanıldığı kontrollü ovaryan hiperstimülasyon ile başlayan bir dizi son derece koordine basamaktan oluşur.

2.1.1. Kontrollü ovaryan hiperstimülasyon

En ideal ovaryan hiperstimülasyon şekli; en az iptal oranı, en az ilaç gideri olan, riski ve yan etkileri az, çok sık monitörizasyon gerektirmeyen, genellikle tek gebelikle sonuçlanandır. Ne yazık ki günümüzde henüz böyle bir prosedür geliştirilememiştir. Günümüzde hiçbir stimülasyonun kullanılmadığı (doğal siklus), minimal stimülasyonlu (klomifen sitrat) veya orta stimülasyonlu (klomifen sitrat ve düşük doz eksojen gonadotropinlerin kademeli olarak kullanıldığı) prosedürlerden, agresif stimülasyonlara (yüksek doz eksojen gonadotropinler, tek başına veya gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) agonist

veya antagonisti ile kombine olarak) kadar çeşitli metodlar kullanılmaktadır. Stimülasyon prosedürleri bireyin yaşına, daha önceki stimülasyona verdiği cevaba ve ovaryan rezervine göre belirlenir.

2.1.2. GnRH agonistleri ve antagonistleri

GnRH amino asitleri, arasındaki hızlı çözülmeden dolayı kısa bir yarı ömre sahiptir. İki noktadaki amino asit dizilimleri değiştirilerek GnRH analogları sentezlenebilmektedir.

Başlangıçtaki agonist etkisi (“flare” etkisi) dolaşımdaki folikül stimüle edici hormon (FSH) ve LH seviyelerinin artmasıyla ilişkilidir. Bu etki foliküler fazda daha belirgindir.

1980’ lerin sonlarına doğru uzun etkili GnRH agonistleri, YÜT’ nde eksojen gonadotropin stimülasyonu sırasında endojen hipofiz gonadotropinlerini baskılamak ve böylece prematür LH yükselmesini engellemek için kullanılmaya başlamışlardır. GnRH agonistlerinin tedavi protokolüne katılmasıyla birlikte LH monitörizasyonunun gereği kalmamış ve daha önceden prematür luteinizasyon nedeniyle iptal edilen IVF sikluslarının yaklaşık %20’si artık iptal edilmemektedir³⁸⁻³⁹. GnRH agonisti kullanılan siklusların %2’ den az bir kısmında LH’ nın prematür yükselmesi olabilmektedir. Böyle durumlarda stimülasyona, foliküller daha matür ve daha büyük boyutlara gelene kadar devam edilmelidir.

GnRH agonisti tedavisinin tek dezavantajı; gonadotropin stimülasyonuna olan hassasiyeti köreltmesidir. Bu durum daha uzun süre, daha fazla dozlarda eksojen gonadotropin stimülasyonunu gerektirebilir.

Tipik bir siklusta, GnRH agonist tedavisi; midluteal fazda ovulasyondan yaklaşık bir hafta sonra, endojen gonadotropin düzeyleri en düşük seviyelerdeyken başlanmalıdır. Bu durumda “flare etkisi” olarak bilinen; agonist etkisine bağlı hipofiz bezindeki depo gonadotropinlerin akut olarak salınarak başka bir dalga foliküler büyümeye neden olma riski en az olacaktır ⁴⁰⁻⁴¹.

GnRH antagonistleri birden çok amino asitin yer değiştirilmesi ile elde edilirler. GnRH antagonistleri GnRH reseptörlerine bağlanırlar ve doğal GnRH etkisine kompetitif inhibisyon yaparlar. GnRH antagonistleri gonadotropin seviyelerinde ani bir düşüşe neden olurlar ve 24-72 saat içinde terapötik etki sağlarlar.

Antagonistlerin agonistlere göre birkaç avantajı vardır. Birincisi; etki süreleri daha kısadır. Amaç prematür endojen LH yükselmesini engellemek olduğundan erken etki mekanizmasına güvenerek antagonist tedavisi foliküler gelişimin sonrasına ertelenebilir (gonadotropin stimülasyonunun 5-7 gün sonrasına). Bu dönemde estradiol seviyeleri yüksektir, böylece agonist tedavisi alan kadınlarda olduğu gibi östrojen yoksunluk semptomları ortaya çıkmaz . İkincisi agonistlerin overdeki gonadotropin etkisini baskılayıcı rolü de olmadığından daha az miktarlarda eksojen gonadotropine ihtiyaç duyulur ⁴²⁻⁴³.

Üçüncüsü agonistlerin flare etkisinin tersine, antagonistler folliküler kistlerin gelişimini stimüle etmezler⁴⁴⁻⁴⁵.

GnRH antagonistlerinin ayrıca potansiyel dezavantajları vardır. Günlük düşük dozlarda uygulanmasına karar verildiğinde tedaviye tam planlandığı gibi uyulması şartı vardır. Antagonistler ayrıca agonistlere göre endojen gonadotropinleri çok daha etkin şekilde baskırlar. Aslında antagonist tedavisi başladığı zaman estradiol seviyeleri plato çizir veya düşer.

Şu anda kullanımda olan iki adet antagonist mevcuttur. Bunlar ganirelix ve cetrorelix' tir, her ikisi de aynı oranda etkilidir. Her ikisi de en düşük etkili doz olan günlük 0,25 mg ile prematür LH yükselmesini engeller. Buna alternatif olarak tek doz cetrorelix (3.0 mg) LH yükselmesini 96 saat boyunca engellemekte etkindir. Biz de çalışmamızda GnRH antagonistlerinin, OHSS engelleyici etkisinden yararlanarak⁴⁶ relcovaptan® tedavi grubu ile karşılaştırmayı planladık.

2.1.3. Gonadotropinler

Ovulasyon indüksiyonu için kullanılan eksojen gonadotropin preparatları üç farklı yoldan elde edilir. Bunlar; üriner, pürifiye ve rekombinant formülasyondur. Yaklaşık 30 yıl boyunca elimizdeki tek eksojen gonadotropin insan menapozal gonadotropiniydi (hMG, menotropinler). Bunlar eşit miktarda FSH ve LH ayrıca değişken fakat küçük miktarlarda hCG de içermektedir⁴⁷. Daha sonraları bu preparatlardan LH çıkarılarak daha saf FSH preparatları üretilmeye başlandı. Günümüzde ise genetik mühendisliği kullanılarak in vitro

rekombinant insan FSH' sı üretilebilmektedir. Rekombinant FSH' nin avantajları; üriner proteinleri içermemesi, daha tutarlı bir kaynak olması ve kişiden kişiye göre değişkenlik gösteren biyolojik aktivitenin bunlarda sabit olmasıdır.

LH ile yapısal ve biyolojik benzerliğinden dolayı hCG ovülasyon indüksiyonu için “LH surge” ün gerçekleştirilmesinde kullanılmaktadır ⁴⁸.

Rekombinant LH preparatları 2000 yılından beri Avrupada kullanımda olmakla birlikte henüz klinik kullanımları çok yaygın değildir.

2.1.4. Ovaryan hiperstimülasyon sendromu

Ovaryan hiperstimülasyon sendromu (OHSS) birden çok ovaryan kistlere bağlı olarak, overlerin genişlemesi ve bununla birlikte ekstrasvasküler alana olan akut sıvı geçişini içermektedir. Multifoliküler gelişimin sonucu; ovaryan kistlerdir. Şiddetli OHSS' nin bulguları aşırı büyük overlerle birlikte birden çok sayıda kist, ekstrasvasküler ortama sıvı geçişine bağlı hemokonsantrasyon ve üçüncü boşluğa sıvı birikimidir. Bu bulgular aynı zamanda böbrek yetmezliği, tromboembolik olaylar, akut respiratuar distress sendromu ve ölümle komplike olabilir ⁴⁹⁻⁵⁰.

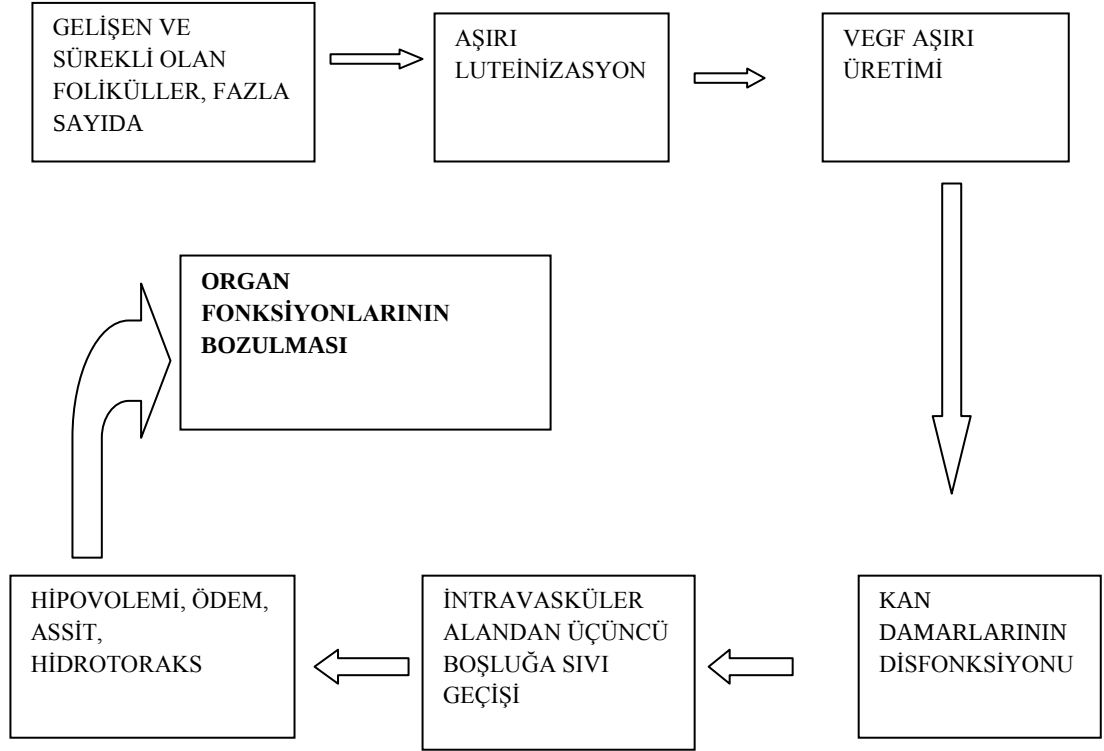
Spontan ovulatuar siklularda, hipotalamo-hipofiz-ovaryan aksın “feedback” mekanizmaları; erken antral foliküllerin gelişimini sınırlar. Tam gelişim genellikle siklus ortasındaki “LH surge” e bağlı ovule olan en büyük tek folikülle sınırlandırılır.

2.2. Etiyoloji

Eksojen gonadotropinler: Ovaryan hiperstimülasyon çok sayıda folikülün luteinizasyonundan sonra oluşur. Bu kadar yoğun luteinizasyon genellikle sadece hCG veya GnRH agonisti uygulanan eksojen gonadotropin sikluslarında meydana gelir. Klomifen sitrat alan hastalarda çok nadir meydana gelir. Klinik semptomlar genellikle ovulasyonun tetiklenmesinden (hCG ile) 5-10 gün sonra ortaya çıkar.

FSH reseptörü mutasyonları: OHSS'nin spontan formları nadir de olsa eksojen hormonal stimülasyon olmaksızın, izlenebilmektedir. Bu vakalar klinik olarak iyatrojenik OHSS'lere benzemektedir. Spontan OHSS, dolaşımdaki artmış endojen hCG veya TSH seviyelerine (granuloza hücreleri üzerindeki gonadotropin etkilerini taklit edebilir) bağlı gelişebilir. Bazı izole vakalarda ise FSH reseptörlerindeki endojen hormonlara karşı artmış hassasiyete bağlı OHSS gelişebilmektedir⁵¹⁻⁵⁴.

OHSS' nin patogenezinin şeması Şekil 1' de gösterilmiştir.



Şekil 1. OHSS' nin patogenezi.

2.3. Sistemik Semptomların Patogenezi

Artmış kapiller geçirgenliğe bağlı hipovolemi ve yoğun assit OHSS patogenezinin başlıca klinik olaylarıdır ⁵⁵. Hipovolemi sonucunda hemokonsantrasyon, azalmış santral venöz basıç, düşük kan basıncı ve taşikardi meydana gelir.

Vasküler endometriyal büyüme faktörünün (VEGF) rolü: OHSS, birden çok folikülün matürasyonu ve luteinizasyonu sırasında salınan bir ya da daha fazla vazoaktif maddenin aşırı miktarda üretimi ile tetiklenen artmış kapiller

geçirgenliğe bağlı oluşur. Foliküler kaynaklı VEGF tek başına olmasa bile OHSS gelişiminin en önemli nedenidir. Bu peptit yapıdaki ajanın iki rolü vardır: Neovaskulogenezin güçlü bir düzenleyicisidir ve kan damarı duvarlarındaki geçirgenliği artırabilir (kısmen nitrik oksit aracılığı ile) , böylece vasküler yatağın fonksiyonel bütünlüğünü bozar ⁵⁶⁻⁶⁰. Ayrıca VEGF sellüler aktin liflerdeki değişiklikleri kolaylaştırarak sıkı hücre bağlantılarını gevşetebilir. VEGF düzeyleri OHSS varlığı ve şiddetini belirler ⁵⁹.

Ovaryan hiperstimülasyon sendromunu fizyolojik süreçlerin abartılı hali olarak algılanabilir. OHSS' nin gerçekleşme basamakları şöyledir ⁶¹:

- Çok sayıda küçük antral folikülün seçimi,
- Büyük antral foliküllerin ovülasyona kadar sürekli gelişimi (veya luteinizasyonu),
- Gelişen büyük antral foliküllerden aşırı miktarda VEGF salınımı,
- Foliküller çevresinde aşırı neovaskülarizasyon ile birlikte bazı yeni kan damarlarında artmış vasküler geçirgenlik,
- Büyük miktarlarda VEGF içeren foliküler sıvı ve perifoliküler kanının peritoneal kaviteye sızması ile bunların yaygın şekilde vasküler yatak tarafından absorpsiyonu,
- Kan damarlarının fonksiyonel bozukluğu (sadece overde değil),
- İntravasküler aralıktan üçüncü boşluğa aşırı sıvı geçişi,
- Hipovolemi, eşlik eden ödem, asit, hidrotoraks ve/veya hidroperikardiyum,

- Kardiyak, renal, pulmoner ve karaciğer fonksiyon kaybı.

Diğer faktörler: İntraovaryan düzenleyicilerin OHSS patogeneğinde rol almasından dolayı sendromun ortaya çıkabilmesi için ovulasyonun (luteinizasyonun) olması gereklidir. Hiperstimüle overlerde üretilen ve yoğunlaşan ek faktörlerin OHSS' nin oluşumundaki ve progresyonundaki rolü ise gözardı edilmemelidir ⁶². İnterlökin-6 (IL-6), renin-anjiotensin sistemi ⁶³, kinin kallikrein sistemi ⁶⁴ ve selektinler (hücre adezyon molekülleri) ⁶⁵ de hiperstimülasyon sendromunun gelişiminde rol oynamaktadırlar.

OHSS şiddetinin sınıflaması Tablo 1' de gösterilmiştir.

Tablo 1. OHSS şiddetinin sınıflaması. ARDS: Yetişkin respiratuar distres sendromu.

Hafif OHSS Abdominal şişkinlik Hafif abdominal ağrı Over boyutu genellikle <8 cm
Orta düzeyde OHSS Orta düzeyde abdominal ağrı Bulantı ± kusma Ultrasonla saptanan assit Over boyutu genellikle 8-12 cm dir
Şiddetli OHSS Klinik olarak izlenebilen assit (nadiren hidrotoraks) Oligüri Hemokonsantrasyon (Hematokrit > %45) Hipoproteinemi Over boyutu genellikle >12 cm dir Komplikasyonları: • ARDS • Böbrek yetmezliği • Tromboembolik purpura

2.4. OHSS' yi Önleme

YÜT sonuçlarını etkilemeden OHSS' nin engellenmesi, kontrollü ovaryan hiperstimülasyon (KOH)' un en zorlu kısmıdır.

Risk faktörleri: 11.342 hastayı içeren büyük bir çalışma sonucunda orta şiddette OHSS olasılığı %3,4 iken, şiddetli OHSS olasılığı %0,8 olarak saptanmıştır ⁶⁶.

OHSS risk faktörlerinin bilinmesi oluşumunu engellemek açısından önemlidir. Önlenemese bile şiddetli hiperstimülasyon sıklığını azaltmak açısından önemlidir. Dikkate alınması gereken faktörler şunlardır:

- Genç yaş ve tanı,
- HCG uygulanmadan hemen önce ölçülen yüksek serum estradiol konsantrasyonları,
- Transvajinal ultrason bulguları (polikistik overlere sahip hastalar eksojen gonadotropinlere en abartılı cevabı vermektedirler) ⁶⁷.

OHSS gelişme riski yüksek olan hastaların özellikleri Tablo 2’ de gösterilmiştir.

Tablo 2. OHSS gelişme riski yüksek olan hastaların özellikleri.

OHSS gelişme riski yüksek olan hastaların özellikleri

1. Uygulama Öncesi

Genç yaş
Zayıf habitus
PKO (polikistik over sendromu)
PKOH (polikistik over sendromu hastalığı)
Alerji (immünaktivasyon)
Kan grubunun ' A ' olması

2. Uygulama sırasında veya sonrasında

Birden çok folikül (KOH' da >35, Oİ' da >6)
Yüksek serum estradiol' ü (KOH' da >4000 pg/ml, Oİ' da >1700)
Konsepsiyonlu sikluslar (Gebelik)
Luteal hCG desteği
Artmış serum/ foliküler VEGF düzeyleri

Oİ: Ovulasyon indüksiyonu,
KOH: Kontrollü ovaryan hiperstimülasyon,
PKO: Polikistik over sendromu.
PKOH: Polikistik over sendromu hastalığı.

Genç oligomenoreik anovulatuvar kadınlar (yani, polikistik over sendromlu hastalar) ovaryan hiperstimülasyon için en fazla riski taşımaktadırlar. Yaşın ilerlemesi ile birlikte OHSS riski azalsa da ⁶⁸, tromboembolik olayların görülme olasılığı artarken gebelik şansı da azalır. Folikül rezervinin ve belki de büyüme hormonu düzeyinin azalması daha yaşlı kadınlarda OHSS riskinin daha az olmasını açıklayabilir ⁶⁹.

Genetik: OHSS ile ilişkili hem spontan hem de iatrojenik mutasyonlar tanımlanmıştır. Bunların birçoğu FSH reseptörlerinde izlenir.

Tedavi protokollerinin rolü: OHSS' nin insidansı, şiddeti; FSH ve hCG dozu, tedavi şeması ile ilişkilidir. Bir derlemede, gonadotropin dozlarının; over boyutları ve assit, plevral efüzyonun şiddeti ile orantılı olduğu ortaya konmuştur. Bunun tam tersine daha önce en az bir kez hiperstimülasyon öyküsü olan 27 anovulatuvar hastanın almış olduğu tedavi dozları ile sendromun şiddeti arasında bir korelasyon izlenememiştir ⁷⁰.

Ovulasyonun tetiklenmesi: Modern takip yöntemleri (serum estradiol ve transvajinal ultrason) gonadotropin doz ayarlaması için önemlidir fakat bunlarla bile hiperstimülasyon tam olarak engellenemez. Ovulasyonun tetiklenmesi üç yöntemle olabilir: Eksojen hCG, GnRH agonistleri ve rekombinant LH.

2.4.1. OHSS' nin primer olarak engellenmesi

Primer engelleme hastalığın gelişimini durdurmak için yapılan müdahaledir. OHSS' den kaçınmak için epidemiyolojisini bilmek, risk faktörlerini tanımlamak ve doğru stratejiyi belirlemek gerekir.

KOH sırasında OHSS gelişme insidansı için literatürde çok farklı oranlar verilse de; bu oran %20' lere kadar çıkabilmektedir. Yapılan prospektif bir çalışmaya göre rastgele seçilen bir popülasyonda YÜT için yapılan kontrollü hiperstimülasyonların %12' sinde OHSS oluşurken, şiddetli OHSS insidansı %4 olarak izlenmiştir ⁷¹.

OHSS' nin iki klinik formu bulunmaktadır ve her ikisi de hCG ile ilişkilidir: Erken başlanıçlı formu (hCG uygulamasını takiben 8 gün içinde ortaya çıkar) ve geç başlanıçlı formu (hCG uygulamasını takiben 9 gün ve sonrasında ortaya çıkar, gebeliğe bağlı oluşan hCG' ye bağlıdır) ⁷².

Stimülasyon protokolü: OHSS oluşturmada yeteri kadar oosit toplanması zorlu bir süreçtir. Gonadotropinlerin başlangıç dozu bireysel olarak ayarlanmalıdır ⁷³ ve ayrıca IVF sonuçlarını kötüleştirmeden OHSS oluşumunu engellemek için dozun giderek azaltıldığı 'step-down' protokolü de kullanılabilir ⁷⁴.

GnRH agonistlerinin kullanımı daha yüksek OHSS insidansı ile ilişkilidir. Prospektif randomize çalışmalar GnRH antagonisti kullanılan hastalarda OHSS insidansının daha az olduğunu göstermiştir ⁷⁵⁻⁸⁰. Meta analiz sonuçları değerlendirildiği zaman Al-Inany ve Aboughar OHSS insidansı ile GnRH antagonistleri arasında önemli bir korelasyon bulamamışlardır ⁸¹. Ludwig ve arkadaşları ise Cetrorelix kullanımı ile OHSS insidansında ciddi bir azalma saptamışlardır ⁸². Al Inany ve arkadaşları da GnRH antagonist protokol kullanımı ile OHSS insidansında önemli bir azalma olduğunu göstermişlerdir ⁸³.

2.4.2. OHSS' nin sekonder olarak engellenmesi

Uygulama sırasında aşırı bir cevap tespit ettiğimiz zaman OHSS' den kaçınmak veya şiddetini en aza indirmek için önleyici metodlar kullanılmalıdır.

“Coasting”: “Coasting” estradiol seviyeleri güvenli aralığa ininceye kadar, GnRH agonist/antagonist uygulaması için tedaviyi askıya alma durumudur. Bu yaklaşımda luteinizasyon için gerekli olan granuloza hücre sayısı azalır ⁸⁴ ve OHSS riskini azaltırken büyük foliküllerin matürasyonu devam eder, küçük foliküller ise atreziye uğrar.

“Coasting” sonrası OHSS oluşsa bile şiddeti önemli ölçüde azalmış olur ⁸⁵. Ayrıca taze embryo transferine izin verir, cryopreservation, ek tedavi veya ilaç gerektirmez.

GnRH antagonistleri: GnRH antagonisti uygulaması estradiol seviyelerini ani biçimde düşürür ve böylece GnRH agonisti kullanılan bir siklusta OHSS' yi engelleyebilir ⁸⁶. “Coasting” ile GnRH antagonistine ek olarak 75 IU HMG uygulamasının karşılaştırıldığı hastalarda OHSS riski olan randomize prospektif bir çalışmada, hiçbir vakada OHSS gelişmemiştir. Ayrıca her iki grubun da gebelik sonuçları benzerdir ⁸⁷.

İntravenöz Albumin: İntravenöz albumin uygulaması (oosit toplaması sırasında ve hemen işlemin ardından) engelleme yöntemi olarak denenmiştir. Bunların birçoğu küçük çalışmalardır ^{88,89}. Bir meta-analizde, tedavi rejimleri

oosit toplanmasından bir veya iki saat önce 10-50 gr albumin verilmesi veya oosit toplandıktan hemen sonra 10-20 gr albumin verilmesi şeklinde değişmektedir ⁹⁰. Yapılan beş çalışmanın dört tanesinin sonuçları albuminin etkili olduğu yönündedir. Bu meta analiz sonucunda, otörler oosit toplanmadan önce uygulanan albumin tedavisinin yüksek riskli hastalarda şiddetli OHSS riskini azalttığı yönünde fikir birliğine varmışlardır. Bunun aksine 988 hastayı içeren ve randomize seçilen hastalara IV albumin uygulanan bir çalışmada ise albuminin bir faydası gösterilememiştir.

HES solüsyonu (Hidroksi Etil Nişasta): Albuminin aksine hastalık geçişi izlenmemesi bu solüsyonu maliyet ve güvenilirlik açısından avantajlı kılmaktadır. HES' in moleküler ağırlığı 200' den 1000 kDa' a kadardır, intravasküler ve onkotik basıncı etkili olarak artırır. HES' in serum yarı ömrü 10 saattir ve ayrıca platelet aggregasyonunu engeller. Bir prospektif çalışmada HES' in 100 yüksek riskli hastada (E2 seviyeleri >3000 pg/ml veya >20 oosit olan) etkileri araştırılmıştır.

Bu hastalara oosit toplanması sırasında 1000 ml ve 48 saat sonra 500 ml %6 HES verilmiştir. HES' le tedavi edilmemiş 82 yüksek riskli hastadan oluşan kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. HES kullanılanlarda hafif OHSS oranı daha düşüktür fakat şiddetli OHSS' de azalma görülmemiştir ⁹¹. OHSS' nin engellenmesinde HES' in etkileri iki prospektif, randomize, plasebo- kontrollü 350 hastayı içeren çalışmada intravenöz albumine benzer derecede faydalı olduğu gösterilmiştir ⁹².

Dopamin Agonistleri: Bir dopamin agonisti olan cabergoline' in kullanımı OHSS' nin engellenmesinde etkili bir yöntemdir. Cabergoline VEGF reseptörü-2' ye bağlanır ve kapiller geçirgenliği azaltır ⁹³. Yapılan son çalışmalarda cabergoline' in erken başlangıçlı OHSS insidansını azalttığı fakat geç başlangıçlı OHSS' de ise bir etkisinin olmadığı ortaya konmuştur ⁹⁴.

Tüm Embryoların Dondurulması (Cryopreservation): Bu önleyici uygulamanın amacı geç başlangıçlı OHSS riskini ortadan kaldırmaktır ⁹⁵.Teorik ve pratik olarak erken başlangıçlı OHSS riskini değiştirmez ⁹⁶. Bunun da ötesinde finansal ve emosyonel stresi de artırır. Bu stratejide uygun KOH protokolü uygulanır, oositler toplanır, fertilizasyon standart IVF veya ICSI (intra stoplazmik sperm enjeksiyonu) ile tamamlanır, daha sonra transfer yapılmaz ve tüm embryolar dondurulur. Sonrasında 'frozen-thawed' embryo replasmanı gerçekleştirilir.

Düşük doz aspirin: Güncel bir çalışmada OHSS için yüksek risk taşıyan, profilaksi olarak düşük doz (100 mg/gün) aspirin tedavisi alan ve almayan hastaların sonuçları karşılaştırılmıştır. Aspirin tedavisi alan grupta şiddetli OHSS oranı %0.25 iken almayan grupta bu oran %8.4 olarak bulunmuştur ⁹⁷.

Metformin: PKO olan hastalar olmayanlara göre daha fazla OHSS riski taşırlar. Metformin insulin seviyelerini baskılar, overin teka hücrelerinde androjen yapımını azaltır, ovulasyon ve gebelik oranlarını artırır ⁹⁸.

Cochrane meta-analizinde PKOS olan ve IVF veya ICSI sikluslarında metformin tedavisi alan hastalar değerlendirilmiştir. Beş çalışmayı kapsayan analizde otörler metformin tedavisinin IVF ve ICSI sikluslarında OHSS riskinde önemli bir azalma saptamışlardır (%5,7' ye karşılık %21,2) ⁹⁹.

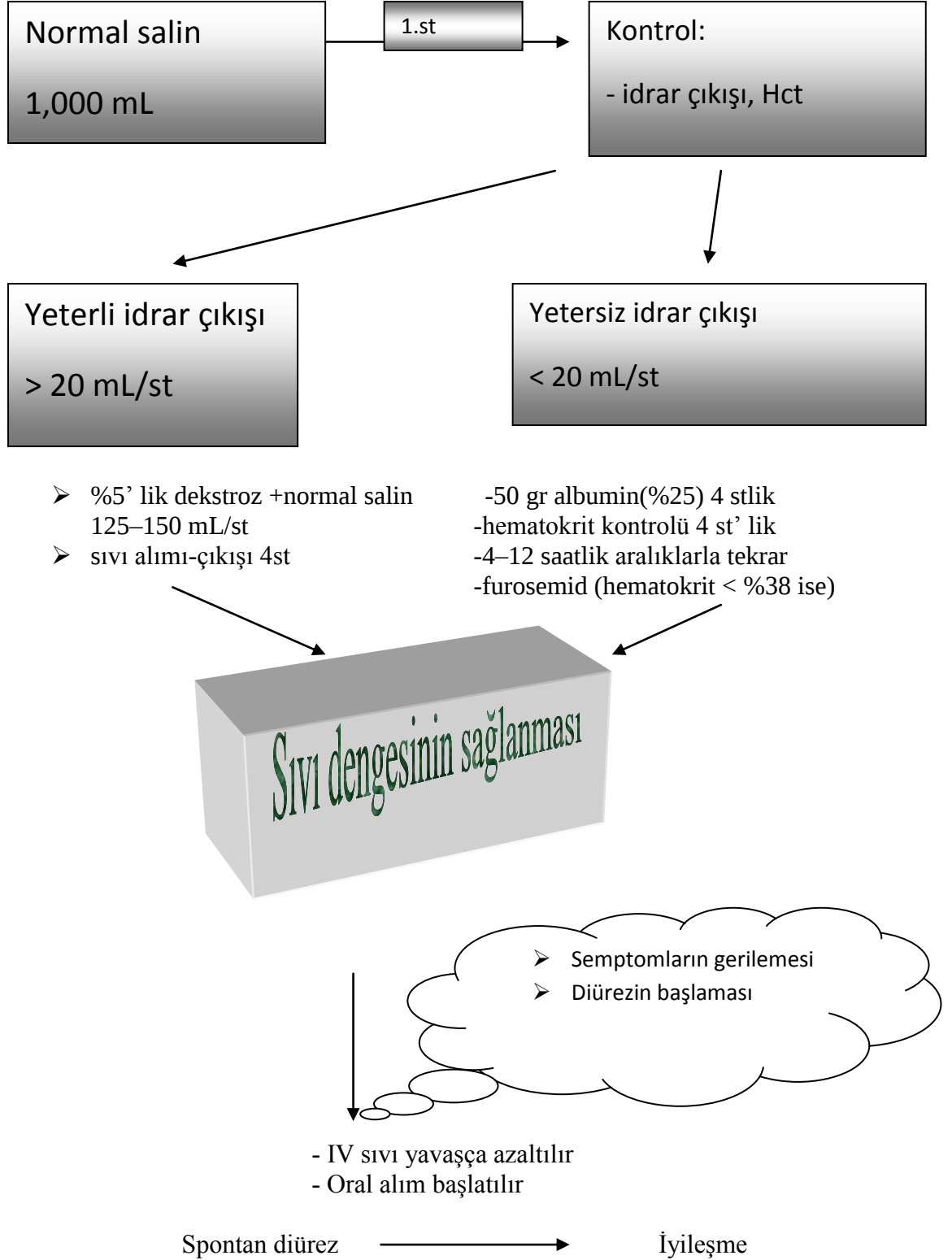
2.5. OHSS Tedavisi

OHSS patogenezi henüz tam net olarak bilinmiyor olsa da, kendiliğinden düzelen bir klinik tablo oluşu klinisyenleri rahatlatmaktadır. Morbidite uygun ve çok hızlı bir yaklaşımla engellendiği sürece hasta, semptomlarının başladığı günden 10 ile 14 gün sonra tamamen iyleşmiş duruma gelebilir. Klinik iyleşme hCG dozu yapıldıktan sonra, hCG seviyesinin azalması ile korele şekilde olur. Klinisyenlerin farkında olması gereken bir diğer konu da; OHSS gelişmeden önce inseminasyonun gerçekleşmesi veya hastaya embryo transferi yapılması durumunda; gebeliğin OHSS sürecini uzatıp tabloyu daha ağır hale getireceğidir.

OHSS semptom ve bulguları oluşmaya başladıktan sonra klinisyen ayaktan takip veya hospitalizasyonla tedavi arasında bir karar vermelidir. Ovaryan hiperstimülasyon protokolleri uygulanan hastaların büyük çoğunluğu Golan ve arkadaşlarının tarifleridiği evre I OHSS ² semptomları geliştirir. Hasta ağrı tariflemeye başlarsa veya bulantı, kusma, iştah azalması ve diyare gelişirse evre II OHSS tanısı koyulur. Kusma veya diyarenin hCG uygulamasını takiben 48 saat içinde ortaya çıkması genellikle şiddetli hastalığın habercisidir.

Evre II veya III OHSS semptomları olan hastalara mutlaka tam bir fiziksel ve pelvik muayene yapılmalıdır. Ayrıca sodyum, potasyum, kreatinin, hematokrit değerleri için kan testi ve asit varlığını ortaya koymak için abdominal ultrason yapılmalıdır. Bu parametreler evre II veya III hastalarda ayakta veya yatarak tedavi şeklini belirlememize yarar.

Ovaryan hiperstimülasyon sendromunun yönetimi Şekil 2' de gösterilmiştir.



Şekil 2. Ovaryan hiperstimülasyon sendromunun yönetimi. Hct: Hematokrit

2.5.1. Sıvı tedavisi

Şiddetli OHSS nedeniyle hospitalize edilen hastalar tipik olarak oral alımın kötü olması, üçüncü boşluğa sıvı geçişi, bulantı ve kusmaya bağlı hipovolemiktir. OHSS hastaları hiponatremiye eğilimlidir bu yüzden laktatlı ringer solüsyonu önerilmez. Hasta hipovolemik ise 1L salin solüsyonu bolus şeklinde 1saate intravenöz yolla (IV) verilmelidir. Hastanın sıvı replasmanı sonrası yeterli idrar çıkışı varsa (sıvı replasmanı sonrası bir saat içinde en az 50 ml) IV sıvı “idame” tedavisine başlanır. Normal salin solüsyonu içerisinde %5’ lik dekstroz 125–150 mL/st infüzyon şeklinde verilirken idrar çıkışı her 4 saate bir ölçülmelidir ¹⁰⁰. Hemakonsantrasyonu düzeltmek için verilen intravenöz sıvı desteği damar geçirgenliğinin artmasına bağlı olarak üçüncü boşluğa geçer. Fakat hipovolemi asit birikiminden daha acil bir durum oluşturabilir.

Başlangıçtaki IV bolus tedavisine yeterli yanıt alınamamış ise IV kristalloid replasmanı durdurulmalı ve düşük hacimli hiperosmolar IV tedaviye geçilmelidir. 200 ml %25’ lik albumin solüsyonu IV olarak 4 saatte (yani 50 mL/st IV, toplamda 50 gr albumin 4 saatlik aralıklarla) verilmelidir. İnfüzyondan bir saat sonra hematokrit seviyesi tekrar kontrol edilmelidir. Bu protokole hematokrit yüzdesi 36–38 olana kadar devam edilmelidir. Hiperozmotik ajanlarla yapılan bu tedavide amaç intravasküler onkotik basıncı artırarak üçüncü boşluktaki sıvıyı intravasküler alana çekmektir. Hematokrit %36–38 seviyesine geldiği zaman renal cevabı değerlendirmek için furosemid (20 mg IV) uygulanabilir.

2.6. Parasentez

Assitin bulunması OHSS' nin ayırt edici özelliğidir. Aslında assitin neden olduğu semptomlar hospitalizasyonun en sık nedenidir. OHSS tedavisinin amaçlarından bir tanesi hastalığın şiddetinin daha fazla ilerlememesidir. Assit sıvısının aspire edilmesi (parasentez) her hastada önerilmemektedir. Parasentezin güncel endikasyonları dispne, abdominal gerginlik, ağrı veya oligürinin semptomatik şikayetleri üzerine kurulmuştur. Navot ve arkadaşları ¹⁰¹ yaşamı tehdit eden ve medikal tedavi ile kontrol altına alınamayan OHSS' de en önemli tedavi şeklinin parasentez olduğunu savunmaktadırlar.

2.7. Medikal tedavi

2.7.1. Dopamin ve dopamin agonistleri

Dopamin şiddetli OHSS olan oligürik hastalarda kullanılmış ve renal fonksiyonlarda önemli düzeltilmeler olmuştur ^{102,103}. Dopamin renal etkisini; renal kan akımını ve glomerüler filtrasyonu artırarak gösterir. Bir dopamin reseptör 2 agonisti olan cabergoline, dopamine göre daha etkilidir ve daha iyi tolere edilir. Cabergoline' in uzun dönem kullanımı valvüler kalp hastalıkları ile ilişkili iken bir non-ergot derivesi, dopamin reseptör-2 agonisti olan quinagolide bu yan etkilere sahip değildir. Yapılan bir çift-kör randomize, çok merkezli çalışmada ¹⁰⁴ 200 µg/gün quinagolide kullanılan hastalarda orta/şiddetli OHSS frekansı azalmış, gebelik ve tedavi sonuçlarında ise kötüleşme olmamıştır.

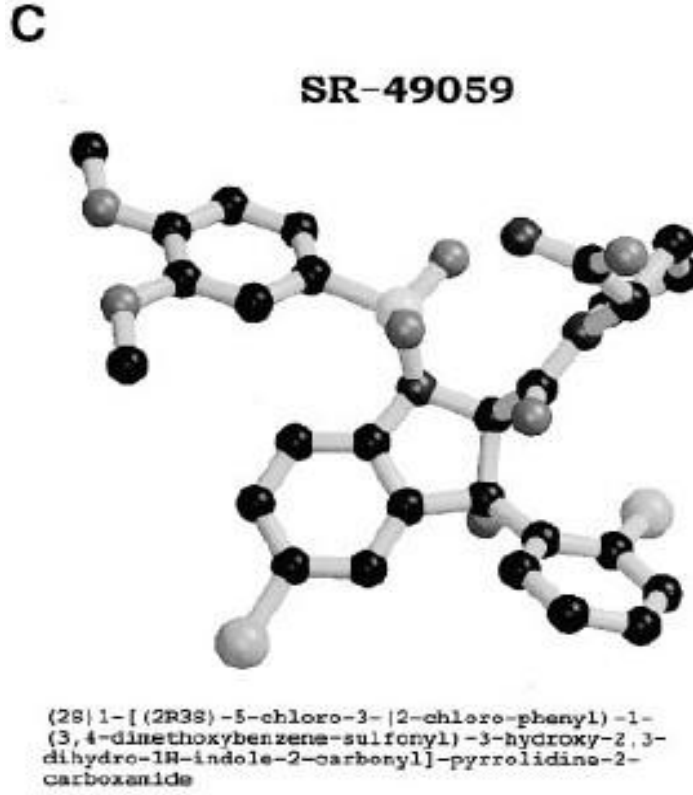
2.7.2. Doksisiklin

Doksisiklin bir tetrasiklin derivativesidir. İnsan çalışmalarında anjiogenezi inhibe ettiği gösterilmiştir ¹⁰⁵. Farinaru ve arkadaşları ¹⁰⁶ fareler üzerinde oral doksisiklinin VEGF-bağımlı vasküler permeabilityi, IL-2 bağımlı pulmoner ödem, gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonlarını ve tümör damar hiperpermeabilitesini engellediğini göstermişlerdir. Ayrıca doza bağımlı olarak fareler üzerinde OHSS modelinde doksisiklinin direk olarak hiperpermeabilityi inhibe ettiğini göstermişlerdir ¹⁰⁷. Doksisiklin gonadotropin bağımlı genel ödem formasyonunu, asit gelişimini ve periton damar geçirgenliğini direk olarak azaltır. Önemli olan doksisiklinin korpus luteumda anjiogenezi etkilemiyor olmasıdır. Doksisiklin potansiyel olarak insanlarda OHSS önleme ve tedavisinde kullanılabilir.

Relcovaptan® (SR49059)

Bir non-peptid arjinin vazopressin reseptör antagonisti olan SR49059 kompetitif inhibisyonla ikincil ileti formasyonu ve kalsiyum mobilizasyonunu engeller böylece oksitosinle vazopressin' in etkilerini baskılar. Bu özellikleri ile SR49059, aynı zamanda preterm eylemin engellenmesinde potansiyel bir ajandır. Bu ajanla ilgili hayvanlar üzerinde herhangi bir anomali izlenmemiştir. SR49059 orta düzeylerde plasentayı geçer. SR49059, arginin-vazopressin V1a reseptörleri üzerine antagonist etki yaparak OHSS fizyopatolojisinde en fazla suçlanan ajan

olan VEGF' nin salgılanmasını azaltır. Relcovaptan' ın organik yapısı Şekil-3' 'te gösterilmiştir.



Şekil 3. Relcovaptan®'ın organik yapısı.

3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Araştırmanın Yeri ve Ortam

Bu çalışma, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi hayvan deneyleri laboratuvarında ağırlıkları 25-50 gr arasında değişen, 22 günlük immatür 30 adet wistar-albino dişi rat üzerinde yapıldı. Hayvanlar Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi hayvan deneyleri laboratuvarında üretildi, 22°C sabit sıcaklıkta, 12 saat gündüz, 12 saat gece ortamında tutularak ve standart rat yemi verilerek deneye hazırlandı.

3.2. Araştırma Tipi

Deneyssel müdahale; deneyssel çalışma protokolü Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneyssel Araştırma Kurulu tarafından, etik ve bilimsel yönden onaylandıktan sonra, National Institute of Health “Guide for the care and Use of Laboratory Animals” kurallarına uygun olarak gerçekleştirildi. Deneyde kullanılan ratlar, Gazi Üniversitesi Araştırma Merkezine bağlı hayvan laboratuvarından temin edildi (Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu G.Ü.E.T. -09.084 projesi).

3.3. Anestezi

Bütün hayvanların anestezisi 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar; Eczacıbaşı Warner-Lambert ilaç sanayi, Levent-İstanbul) ve 7 mg/kg xylazine

hidroklorit' in (Rompun-Bayer Şişli-İstanbul) aseptik şartlarda intraperitoneal verilmesi ile sağlandı.

Relcovaptan

Tocris biosciences (USA-UK) firmasının Türkiye distribütörü tarafından sadece hayvan deneylerinde kullanılmak üzere 10 mg' lık ambalajında yasal izinle ithal edilmiştir.

GnRH Antagonisti

Cetrotide® 0.25 mg (cetorelix acetate) flakon.

PMSG

Folligon ® 1000 IU flakon (Intervet firması-gebe kısarak serum gonadotropini) .

HCG

Chorulon® 1500 IU flakon (Intervet International Baxmeer Hollanda firması- Liyofilize Koryonik Gonadotropin).

3.4. Araştırma Grupları

Deneyisel çalışma, daha önce T.C. Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı' nda yapılan

“OVARIAN HİPERSTİMULASYON SENDROMUNUN ÖNLENMESİNDE RAT MODELİNDE CABERGOLİN VE MELOKSİKAMIN ETKİNLİKLERİ’ NİN KARŞILAŞTIRILMASI” konulu bir tez çalışmasında tarif edilen hayvan modeline uygun olarak planlandı. Ratlara 22-25. günler arasında verilen gonadotropinler (PMSG) ile ovariyan hiperstimülasyon oluşturuldu. Gonadotropinlerden 24 saat sonra, 26. günde, ovulasyonu tetiklemek için hCG uygulandı ve hCG uygulamasından 48 saat sonra laparotomi uygulandı.

Grup I: GnRH antagonist grubu

22-25. günler arasında 10 IU/gün PMSG (pregnant mare serum gonadotropin -gebe kısırak serum gonadotropini-) ile ovulasyon indüksiyonu, OHSS oluşturmak için 26. gün 30 IU hCG, 26 ve 27. gün 50 mcg/kg/gün GnRH antagonisti 8 am, 4 pm de,

Grup II: Yüksek doz Relcovaptan® grubu.

22-25. günler arasında 10 IU/gün PMSG (pregnant mare serum gonadotropin -gebe kısırak serum gonadotropini) ile ovulasyon indüksiyonu, OHSS oluşturmak için 26. gün 30 IU hCG, 26 ve 27. gün i.p. 0,3 mg günde 2 kez Relcovaptan uygulandı.

Grup III: Düşük doz Relcovaptan® grubu.

22-25. günler arasında 10 IU/gün PMSG (pregnant mare serum gonadotropin -gebe kısırak serum gonadotropini) ile ovulasyon indüksiyonu, OHSS oluşturmak için 26. gün 30 IU hCG, 26 ve 27. gün i.p. 0,15 mg günde 2 kez Relcovaptan uygulandı.

Grup IV: Standart şiddetli OHSS grubu

22-25. günler arasında 10 IU/gün PMSG (pregnant mare serum gonadotropin -gebe kısırak serum gonadotropini) ile ovulasyon indüksiyonu, OHSS oluşturmak için 26. gün 30 IU hCG uygulandı.

Grup V: Kontrol grubu

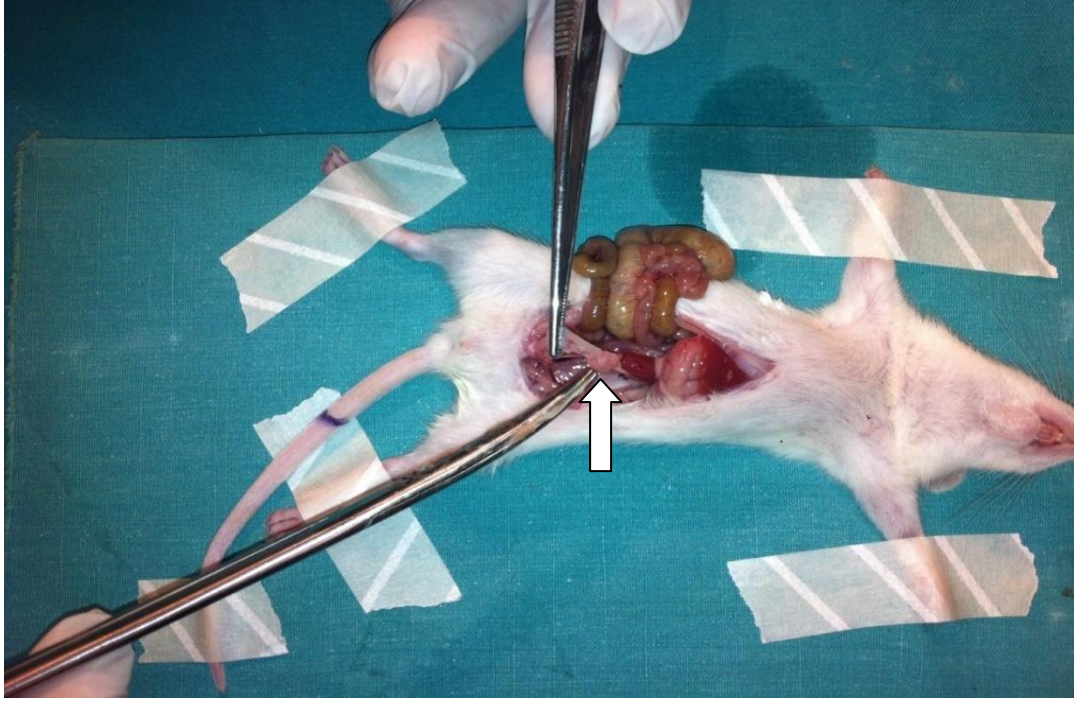
22-26. günler arasında 0,1 cc i.p. saline infüzyonu.

3.5. Araştırma Parametreleri ve Yöntemi

3.5.1. Araştırma modeli

Deney 22 günlük immatür ratlarla yapıldı. Deney grubu ratlarda OHSS modeli oluşturmak için, kontrol grubu dışında tüm ratlara 22-25. günlerde 10 I.U. PMSG (Folligon®-Intervet) subkutanöz (s.c.) olarak verildi. 26. günde ovulasyonu tetiklemek için 30 I.U. hCG verildi. Kontrol grubuna ise 22-26. günler arasında 0,1 cc i.p. saline verildi. Tüm ratların ağırlıkları çalışmaya

başlamadan önce, hCG günü hCG verilmeden önce ve hCG verildikten 48 saat sonra ölçölüp kaydedildi. Tedavi grubu olan grup I' deki ratlara 26 ve 27. günlerde 08.00 ve 16.00' da 50 mcg/kg/gün GnRH-ant (GnRH antagonisti) yapılırken, grup II-III' deki ratlara 26 ve 27. günlerde ikişer doz sırasıyla 5–10 mg/kg i.p relcovaptan yapıldı. Hayvanları hipotermiden korumak için işlemler 22–26 °C oda sıcaklığında yapıldı. HCG uygulamasından 48 saat sonra tüm ratlara anestezi altında laparotomi uygulandı. Damar ve doku hasarı oluşturmada, peritoneal kaviteye 5 cc %0,9 NaCL verilir, 30 dakika beklendikten sonra vasküler katater yardımı ile periton yıkama sıvısı dikkatli şekilde geri alındı. Peritoneal sıvı 0.05 ml 0,1 N NaOH içeren tüplere konuldu. Sonrasında hayvanlardan intrakardiyak kan alınarak hayvanlara sakrifikasyon uygulandı. Tüm bu işlem boyunca ratların solunumu ve kalp tepe atımları takip edildi. İşlem sırasında hiçbir hayvan exitus olmadığından hiçbir rat çalışma dışında bırakılmadı. Son olarak tüm ratların bilateral overleri çıkarılarak hassas tartıda tartıldı.



Resim 1. Diseksiyonun örnek görüntüsü. Beyaz ok hiperstimüle olmuş rat overini gösteriyor.

3.5.2. Histopatolojik inceleme

Her ratın overleri ayrı ayrı formaldehit içeren kaplara alındı.

Dokular % 10 tamponlu formalinde tesbit edilip, rutin doku takip işlemlerinden geçirilerek parafin ile bloklandı. Parafinli bloklardan mikrotom ile 4–5µm’ lik kesitler alınıp deparafinize edildi. Hemotoksilen-Eozin boyası ile boyanarak ışık mikroskopu altında antral folikül, corpus luteum ve atretik foliküller sayılarak değerlendirildi.

3.5.3. Sitokin ölçümleri

Toplanan peritoneal sıvı ve serumda Raybiotech®,Inc (Norcross, GA, USA) ELISA kiti kullanılarak kantitatif olarak VEGF ölçümü yapıldı.

Serum VEGF düzeyi sonuçları muhtemelen serumların hemorajik olması nedeniyle net olarak belirlenememiştir ve çalışmadan çıkarılmıştır.

VEGF, VEGF-A olarak da adlandırılır, takibinde VEGF ile ilgili çeşitli faktörler (VEGF-B, VEGF-C, VEGF-E) belirlenir. Bu testte rat VEGF kaplamalı ‘plate’ için özel bir antikor kullanır. Standartlar ve örnekler kuyucuklara pipetlenir ve örnekleri mevcut VEGF immobilize antikor tarafından kuyucuklara bağlanır. Kuyucuklar yıkanır ve biotinlenmiş anti-rat VEGF antikor eklenir. Bağlanmamış, biotinlenmiş antikor yıkanarak uzaklaştırılır. HRP-konjuge streptavidin kuyucuklara pipetlenir. Kuyucuklar tekrar yıkanır, TMB substrat çözeltisi kuyucuklara eklenir, VEGF miktarı ile orantılı olarak renk gelişimi görülür. Renk 450 nm dalga boyunda ölçülür. VEGF’ nin minimum tespit edilebilir dozu genellikle en az 2 pg/ml’ dir. Tekrarlanılabilirlik: Intra-Assay: CV<%10, Inter-Assay CV<%12.

3.6. İstatistiksel Analiz

Araştırma bulgularının istatistiksel analizi “SPSS for windows 15,0” programı ile yapıldı. Normal dağılımlı (Shapiro-Wilk testi ile belirlendi) parametrik değişkenler ANOVA (varyans analiz) testi ile, post hoc analizi ise

LSD testi kullanılarak yapıldı. Non normal dağılım gösteren değişkenler için Kruskal-Wallis ve Mann- Whitney U testi testleri kullanıldı. $p<0.05$ anlamlı olarak kabul edildi. Tüm veriler ortalama $\pm$ SD ($\pm$ Standart Deviasyon) şeklinde bildirildi.

4. BULGULAR

Ratların ilk vücut ağırlıkları ile karşılaştırmak üzere deney sonu hayvanlar tekrar tartılmıştır. Çalışma sonu periton sıvı örneklerinden ölçülen VEGF düzeyleri gruplar arasında karşılaştırılmıştır. Aynı zamanda over dokuları hemotoksilen-eozin boyama sonuçlarına göre atretik foliküller, antral foliküller ve korpus luteumlar sayılarak değerlendirilmiştir.

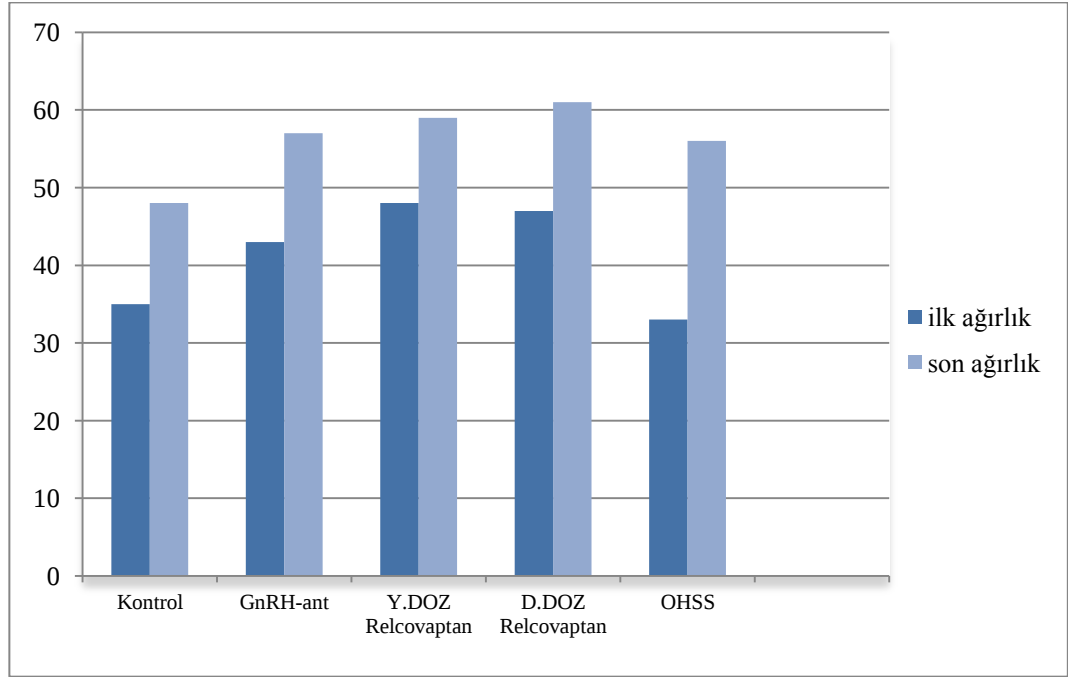
Tüm grupların genel karakteristikleri Tablo 3' de gösterilmiştir.

Deney sonucunda ortalama vücut ağırlıkları farkı gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). OHSS grubuna göre GnRH antagonisti ve relcovaptan verilen gruplardaki ağırlık artışı daha az, kontrol grubuna yakın değerlerde olmuştur.

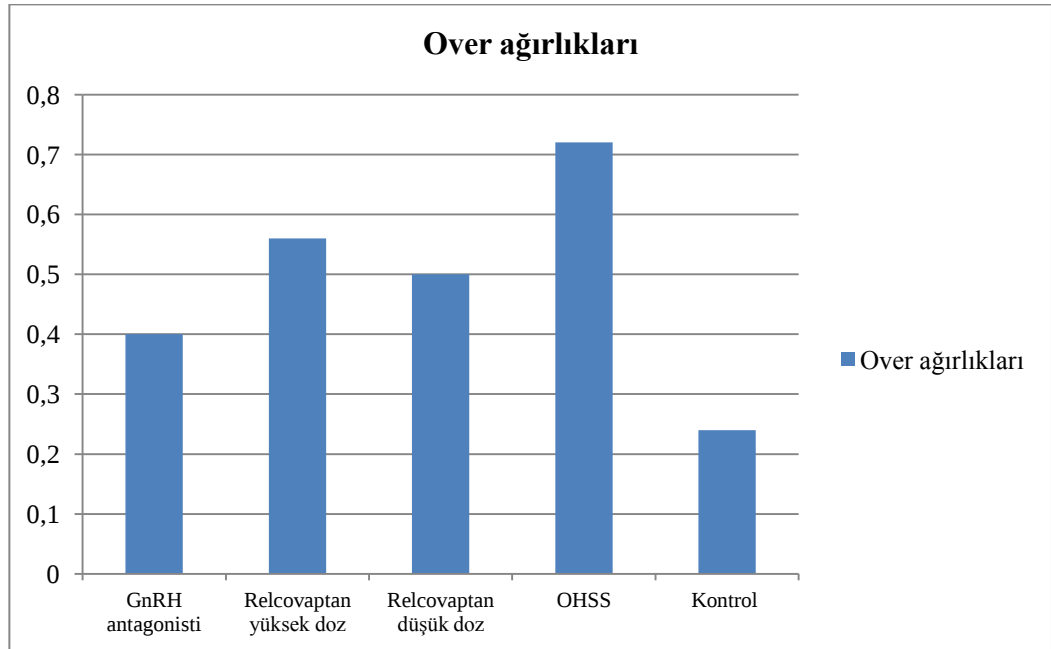
Vücut ilk ve son ağırlıklarındaki değişim, gruplar arasındaki farklılık Tablo 3 ve Şekil 4' te gösterilmiştir.

Tablo 3. Tüm grupların genel karakteristikleri.

Değişkenler	Grup1 (GnRHanta)	Grup2 (Yüksek doz relcovaptan)	Grup3 (Düşük doz relcovaptan)	Grup4 (OHSS)	Grup5 (Kontrol)	P değeri
Deney başındaki vücut ağırlıkları (gram)	43,5±8,8	48,4±11,1	47,4±5,7	33,9±4,1	35,5±2,7	P<0,01
Deney sonu vücut ağırlıkları (gram)	57,1±13	59,3±9,9	56,7±13,2	61±8,2	48,7±7,3	P<0,05
Over ağırlıkları(gram)	0,4±0,03	0,56±0,09	0,5±0,17	0,72±0,1 3	0,24±0,0 7	P<0,05
Periton sıvısı VEGF düzeyleri(pg/ml)	5,5±2,2	5,3±2,6	6,0±2,8	20,9±10, 9	3,5±1,3	P<0,01
Antral folikül sayısı	1±0,1	-	2±05	1±0,5	1±0,05	P<0,01
Korpus luteum Sayıları	29,6±15	31,1±11,5	19,5±11,9	39,0±14, 2	-	P<0,01
Atretik folikül sayıları	2,3±1,2	1,8±0,75	1,1±1,4	0,66±0,5	2,1±1,1	P<0,05



Şekil 4. Deney öncesi ve sonrası rat vücut ağırlıklarının karşılaştırılması.



Şekil 5. Gruplar arasında toplam over ağırlıklarının karşılaştırılması.

Ortalama over ağırlıkları bakımından tüm gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,01$). GnRH antagonisti grubu toplam over ağırlığı $0,4\pm0,03$ ($p<0,05$) tür. Relcovaptan yüksek ve düşük doz uygulanan ratların toplam over ağırlıkları (sırasıyla; $0,56\pm0,09$ ve $0,5\pm0,17$) , OHSS ($0,72\pm0,13$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düşük ($p<0,04$ ve $p<0,03$) bulunmuştur.

Rat over ağırlıkları şekil 5’ te gösterilmiştir.

GnRH grubu ile Relcovaptan grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

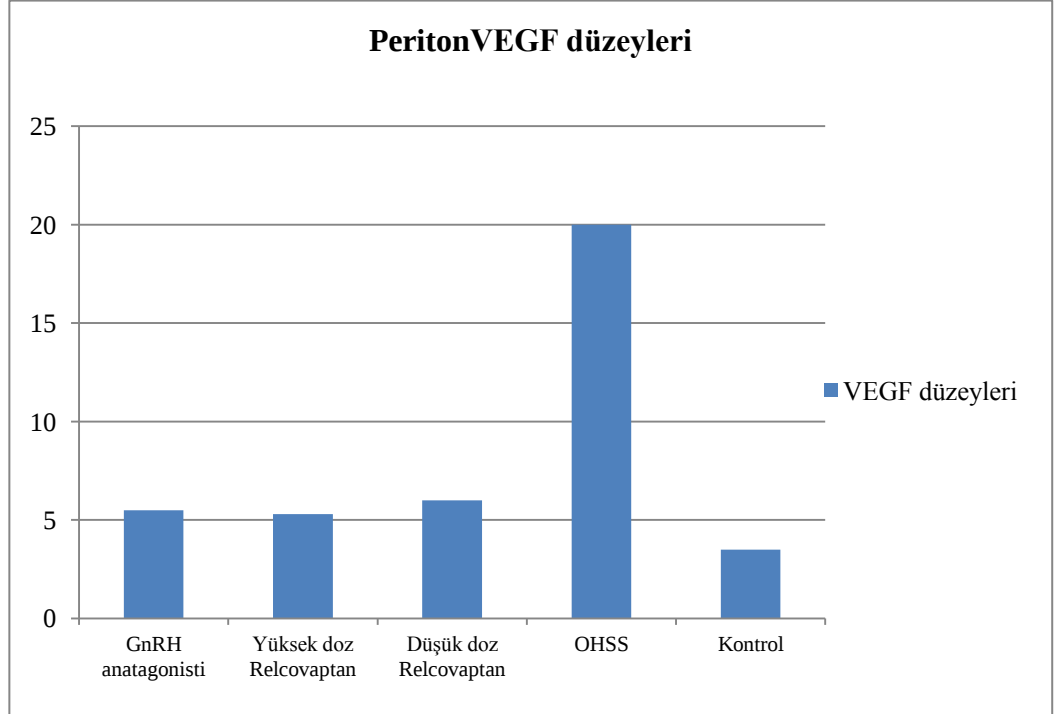
Periton sıvısı VEGF düzeyleri gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklı bulundu ($p<0,01$). GnRH, Relcovaptan yüksek doz, düşük doz grupları arasında periton sıvısı değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, OHSS grubu ile bu üç tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı yüksek, önemli bir fark olduğu gösterilmiştir ($p<0,005$). Tedavi grupları ile karşılaştırıldığı zaman kontrol grubunun VEGF düzeyleri daha düşüktür, fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Grupların karşılaştırmalı periton sıvısı VEGF düzeyleri Şekil 6’ da gösterilmiştir.

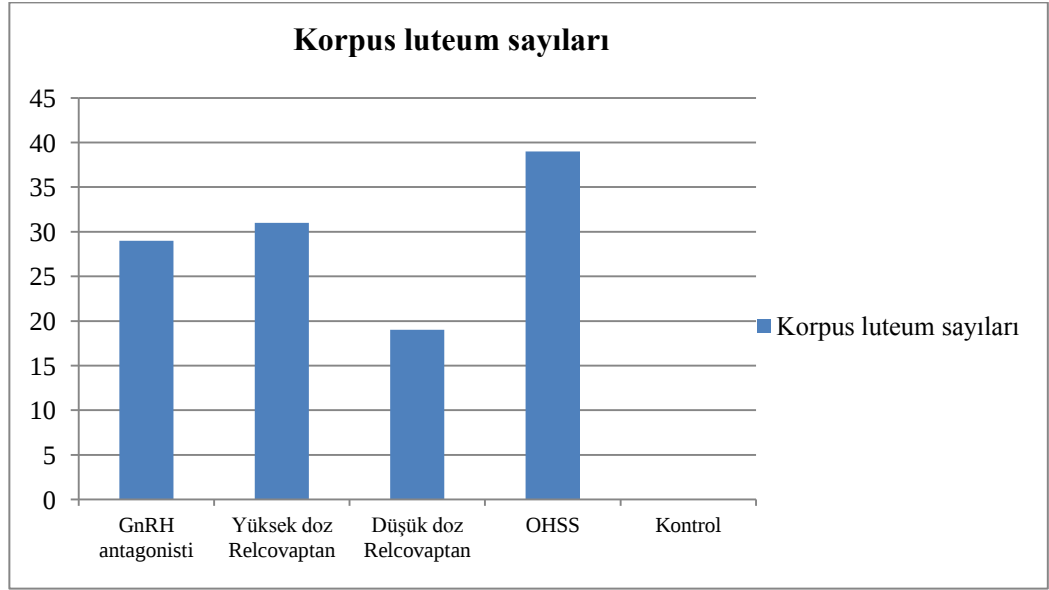
Histopatolojik değerlendirmede ise tüm gruplarda çok az miktarda antral follikül izlendi bu yüzden gruplar arasında bir değerlendirme yapılamadı.

Her üç tedavi grubunda (Grup 1, 2, 3) korpus luteum sayıları OHSS grubuna (Grup 4) göre belirgin oranda azalmıştır. GnRH grubu ile yüksek doz Relcovaptan grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, düşük doz Relcovaptan grubu sonuçları bu iki tedavi grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük ($p<0,05$) bulunmuştur.

Kontrol grubunda ise hiçbir rat overinde korpus luteum izlenmemiştir. Bu sonucu ratların immatür olması ve henüz hiç ovüle olmamaları şeklinde değerlendirilmiştir.



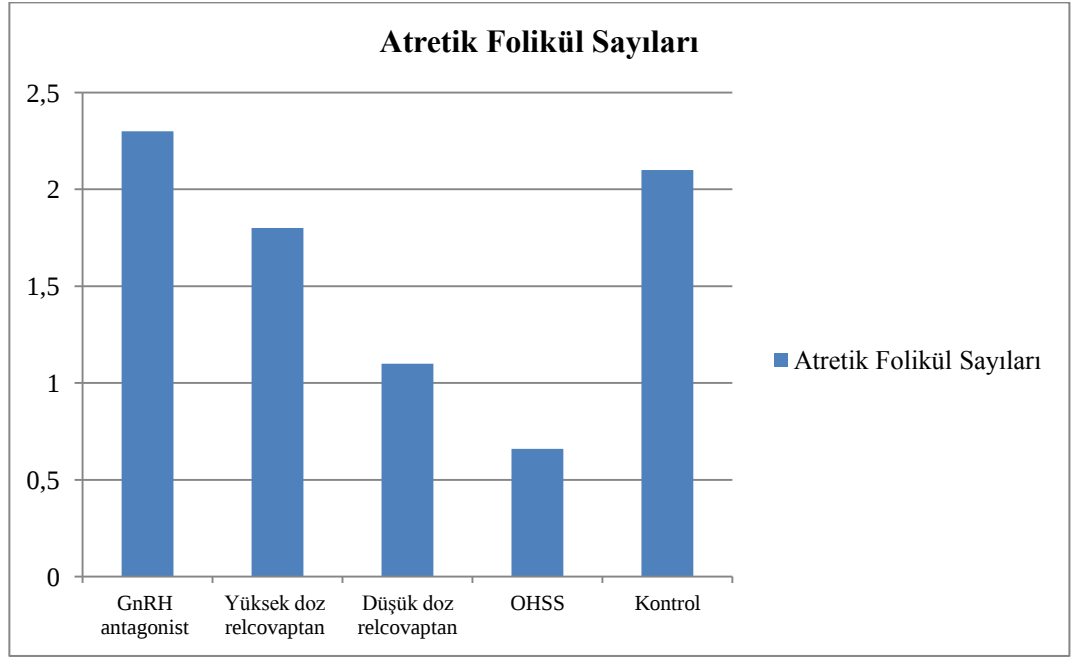
Şekil 6. Gruplar arasında periton VEGF düzeyi karşılaştırması.



Şekil 7. Gruplar arasında korpus luteum sayılarının karşılaştırılması.

Atretik folikül sayıları, GnRH grubunda en yüksek ($2,3 \pm 1,2$) olmak üzere; yüksek doz Relcovaptan grubunda ($1,8 \pm 0,75$), düşük doz Relcovaptan grubuna ($1,1 \pm 1,4$) göre daha yüksektir. OHSS grubunda ise atretik folikül sayısı ($0,66 \pm 0,5$) istatistiksel anlamlı ($p < 0,05$) olarak tedavi gruplarından daha düşüktür. Kontrol grubu sonuçları ise GnRH grubuna benzerdir ($2,1 \pm 1,1$).

Korpus luteum sayılarının gruplara göre karşılaştırılması Şekil 7' de ve atretik folikül sayılarının gruplara göre karşılaştırılması Şekil 8' de gösterilmiştir.



Şekil 8. Gruplara göre atretik folikül sayılarının karşılaştırılması.

5. TARTIŞMA

Deneysel çalışmamızda, OHSS oluşturulan ratlarda Relcovaptan ve GnRH antagonistinin peritoneal sıvı ve serumdaki VEGF düzeyleri ile vücut ağırlıkları, overler üzerindeki etkisini saptamayı ve bu etkileri karşılaştırmayı amaçladık.

OHSS' nin fizyopatolojisinde rol oynayan sitokinlerden en çok bilineni ve en çok suçlananı VEGF' dir. Fakat direk olarak VEGF inhibitörü verilmesi OHSS' nin engellenmesinde başarılı olduysa da anjiogenezi kötü etkiledikleri ve implantasyonu bozdukları için klinik kullanıma hiçbir zaman geçememişlerdir. Bu amaçla en sık kullanılan konvansiyonel medikal tedavi, GnRH antagonistleridir. Fakat GnRH antagonistleri OHSS' nin önlenmesinde istenilen başarıya hiçbir zaman ulaşamamışlardır. Yeni bir ilaç geliştirilirken birincil amaç OHSS gelişimini engellemek olsa da geliştirilen ilaç infertilite tedavisini aksatmayacak şekilde etki etmelidir. Bu olguya göre yeni geliştirilen tedavi mekanizması OHSS' yi engellerken folikülogenez, implantasyon ve embriyo gelişimini etkilememelidir.

Bu konuda tam bir konsensus sağlanamamış olsa da GnRH agonistleri; antagonistlere göre daha az etkindir. Dolayısıyla son zamanlarda maliyeti ve etkinliği üzerinde daha verimli, genel popülasyonda rutinde kullanılabilecek yeni ajanlar bulmaya yönelik çalışmalar ağırlık kazanmıştır. Doksisiklin, VEGF antagonistleri, dopamin agonistleri ve aktive protein C araştırılan yeni ajanlar arasında dikkati çekmektedir.

Literatürde de görüldüğü gibi ratlar OHSS modeli oluşturmak için uygun hayvanlardır. İmmatür ratların seçilmesinin nedeni ise matür ratların sikluslarının kısa olması (yaklaşık 3–5 gün) ve hiperstimülasyon oluşturmak için yeterli zamanın olmayışıdır. Bu yüzden literatürdeki tüm çalışmalarda immatür ratlar kullanılmıştır. Oluşturulan modellerde hem OHSS' nin patofizyolojisi hem de yeni tedavi ajanlarının etkinliği değerlendirilebilmektedir.

Vazopressin' in biyolojik etkilerini, vazopressin reseptörünün alt tipleri olan V1a (vasküler) , V1b (V3, hipofiz), V2 (renal) ve oksitosin reseptörleri üzerinden gösterir. V1a reseptörü vasküler düz kas hücrelerinde, kardiyomiyositler, hepatositler ve plateletlerde bulunur. Bu reseptörler vazokonstriksiyon, vasküler düz kas hücresi proliferasyonu, glikojen metabolizması, platelet agregasyonu, pozitif inotropi, hipertansiyon ve koroner vazospazm gibi etkileri uyarırlar¹⁰⁸.

Vazopressin güçlü bir şekilde zaman ve konsantrasyon bağımlı olarak insan vasküler düz kas hücrelerinden VEGF sekresyonunu artırır. Vazopressin' in indüklediği, proliferen olan vasküler düz kas hücrelerinden salınan VEGF vasküler geçirgenlik üzerinde güçlü bir etkiye sahiptir. Bu etkiler özellikle vazopressin V1a antagonistleri tarafından inhibe edilir. VEGF bilinen en güçlü vasküler geçirgenlik-artırıcı faktördür ve histaminden yaklaşık 50.000 kat daha etkindir.

VEGF birçok dokuda olduğu gibi overlerden de üretilir ve salınır. Bu etki gonadotropinlerin granuloza-lutein hücrelerinde VEGF ekspresyonunu

artırmasıyla sağlanır. Gomez ve arkadaşları tarafından 2003 yılında yayınlanan bir çalışmada OHSS modeli oluşturulan hayvanlarda vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü-2' nin (VEGFR-2) aşırı sentezinin OHSS mekanizmasında rol aldığı belirtilmektedir. VEGF sekresyonunun hCG uygulaması öncesi başladığı ve ovulasyon olmadan foliküllerde belirdiği bilinmektedir. HCG ise VEGF ve vasküler geçirgenlik üzerinde en şiddetli etkiyi yapan ajandır.

Relcovaptan® (SR49059) güçlü ve doza bağımlı şekilde vazopressin tarafından stimüle edilen VEGF sekresyonunu baskılar. Daha önce OHSS modellerinde deney aşamasında olan bir ilaç ile tedavi etkinliği kanıtlanmış, klinik kullanımı olan bir ilacı karşılaştıran herhangi bir çalışma olmadığından çalışmamız bu konuda bir ilktir.

Çalışmaya daha fazla parametre katılarak ve hayvanların gebe bırakılması denenerek implantasyon ile embryogeneze etkileri araştırılabilir. Böylece bu ilaç farklı alanlarda kullanıma girerken OHSS' nin engellenmesi amacıyla da kullanılabilir. Ayrıca VEGF -mRNA düzeyinde çalışarak veya femoral venden Evans mavisini verilerek vasküler geçirgenlik daha net değerlendirilebilir. Tüm bunlar için daha geniş planlanmış, daha iyi desteklenmiş çalışmalara ihtiyaç vardır.

Relcovaptan' ın da dahil olduğu vaptan grubu ilaçların (vazopressin reseptör antagonistleri) arasında vazopressin reseptörü V_{1a}/V_2 non-selektif antagonisti olan Conivaptan FDA (Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Derneği) onayı

alan ilk ilaçtır. Conivaptan övolemik hiponatremisinin tedavisinde kullanılmaktadır. Bu durum ileride relcovaptan' ın da klinik kullanımda yerini alabileceğini göstermektedir. Ayrıca relcovaptan' ın etkin olduğu kanıtlanmış oral formu da bulunmaktadır ve dismenore tedavisinde daha önce bir çalışmada kullanılmıştır

109

Daha önceki çalışmalarda, VEGF-2 reseptörlerini direk olarak inaktive ederek vasküler geçirgenliği azaltan SU5416 isimli ilaç aynı zamanda trombo embolizm ve kusma gibi yan etkileri ile anjiogenezi tamamen bloke edip implantasyonu engelleme potansitelerinden dolayı klinik kullanıma geçmemiştir¹⁰. Biz bu ilişkiyi göz önüne alarak VEGF etkilerini direk inhibe eden değil, salınımını artıran bir mekanizma olan vazopressin' i inhibe ederek benzer etkiyi ortaya çıkarmayı amaçladık.

GnRH antagonisti grubunda, vücut ağırlığının artışı, periton sıvısı VEGF düzeyleri, toplam over ağırlığı ve corpus luteum sayısında beklendiği gibi tedavi sonrası OHSS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma tesbit edilmiştir. Atretik folikül sayıları ise beklendiği gibi önemli bir şekilde artmıştır. Düşük doz Relcovaptan grubundaki atretik folikül sayısı GnRH antagonisti grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Bu etkiler tam olarak açıklanamasa da VEGF ve reseptörlerinin “down” regülasyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir.

Bizim çalışmamızda, Relcovaptan ile tedavi edilen gruplarda (düşük doz, yüksek doz) GnRH antagonisti grubundakilere benzer şekilde OHSS parametrelerinde düşüşler izlendi. Relcovaptan, bu etkilerini muhtemelen vazopressin tarafından stimüle edilen VEGF salınımını inhibe ederek göstermektedir.

Literatürde Relcovaptan' ın Raynaud fenomeninin tedavisinde etkin olabileceği, dismenore ve preterm eylemi engellediği, kafa travmalarında vasküler geçirgenliği azaltarak beyin ödemi azalttığı gösterilmiştir ¹⁰⁹⁻¹¹¹. Bu ajanla OHSS modellerinde yapılmış herhangi bir çalışma olmadığından literatürde belirtilen 5-10 mg/kg' lık doz aralığının en düşük ve en üst limitleri kullanıldı. Böylece Relcovaptan' ın sadece etkinliğini değil, ayrıca doz aralığını da belirlemeyi amaçladık. Bu ürünün oral formu olmasına rağmen hayvanlarda kullanımı daha kolay olması ve eşit miktarda her hayvana güvenli şekilde uygulanabileceği için biz enjeksiyon şeklinde kullanmayı seçtik. Deney sonucunda Relcovaptan' ın düşük ve yüksek dozları arasında korpus luteum ve atretik foliküllerin, düşük doz grubunda daha az bulunması dışında etkinlik açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Arginin vazopressin' in (AVP) VEGF stimülasyonu etkisi dışında vücuttaki sıvı metabolizmasını düzenleme etkisi ve bir nörotransmitter olarak sıvı geçirgenliği, iyonların hemostazı, serebrospinal sıvı üretiminde görev aldığı bilinmektedir. Bu etkilerinden dolayı sadece VEGF üzerinden değil OHSS kliniğinde rol alan üçüncü boşluğa sıvı geçişini farklı mekanizmalar üzerinden de

azaltmış olabileceğini düşünmekteyiz. AVP V_{1a} reseptör blokajının kan basıncı ve kan gazları üzerinde herhangi bir etkisi bulunmamaktadır ¹¹¹. Ayrıca Relcovaptan, AVP-bağımlı platelet agregasyonunu da zaman-doz bağımlı bir şekilde inhibe eder ¹¹⁰. Bu etki OHSS’ de karşımıza çıkan hemokonsantrasyon ve tromboza eğilimi engellemede faydalı olabilir.

Çalışmadan, relcovaptanın OHSS’ yi tedavi edeceği konusunda net bir sonuç çıkarılamayacağı gibi; OHSS’ nin oluşumunu önleyebileceği veya varolan hastalığın ilerlemesine engel olabileceği öngörülebilir. İlaç henüz deneysel aşamada olsa da hayvan çalışmalarında fetüse herhangi bir olumsuz etkisi gösterilememiştir. Bu durum da göz önüne alınırsa bu konuda insan çalışmaları yapılması, dozun belirlenmesi ve gerçek etkinliğin ortaya konulması açısından gerekli olacaktır.

6. SONUÇ

Üremeye yardımcı tekniklerin kullanılması ile ortaya çıkan ovaryan hiperstimülasyon sendromunun fizyopatolojisinde en fazla etkin olduğu bilinen sitokin VEGF' dür.

VEGF hiperstimülasyon altındaki overlerden salınıp vasküler hiperpermeabiliteye neden olur. Bu etkileri ortadan kaldırmak ve siklus iptali yapmadan OHSS' yi engellemenin kesin bir yolu bulunmamaktadır.

OHSS' nin engellenmesinde bugün klinik kullanımda olan GnRH antagonist ve agonistlerine alternatif veya bunlardan daha etkin bir ajanın geliştirilmesi günümüzde merak uyandıran bir konudur.

Yüksek östrojen seviyeleri daha iyi gebelik sonuçları anlamına gelirken malesef OHSS riskini de artırmaktadır. OHSS riski olmaksızın, ovaryan stimülasyon günümüzde hem bu sahada çalışan klinisyenler hem de bu sendromdan etkilenecek hastalar için benzersiz bir avantaj olacaktır.

Relcovaptan® (SR49059) vazopressin V_{1a} reseptör inhibisyonu yaparak, vazopressinin VEGF stimülasyonu yapmasını engelleyerek; OHSS' nin gelişimine engel olabilir.

7. KAYNAKLAR

1-Schenker JG, Weinstein D. Ovarian hyperstimulation syndrome: a current survey. *Fertil Steril* 1978; 30: 255–268

2-Golan, A., Ron-el, R., Herman, A. et al. Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review. *Obstet. Gynecol. Surv.* 1989; 44: 430–440.

3- Takashi Ohba, Takeshi Ujioka, Katsuyasu Ishikawa, Nobuyuki Tanaka, Hitoshi Okamura. Ovarian hyperstimulation syndrome-model rats; the manifestation and clinical implication Department of Obstetrics and Gynecology, Kumamoto University School of Medicine, Honjo 1-1-1, Kumamoto 860-8556, Japan

4- Navot D, Bergh PA, Laufer N. The ovarian hyperstimulation syndrome. In: Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z, (eds.), *Reproductive Endocrinology, Surgery and Technology*, vol. 2. Philadelphia: Lippincott- Raven; 1995; 2215–2232.

5- Balasch J, Fabregues F, Arroyo V. Peripheral arterial vasodilation hypothesis: a new insight into the pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 1998; 13: 2718–2730.

6- Rizk B, Aboulghar M. Modern management of ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum. Reprod.* 1991; 6: 1082–1087

7- Kodama H, Fukuda J, Karube H, Matsui T, Shimizu Y, Tanaka T. Characteristics of blood hemostatic markers in a patient with ovarian hyperstimulation syndrome who actually developed thromboembolism. *Fertil Steril.* 1995; 64: 1207–1209

8- Yen SSC, Llennera G, Little B, Pearson O. Disappearance rate of endogenous luteinizing hormone and chorionic gonadotropin in man. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1968; 28: 1763–1767.

9- Amarin ZO. Bilateral partial oophorectomy in the management of severe ovarian hyperstimulation syndrome. An aggressive, but perhaps life-saving procedure. *Hum Reprod*. 2003; 18: 659–664

10- Schenker JG. Prevention and treatment of ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod* . 1993; 8: 653–659

11- Aboulghar MA, Mansour RT. Ovarian hyperstimulation syndrome: classifications and critical analysis of preventive measures. *Hum Reprod Update* 2003; 9: 275–289

12- Gomez R, Simon C, Remohi J, Pellicer A. Vascular endothelial growth factor receptor-2 activation induces vascular permeability in hyperstimulated rats, and this effect is prevented by receptor blockade. *Endocrinology* 2002; 143: 4339–4348

13- Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF 1983 Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* 219: 983–985

14- McClure N, Healy DL, Rogers PA, Sullivan J, Beaton L, Haning Jr RV, Connolly DT, Robertson DM 1994 Vascular endothelial growth factor as capillary permeability agent in ovarian hyperstimulation syndrome. *Lancet* 344: 235–236

- 15- Neulen J, Yan Z, Raczek S, Weindel K, Keck C, Weich HA, Marme D, Breckwoldt M. Human chorionic gonadotropin-dependent expression of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor in human granulosa cells: importance in ovarian hyperstimulation syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 1967–1971
- 16- Levin ER, Rosen GF, Cassidenti DL, Yee B, Meldrum D, Wisot A, Pedram A. Role of vascular endothelial cell growth factor in ovarian hyperstimulation syndrome. *J Clin Invest*. 1998; 102: 1978–1985
- 17- Wang TH, Horng SG, Chang CL, Wu HM, Tsai YJ, Wang HS, Soong YK. Human chorionic gonadotropin-induced ovarian hyperstimulation syndrome is associated with up-regulation of vascular endothelial growth factor. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87: 3300–3308
- 18- Yan Z, Weich HA, Bernart W, Breckwoldt M, Neulen J. Vascular endothelial growth factor (VEGF) messenger ribonucleic acid (mRNA) expression in luteinized human granulosa cells in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 1723– 1725
- 19- Gordon JD, Mesiano S, Zaloudek CJ, Jaffe RB. Vascular endothelial growth factor localization in human ovary and fallopian tubes: possible role in reproductive function and ovarian cyst formation. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996; 81: 353–359
- 20- Otani N, Minami S, Yamoto M, Shikone T, Otani H, Nishiyama R, Otani T, Nakano R. The vascular endothelial growth factor/fms-like tyrosine

kinase system in human ovary during the menstrual cycle and early pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 84: 3845–3851

21- Yamamoto S, Konishi I, Tsuruta Y, Nanbu K, Mandai M, Kuroda H, Matsushita K, Hamid AA, Yura Y, Mori T. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) during folliculogenesis and corpus luteum formation in the human ovary. *Gynecol Endocrinol.* 1997; 11: 371–381

22- Pellicer A, Albert C, Mercader A, Bonilla-Musoles F, Remohi J, Simon C. The pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome: in vivo studies investigating the role of interleukin-1 α , interleukin-6, and vascular endothelial growth factor. *Fertil Steril.* 1999; 71: 482–489

23- Agrawal R, Tan SL, Wild S, Sladkevicius P, Engmann L, Payne N, Bekir J, Campbell S, Conway G, Jacobs H. Serum vascular endothelial growth factor concentrations in vitro fertilization cycles predict the risk of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1999; 71: 287–293

24- Abramov Y, Barak V, Nisman B, Schenker JG. Vascular endothelial growth factor plasma levels correlate to the clinical picture in severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1997; 67: 261–265

25- Keck PJ, Hauser SD, Krivi G, Sanzo K, Warren T, Feder J, Connolly DT. Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF. *Science* 1989; 246: 1309–1312

26- Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science.* 1989; 246: 1306– 1309

- 27- Phillips HS, Hains J, Leung DW, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is expressed in rat corpus luteum. *Endocrinology* 1990; 127: 965–967
- 28- Bates DO, Hillman NJ, Williams B, Neal CR, Pocock TM. Regulation of microvascular permeability by vascular endothelial growth factors. *J Anat.* 2002; 200: 581–597
- 29- Waltenberger J, Claesson-Welsh L, Siegbahn A, Shibuya M, Heldin CH. Different signal transduction properties of KDR and Flt1, two receptors for vascular endothelial growth factor. *J Biol Chem.* 1994; 269: 26988–26995
- 30- Gille H, Kowalski J, Li B, LeCouter J, Moffat B, Zioncheck TF, Pelletier N, Ferrara N. Analysis of biological effects and signaling properties of Flt-1 (VEGFR-1) and KDR (VEGFR-2). A reassessment using novel receptor-specific vascular endothelial growth factor mutants. *J Biol Chem.* 2001; 276: 3222–3230
- 31- Regoli D, and Barabe, J. Pharmacology of bradykinin and related kinins. *Pharmacol. rev.* 1980; 32: 1-46.
- 32- Lagrange FJ, Brun JL, Clot PF, Leng JJ, Saux MC, Kieffer G, Bannwarth BG. Placental transfer of SR49059 in the human dually perfused cotyledon in vitro. *Placenta.* 2001; 22(10): 870-5.
- 33- Mosher WD, Pratt WF. Fecundity and infertility in the United States; incidence and trends, *Fertil Steril* 1991; 56: 192,.
- 34- Bachu A, O' Connel M. Fertility of American women: June 2000, Current population reports, U.S. Census Bureau, Washington D.C. , 2001.

35- Stephan EH, Chandra A, Use of infertility services in the United States: 1995 Fam Plann Perspect 2000; 32: 132.

36- Wathen NC, Perry L, Lilford RJ, Chard T. Interpretation of single progesterone measurement in diagnosis of anovulation and defective luteal phase: observations on analysis of the normal range. Br Med J (Clin Res Ed) 1984; 288: 7

37- Collins JA, Wrixon W, James LB, Wilson EH, Treatment- independent pregnancy among infertile couples. N Eng J Med. 1983; 309: 1201

38- Meldrum D. GnRH agonists as adjuncts for in vitro fertilization. Source Obstet Gynecol Surv. Female Infertility Services, AMI South Bay Hospital, Redondo Beach, California.1989; 44(5): 314-6.

39- Edwards RG, Lobo R, Bouchard P. Time to revolutionize ovarian stimulation. Hum Reprod.. 1996 ; 11(5): 917-9.

40- Meldrum DR, Wisot A, Hamilton F, Gutlay AL, Huynh D, Kempton W. Timing of initiation and dose schedule of leuprolide influence the time course of ovarian suppression. Fertil Steril. 1988; 50(3): 400-2.

41-Urbancsek J, Witthaus E. Midluteal buserelin is superior to early follicular phase buserelin in combined gonadotropin-releasing hormone analog and gonadotropin stimulation in in vitro fertilization. Fertil Steril.6 1996; 65(5): 966-71.

42- Olivennes F, Cunha-Filho JS, Fanchin R, Bouchard P, Frydman R. The use of GnRH antagonists in ovarian stimulation. *Hum Reprod Update*. 2002; 8(3): 279-90.

43- Albano C, Felberbaum RE, Smitz J, Riethmüller-Winzen H, Engel J, Diedrich K. Devroey Ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-antagonist cetrorelix and the LHRH-agonist buserelin. European Cetrorelix Study Group. - *Hum Reprod*. 2000; 15(3): 526-31.

44- Felberbaum RE, Albano C, Ludwig M, Riethmüller-Winzen H, Grigat M, Devroey P, Diedrich K. Ovarian stimulation for assisted reproduction with HMG and concomitant midcycle administration of the GnRH antagonist cetrorelix according to the multiple dose protocol: a prospective uncontrolled phase III study. *Hum Reprod*. 2000 ; 15(5): 1015-20.

45- Ludwig M, Katalinic A, Diedrich K. Use of GnRH antagonists in ovarian stimulation for assisted reproductive technologies compared to the long protocol. Meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2001; 265(4): 175-82.

46- Gustofson RL, Segars JH, Larsen FW. Ganirelix acetate causes a rapid reduction in estradiol levels without adversely affecting oocyte maturation in women pretreated with leuprolide acetate who are at risk of ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod*. 2006 ; 21(11): 2830-7.

47- Stokman PG, de Leeuw R, van den Wijngaard HA, Kloosterboer HJ, Vemer HM, Sanders AL. Human chorionic gonadotropin in commercial human menopausal gonadotropin preparations. *Fertil Steril*. 1993; 60(1): 175-8.

- 48- Ludwig M, Doody KJ, Doody KM. Use of recombinant human chorionic gonadotropin in ovulation induction. *Fertil Steril*. 2003; 79(5): 1051-9.
- 49- Elchalal U, Schenker JG. The pathophysiology of ovarian hyperstimulation syndrome--views and ideas. *Hum Reprod*. 1997; 12(6): 1129-37.
- 50- Kaiser UB. The pathogenesis of the ovarian hyperstimulation syndrome. *N Engl J Med*. 2003; 349(8): 729-32.
- 51- Chae HD, Park EJ, Kim SH, Kim CH, Kang BM, Chang YS. Ovarian hyperstimulation syndrome complicating a spontaneous singleton pregnancy: a case report. Source Division of Reproductive Endocrinology and Infertility, Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, University of Ulsan, Asan Medical Center, 388-1, Poongnap-Dong, Songpa-Gu, Seoul, 138-736, Korea.
- 52- Smits G, Olatunbosun O, Delbaere A, Pierson R, Vassart G, Costagliola S. Ovarian hyperstimulation syndrome due to a mutation in the follicle-stimulating hormone receptor. *N Engl J Med*. 2003; 349(8): 760-6.
- 53- Vasseur C, Rodien P, Beau I, Desroches A, Gérard C, de Poncheville L, Chaplot S, Savagner F, Croué A, Mathieu E, Lahlou N, Descamps P, Misrahi M. A chorionic gonadotropin-sensitive mutation in the follicle-stimulating hormone receptor as a cause of familial gestational spontaneous ovarian hyperstimulation syndrome. *N Engl J Med*. 2003; 349(8): 753-9.
- 54- Montanelli L, Delbaere A, Di Carlo C, Nappi C, Smits G, Vassart G, Costagliola S. A mutation in the follicle-stimulating hormone receptor as a cause

of familial spontaneous ovarian hyperstimulation syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89(4): 1255-8

55- Engel T, Jewelewicz R, Dyrenfurth I, Speroff L, Vande Wiele RL. Ovarian hyperstimulation syndrome. Report of a case with notes on pathogenesis and treatment. *Am J Obstet Gynecol.* 1972; 112(8): 1052-60.

56- Yan Z, Weich HA, Bernart W, Breckwoldt M, Neulen J. Vascular endothelial growth factor (VEGF) messenger ribonucleic acid (mRNA) expression in luteinized human granulosa cells in vitro. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993; 77(6): 1723-5.

57- McClure N, Healy DL, Rogers PA, Sullivan J, Beaton L, Haning RV Jr, Connolly DT, Robertson DM. Vascular endothelial growth factor as capillary permeability agent in ovarian hyperstimulation syndrome. *Lancet.* 1994; 344(8917): 235-6.

58- Shweiki D, Itin A, Neufeld G, Gitay-Goren H, Keshet E. Patterns of expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptors in mice suggest a role in hormonally regulated angiogenesis. *J Clin Invest.* 1993; 91(5): 2235-43.

59- Levin ER, Rosen GF, Cassidenti DL, Yee B, Meldrum D, Wisot A, Pedram A. Role of vascular endothelial cell growth factor in Ovarian Hyperstimulation Syndrome. *J Clin Invest.* 1998; 102(11): 1978-85.

60- Agrawal R, Tan SL, Wild S, Sladkevicius P, Engmann L, Payne N, Bekir J, Campbell S, Conway G, Jacobs H. Serum vascular endothelial growth

factor concentrations in in vitro fertilization cycles predict the risk of ovarian hyperstimulation syndrome. Fertil Steril. 1999; 71(2): 287-93.

61- Insler V, Lunenfeld B. Pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome. In: Gomel V, Leung PC, editors. *in vitro* fertilization and assisted reproduction. Bologna, Italy: MonduzziEditore; 1997; 433-9.

62- Whelan JG 3rd, Vlahos NF. The ovarian hyperstimulation syndrome. Fertil Steril. 2000; 73(5): 883-96.

63- Navot, D, Bergh, PA, Palermo, R. Pathophysiology and clinical management of Ovulation Induction, Edts.M. Filicori & C.Flamigni, Elsevier Science BV, Amsterdam, 1994; 319

64- Ujioka T, Matsuura K, Tanaka N, Okamura H. Involvement of ovarian kinin-kallikrein system in the pathophysiology of ovarian hyperstimulation syndrome: studies in a rat model. Hum Reprod. 1998; 13(11): 3009-15.

65- Daniel Y, Geva E, Amit A, Eshed-Englender T, Bar-Am A, Lessing JB. Soluble endothelial and platelet selectins in serum and ascitic fluid of women with ovarian hyperstimulation syndrome. Am J Reprod Immunol. 2001; 45(3): 154-60.

66- Lunenfeld, B, Insler, V, Glezerman, M. Diagnosis and Treatment of Functional Infertility, 3rd ed, Blackwell Wissenschaft, Berlin, 1993; 98.

67- Lass A, Vassiliev A, Decosterd G, Warne D, Loumaye E. Relationship of baseline ovarian volume to ovarian response in World Health

Organization II anovulatory patients who underwent ovulation induction with gonadotropins. *Fertil Steril*. 2002; 78(2): 265-9.

68- Schenker JG, Weinstein D. Ovarian hyperstimulation syndrome: a current survey. *Fertil Steril*. 1978; 30(3): 255-68.

69- Corpas E, Harman SM, Blackman MR. Human growth hormone and human aging. *Endocr Rev*. 1993; 14: 20.

70- Tulandi T, McInnes RA, Aronnet GH Ovarian hyperstimulation syndrome following ovulation induction with human menopausal gonadotropin.

71- Enskog A, Henriksson M, Unander M, Nilsson L, Brännström M. Prospective study of the clinical and laboratory parameters of patients in whom ovarian hyperstimulation syndrome developed during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1999; 71(5): 808-14.

72- Lyons CA, Wheeler CA, Frishman GN, Hackett RJ, Seifer DB, Haning RV Jr. Early and late presentation of the ovarian hyperstimulation syndrome: two distinct entities with different risk factors. *Hum Reprod*. 1994; 9(5): 792-9.

73- Homburg R, Insler V. *Hum Reprod Update*. Ovulation induction in perspective. 2002; 8(5): 449-62.

74- van Santbrink EJ, Donderwinkel PF, van Dessel TJ, Fauser BC. Gonadotrophin induction of ovulation using a step-down dose regimen: single-centre clinical experience in 82 patients. *Hum Reprod*. 1995; 10(5): 1048-53.

75- A double-blind, randomized, dose-finding study to assess the efficacy of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462) to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarian

stimulation with recombinant follicle stimulating hormone (Puregon). The ganirelix dose-finding study group. Hum Reprod. 1998 ; 13(11): 3023-31.

76- Albano C, Felberbaum RE, Smitz J, Riethmüller-Winzen H, Engel J, Diedrich K, Devroey P Ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-antagonist cetrorelix and the LHRH-agonist buserelin. European Cetrorelix Study Group. Hum Reprod. 2000; 15(3): 526-31.

77- Olivennes F, Belaisch-Allart J, Emperaire JC, Dechaud H, Alvarez S, Moreau L, Nicollet B, Zorn JR, Bouchard P, Frydman R. Prospective, randomized, controlled study of in vitro fertilization-embryo transfer with a single dose of a luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) antagonist (cetrorelix) or a depot formula of an LH-RH agonist (triptorelin). Fertil Steril. 2000; 73(2): 314-20.

78- Borm G, Mannaerts B. Treatment with the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone is effective, safe and convenient: results of a controlled, randomized, multicentre trial. The European Orgalutran Study Group. Hum Reprod. 2000 Jul;15(7):1490-8. Erratum in: Hum Reprod 2000; 15(8): 1877.

79- European and Middle East Orgalutran Study Group. Comparable clinical outcome using the GnRH antagonist ganirelix or a long protocol of the GnRH agonist triptorelin for the prevention of premature LH

surges in women undergoing ovarian stimulation. Hum Reprod. 2001; 16(4): 644-51.

80- Ragni G, Vegetti W, Riccaboni A, Engl B, Brigante C, Crosignani PG. Comparison of GnRH agonists and antagonists in assisted reproduction cycles of patients at high risk of ovarian hyperstimulation syndrome. Hum Reprod. 2005; 20(9): 2421-5.

81- Al-Inany H, Aboulghar M. GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review. Hum Reprod. 2002; 17(4): 874-85.

82- Ludwig M, Katalinic A, Diedrich K. Use of GnRH antagonists in ovarian stimulation for assisted reproductive technologies compared to the long protocol. Meta-analysis. Arch Gynecol Obstet. 2001; 265(4): 175-82.

83- Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar M. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception: a Cochrane review. Reprod Biomed Online. 2007; 14(5): 640-9.

84- Sher G, Zouves C, Feinman M, Maassarani G. "Prolonged coasting": an effective method for preventing severe ovarian hyperstimulation syndrome in patients undergoing in-vitro fertilization. Hum Reprod. 1995; 10(12): 3107-9.

85- Levinsohn-Tavor O, Friedler S, Schachter M, Raziel A, Strassburger D, Ron-El R. Coasting-what is the best formula? Hum Reprod. 2003; 18(5): 937-40.

86- Gustofson RL, Segars JH, Larsen FW. Ganirelix acetate causes a rapid reduction in estradiol levels without adversely affecting oocyte maturation in

women pretreated with leuprolide acetate who are at risk of ovarian hyperstimulation syndrome. Hum Reprod. 2006 ; 21(11): 2830-7.

87- Aboulghar MA, Mansour RT, Amin YM, Al-Inany HG, Aboulghar MM, Serour GI. A prospective randomized study comparing coasting with GnRH antagonist administration in patients at risk for severe OHSS. Reprod Biomed Online. 2007; 15(3): 271-9.

88- Isik AZ, Gokmen O, Zeyneloglu HB, Kara S, Keles G, Gulekli B. Intravenous albumin prevents moderate-severe ovarian hyperstimulation in in-vitro fertilization patients: a prospective, randomized and controlled study. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1996; 70(2): 179-83.

89- Shoham Z, Weissman A, Barash A, Borenstein R, Schachter M, Insler V. Intravenous albumin for the prevention of severe ovarian hyperstimulation syndrome in an in vitro fertilization program: a prospective, randomized, placebo-controlled study.

90- Aboulghar M, Evers JH, Al-Inany H. Intravenous albumin for preventing severe ovarian hyperstimulation syndrome: a Cochrane review. Hum Reprod. 2002; 17(12): 3027-32.

91- Graf MA, Fischer R, Naether OG, Baukloh V, Tafel J, Nuckel M. Reduced incidence of ovarian hyperstimulation syndrome by prophylactic infusion of hydroxyethyl starch solution in an in-vitro fertilization programme. Human Reprod 1997; 12: 2599-2602.

92- König E, Bussen S, Sütterlin M, Steck T. Prophylactic intravenous hydroxyethyle starch solution prevents moderate-severe ovarian hyperstimulation

in in-vitro fertilization patients: a prospective, randomized, double-blind and placebo-controlled study. Hum Reprod. 1998; 13(9): 2421-4.

93- Gomez R, Gonzalez-Izquierdo M, Zimmermann RC, Novella-Maestre E, Alonso-Muriel I, Sanchez-Criado J, Remohi J, Simon C, Pellicer A. Low-dose dopamine agonist administration blocks vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated vascular hyperpermeability without altering VEGF receptor 2-dependent luteal angiogenesis in a rat ovarian hyperstimulation model.

94- Carizza C, Abdelmassih V, Abdelmassih S, Ravizzini P, Salgueiro L, Salgueiro PT, Jine LT, Nagy P, Abdelmassih R. Cabergoline reduces the early onset of ovarian hyperstimulation syndrome: a prospective randomized study. Reprod Biomed Online. 2008; 17(6): 751-5.

95- Amso NN, Ahuja KK, Morris N, Shaw RW. The management of predicted ovarian hyperstimulation involving gonadotropin-releasing hormone analog with elective cryopreservation of all pre-embryos. Fertil Steril. 1990; 53(6): 1087-90.

96- Queenan JT Jr, Veeck LL, Toner JP, Oehninger S, Muasher SJ. Cryopreservation of all prezygotes in patients at risk of severe hyperstimulation does not eliminate the syndrome, but the chances of pregnancy are excellent with subsequent frozen-thaw transfers. Hum Reprod. 1997; 12(7): 1573-6.

97- Várnagy A, Bódis J, Mánfai Z, Wilhelm F, Busznyák C, Koppán M. Low-dose aspirin therapy to prevent ovarian hyperstimulation syndrome. Fertil Steril. 2010; 93(7): 2281-4.

98- Barbieri RL. Induction of ovulation in infertile women with hyperandrogenism and insulin resistance. *Am J Obstet Gynecol.* 2000; 183(6): 1412-8.

99- Tang T, Lord JM, Norman RJ, Yasmin E, Balen AH. Insulin-sensitising drugs (metformin, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for women with polycystic ovary syndrome, oligo amenorrhoea and subfertility. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009; (4): CD003053.

100- Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril.* 2008; 90(5 Suppl): S188-93.

101- Navot D, Bergh PA, Laufer N. Ovarian hyperstimulation syndrome in novel reproductive technologies: prevention and treatment. *Fertil Steril.* 1992; 58(2): 249-61.

102- Ferraretti AP, Gianaroli L, Diotallevi L, Festi C, Trounson A. Dopamine treatment for severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod.* 1992; 7(2): 180-3.

103- Tsunoda T, Shibahara H, Hirano Y, Suzuki T, Fujiwara H, Takamizawa S, Ogawa S, Motoyama M, Suzuki M. Treatment for ovarian hyperstimulation syndrome using an oral dopamine prodrug, docarpamine. *Gynecol Endocrinol.* 2003; 17(4): 281-6.

104- Busso C, Fernández-Sánchez M, García-Velasco JA, Landeras J, Ballesteros A, Muñoz E, González S, Simón C, Arce JC. The non-ergot derived dopamine agonist quinagolide in prevention of early ovarian

hyperstimulation syndrome in IVF patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Hum Reprod.* 2010; 25(4): 995-1004.

105- Moses MA, Harper J, Folkman J. Doxycycline treatment for lymphangi leiomyomatosis with urinary monitoring for MMPs. *N Engl J Med.* 2006; 354(24): 2621-2.

106- Fainaru O, Adini I, Benny O, Bazinet L, Pravda E, D' Amato R, Folkman J. Doxycycline induces membrane expression of VE-cadherin on endothelial cells and prevents vascular hyperpermeability. *FASEB J.* 2008; 22(10): 3728-35.

107- Fainaru O, Hornstein MD, Folkman J. Doxycycline inhibits vascular leakage and prevents ovarian hyperstimulation syndrome in a murine model. *Fertil Steril.* 2009; 92(5): 1701-5.

108- Thibonnier M, Conarty DM, Preston JA, Wilkins PL, Berti-Mattera LN, Mattera R. Molecular pharmacology of human vasopressin receptors. *Adv Exp Med Biol.* 1998; 449: 251-76.

109- Brouard R, Bossmar T, Fournié-Lloret D, Chassard D, Akerlund M. Effect of SR49059, an orally active V1a vasopressin receptor antagonist, in the prevention of dysmenorrhoea. *BJOG.* 2000; 107(5): 614-9.

110- Hayoz D, Bizzini G, Noël B, Depairon M, Burnier M, Fauveau C, Rouillon A, Brouard R, Brunner HR. Effect of SR 49059, a V1a vasopressin receptor antagonist, in Raynaud's phenomenon. *Rheumatology (Oxford).* 2000; 39(10): 1132-8.

111- Manaenko A, Fathali N, Khatibi NH, Lekic T, Hasegawa Y, Martin R, Tang J, Zhang JH Arginine-vasopressin V1a receptor inhibition improves neurologic outcomes following an intracerebral hemorrhagic brain injury. *Neurochem Int.* 2011; 58(4): 542-8.

8. ÖZET

RAT OVARYAN HİPERSTİMÜLASYON MODELİNDE RELCOVAPTAN' IN GNRH ANTAGONİSTİ İLE KARŞILAŞTIRMALI ETKİLERİ

Günümüzde infertilite gebe kalma yaşının yükselmesi, pelvik inflamatuvar hastalık gibi fertilitiyi etkileyen hastalıkların artması ve buna benzer birçok nedenden dolayı giderek daha fazla çifti etkilemektedir.

Üremeye yardımcı teknikler yaygın olarak kullanılmakta ve ovaryan stimülasyon uygulanan siklusların yaklaşık %3–6' sında ovaryan hiperstimülasyon sendromu ile karşılaşılmaktadır.

Vasküler geçirgenlikte artışa bağlı assit ve plevral effüzyon ile karakterize kliniği olan bu sendromda birincil şüpheli faktör vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)' dür. OHSS patogenezinde başka faktörlerin de rol oynadığı düşünülmektedir.

Bu faktörler arasında arginin vazopressin VEGF' yi önemli bir şekilde stimüle ederek vasküler permeabilitenin oluşumunda rol oynamaktadır.

Bizim çalışmamızın amacı vazopressin V_{1a} reseptörlerini bloke ederek VEGF stimülasyonunu inhibe eden Relcovaptan®(SR49059)' ı kullanarak OHSS oluşumunu engellemektir. OHSS' de deney modeli olarak immatür wistar disi rat

kullandık. Toplam 30 rat çalışmaya alındı ve 5 gruba ayrıldı. 6 tanesi kontrol grubu olarak ayrıldı ve bunlara deney süresinde sadece salin infüzyonu yapıldı. Geri kalan 4 grupta PMSG kullanılarak ovaryan hiperstimülsayon uygulandı ve deneyin 5. günü hCG yapıldı. HCG gününde ve bir sonraki günde bir gruba GnRH antagonisti sabah akşam, diğer iki gruba ise farklı dozlarda (0.3 mg, 0.15 mg) günde iki kez Relcovaptan uygulandı. 4. grup olan OHSS grubuna ise hiçbir tedavi uygulanmadı.

Gruplar; vücut ağırlıkları, toplam over ağırlıkları, periton sıvısında VEGF miktarı, korpus luteum, antral ve atretik foliküller açısından karşılaştırıldı.

Çalışmamızın sonucuna göre periton VEGF düzeyleri başta olmak üzere, vücut ağırlıkları ve toplam over ağırlıkları her üç tedavi grubunda OHSS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Relcovaptan, OHSS, VEGF, Rat, Vazopressin inhibitörü.

9. SUMMARY

THE COMPARED EFFECTS OF RELCOVAPTAN AND GNRH ANTAGONIST IN AN OVARIAN HYPERSTIMULATION RAT MODEL

More couples are being affected by infertility due to the rise in the age of conceiving and diseases that cause infertility such as pelvic inflammatory disease.

Artificial reproductive technologies are used widely and ovarian hyperstimulation syndrome is encountered in approximately 3-6% of cycles that ovarian hyperstimulation is applied. Because of vascular hyperpermeability; this syndrom which has a clinical presentation that is characterized with free fluid and pleural effusion, the primary suspicious agent is vascular endothelial growth factor (VEGF). There is an opinion that there are many other factors that act in pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrom.

One of that factors is arginin vasopressin that stimulate VEGF potently and plays an important role on vascular permeability.

The aim of our study was; block the vasopressin V_{1a} receptors via inhibiting VEGF by Relcovaptan®(SR49059) and prevent OHSS generation. We used female immature Wistar rats as the OHSS experimental model. In total 30 rats were incorporated in the study and they were split in to 5 groups. 6 were

selected as the control group and only saline infusion was applied during the study. PMSG used in the remaining 4 groups for ovarian hyperstimulation and hCG was applied on the 5th day of study. On the day of hCG and the following day GnRH antagonist was applied twice each day and Relcovaptan was applied with different doses (0.3 mg, 0.15 mg) to the other two groups. No treatment was applied to 4th group that was the OHSS group.

Groups were compared with their body weight, total ovarian weight, VEGF amounts in peritoneal fluid, corpus luteum, antral and atretic follicle counts.

According to the results of the study; in each treatment group mainly peritoneal VEGF levels, body weights and the total ovarian weights were significantly decreased statistically when compared with the OHSS group.

Key words: Relcovaptan, OHSS, VEGF, Rat, Vasopressin inhibitors