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

YARDIMCI ÜREME TEKNİKLERİ İLE TEDAVİ EDİLEN OLGULARDA ANTİ MÜLLERYAN HORMON DÜZEYİNİN KÖTÜ OVER YANITINI BELİRLEMEDEKİ TANISAL DEĞERİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Mehmet Fırat Mutlu

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Mehmet Erdem

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 01/2005-24 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
MART-2009

TEŞEKKÜR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı' ndaki asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlanığım, yetişmemde emeği bulunan tüm hocalarıma, Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Onur KARABACAK' a, bana her konuda destek olan hocalarım Doç. Dr. Mehmet ERDEM ve Doç. Dr. Ahmet ERDEM'e; fedakarlıklarını esirgemeyen, sevgilerini her an yanımda hissetiğim bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi aileme, hayatın her anını birlikte paylaşmaktan mutluluk duyduğum eşim İLKNUR'a; tezimin hazıralnmasındaki yardımlarından dolayı değerli arkadaşım Özgür ARISOY'a acı tatlı günleri beraber göğüsledigimiz değerli asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Mehmet Fırat MUTLU

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR ii
İÇİNDEKİLER iii
1.GİRİŞ 1
2.GENEL BİGİLER 4
3.GEREÇ VE YÖNTEM 22
4. BULGULAR 30
5. TARTIŞMA 49
6 .SONUÇ 59
7 .KAYNAKLAR 61
8. ÖZET 90
9. İNGİLİZCE ÖZET 92

GİRİŞ

Gebelik yaşı kadınların eğitim düzeylerinin ve kariyer isteklerinin artması ve doğum kontrol yöntemlerinin daha yaygın kullanılması nedeniyle son yirmi yılda artmıştır (1,2). Yapılan çalışmalar doğum kontrol yöntemi kullanmayan doğal populasyonda fertilitenin 30 yaşından itibaren azalmaya başladığını, 30'lu yaşlarınn ortalarında azalmanın hızlandığını ve ortalama 41 yaşında yok denecek kadar azaldığı göstermektedir (3,4).

Bir yıllık korunmasız ilişki ile kendiliğinden gebe kalmayan hasta yüzdesi yirmili yaşlarda %5 iken 35 yaş üstünde %30'a kadar çıkmaktadır (2). Yaş arttıkça oosit miktar ve kalitesindeki azalma fertilieyi azaltan en önemli etkenlerdendir.

Normal populasyonda gebe kalma yaşının artmasına paralel olarak daha çok hasta ileri yaşlarda fertilite isteği ile başvurmakta, bunun sonucunda ise yardımcı üreme tekniklerinden (YÜT) faydalanan olgularda da düşük over rezervli, ileri yaş hastaların oranları armaktadır. Azalmış over rezervi spontan sikluslarda fekunditeyi azalttığı gibi, YÜT ile gebelik sağlanmaya çalışılan olgularda da başarıyı azaltmaktadır. Tedavilerin maliyeti, yan etkileri, hasta açısından zorlukları göz önüne alındığında uygun hasta seçimi ve uygun prognoz belirlenmesinin oldukça önemli olduğu görülmektedir. Tedaviye başlanmadan önce ovaryen yanıtın ön görülmesi ile yetersiz ovaryen yanıt nedeniyle siklus iptallerinin azaltılabilmekte; aynı zamanda hekime uygun tedavi stratejileri

geliştirme ve çok kötü prognozlu hastaları ise oosit donasyonu gibi alternatif yöntemlere yöneltmeyi sağlayabilmektedir.

Gonadotropinler ile overlerin stimulasyonu sonucu oluşan multifoliküler gelişim, çok sayıda embriyonun oluşmasına neden olmakta; bunların arasından seçilen iyi kalite embriyoların transferi ile YÜT başarısı artmaktadır. Ancak %10 oranında bir hasta grubu yeterli miktarda gonadotropin ile tedaviye rağmen uygun sayıda folikül gelişimi göstermemekte ve 'kötü ovaryen yanıtlı' olarak adlandırılmaktadır (5). Kötü ovaryen yanıtlı bu hasta grubunda daha fazla siklus iptali, yetersiz veya az sayıda folikül gelişimi, düşük veya yavaş artan estradiol düzeyleri ve düşük gebelik oranları gösterilmiştir (6). Kötü ovaryan yanıtın literatürde ortak bir tanımı yoktur. Kötü ovaryen yanıt nasıl tanımlanırsa tanımlansın İVF başarısını ve gebelik oranlarını düşürdüğü bilinmektedir. Bazal serum FSH, estradiol, inhibin-B, LH/FSH, ovaryan hacim, antral folikül sayısı , ovaryan stromal kan akım hızı, klomifen sitrat challange test (CCCT), GnRH agonist Stimulasyon test (GAST), Eksojen FSH ovaryen rezerve test (EFORT) over rezervini göstermek ve kontollü ovaryan stimulasyona verilen yanıtı ön görmek için son iki dekadda kullanılmaya başlanan over rezerv testlerdir.

Günümüzde klinik olarak kullanılan testlerden hiçbirisinin over yanıtını ön görmede tek başına yeterli olmadığı düşünülmektedir. YÜT tedavisine başlanan ve over rezerv testleri normal olan bir grup hastada over yanıtının beklendiği gibi olmaması sonucunda siklus iptalleri izlendiği bildirilmiştir. Bu grup hastada over rezervini gösteren testler içinde Anti -müllerian hormon (AMH) düzeylerinin over yanıtını predikte etmede geleneksel over rezerv testlerinden

daha etkin olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Anti-müllerian hormon düzeylerinin toplanan oosit sayısını göstermesi yanında oosit kalitesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. AMH düzeyleri yüksek olanlarda fertilizasyon oranının yüksek olduğu, abort oranının düşük olduğu gösterilmiştir (7).

Bu çalışmada; görülme sıklığı gittikçe artan ve YÜT tedavisi alan hastalar içinde kötü prognozlu hasta grubunu oluşturan "kötü ovaryen yanıtlı" hastalarda AMH düzeylerinin kontrollü ovaryen stimulasyon sonrası ovaryen yanıtı ve gebelik oluşum hızını ön görmedeki etkinliğini belirlemek ve klinik olarak halen kullanılan diğer testlerle bu etkinliğin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

Günümüzde YÜT ile tedavi planlanan olgularda, başarı şansını ön görebilmek için over rezervini değerlendiren birçok sonografik ve hormonal belirteç kullanılmaktadır.

Over Rezerv Testleri

1.Statik testler

Yaş

Bazal serum FSH

Bazal serum estradiol

Bazal serum inhibin-B

Bazal antimüllerian hormon

Bazal LH/FSH

Bazal ovaryen hacim

Bazal antral folikul sayısı

Ovaryen stromal kan akımı

Ovaryen biyopsi

2.Dinamik testler

Klomifen sitrat challange test (CCCT)

GnRH agonist Stimulasyon test (GAST)

Eksojen FSH ovaryen rezerve test (EFORT)

Yaş: Over rezervi yaşla beraber azalmaktadır. Genel infertil populasyonda klomifen sitrat testleriyle over rezervi normal olarak saptanan olgularda bile, yaş gebelik hızlarını belirleyen önemli bir prognostik faktör olmaya devam etmekte; ovaryen rezervi azalmış olgularda ise gebelik oranları yaştan bağımsız olarak düşük olmaktadır (8). Templeton ve ark tarafından yapılan çok merkezli çalışmada IVF gebeliklerinde başarının 30 yaşından sonra progresif olarak azaldığı, 35 yaşından sonra azalmanın daha belirgin olduğu gösterilmiştir (9). Over rezervinin azalmasında benzeri bir eğilimi gösteren başka bir çalışmada ise foliküler atrezisinin özellikle 38 yaşından sonra hızlandığı belirlenmiştir (10).

Yaş; YÜT'te gebelik başarısını göstermesi açısından, bazal FSH'dan daha düşük başarı oranına sahiptir (11). Buna karşın retrospektif bir analizin sonucunda; İVF tedavisindeki genç hastalarda yaşın gebelik başarısını göstermede bazal FSH'dan daha prediktif olduğu gösterilmiştir (12). Less ve ark. tarafından İVF siklusuna alınan 40 yaş üstü ve altı olguların karşılaştırıldığı çalışmada; 40 yaş üstündeki gebelik oranlarının anlamlı olarak düşük olduğu gözlemlenmiş (%1.3 vs %28.2), 45 yaş üstünde ise gebelik tespit edilmemiştir (13).

Bazal Serum FSH: Bazal dönemde ölçülen FSH en sık kullanılan over rezerv testlerinden birisidir. Bazal FSH; inhibin, estradiol gibi foliküllerden sentezlenen hormonların hipofizi etkilemesi sonucunda değişiklik gösteren indirekt bir belirteçtir. Van Montfrans ve ark. tarafından yapılan çalışmada; 40 yaş altında FSH >10 ile FSH ≤10 olan subfertil hastalar 3-7 yıl boyunca fekunditeleri açısından karşılaştırılmış ve iki grup arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Bu

çalışma sonuçlarına göre bazal FSH'nın özellikle ovulatuar menstural siklusu olan olgularda spontan gebelik elde etme oranlarını ön görmede etkisinin az olduğu sonucuna varılmıştır (14). Buna karşın, bazal FSH seviyeleri YÜT sırasında toplanan oosit sayısı ve iptal edilen siklusları ön görmede iyi bir belirteç olduğu düşünülmektedir. Yaş arttıkça toplanan oosit sayısında azalma yanında implantasyon ve gebelik oluşum hızı azalmakta iken; bazal FSH'nın belirgin olarak arttığı olgularda toplanan oosit sayısı azalmakta, iptal edilen siklus saysı artmaktadır. Bazal FSH ölçümünün dezavantajları; bazal FSH oosit kalitesini yaş kadar iyi göstermemesi ve kötü ovaryen yanıt gösteren olgualrın bir kısmında testin normal sınırlar içinde olmasıdır (15). Toner ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada FSH düzeyi arttıkça siklus iptal oranlarının arttığını gösterilmiştir (16). Bu çalışmaların toplu olarak değerlendirildiği meta-analizin sonuçlarına göre FSH'nın kötü over yanıtını göstermede orta derecede, gebelik hızlarını göstermede düşük derecede etkin olduğu bulunmuş ve İVF tedavilerinde sonucu ön görmede rutin olarak kullanılması önerilmemiştir (17).

FSH reseptörlerinin farklı genotipte olabilmesi bazal FSH düzeyi ve YÜT sırasında tedavide kulanılan gonadotropinere verilen cevabın farklı olmasında rol alan faktörlerden birisidir. FSH reseptör proteinin 680. pozisyonunda bulunan asparjin'in serine ile yer değiştirmesi sonucunda reseptor aktivitesi azalmakta, ovaryen rezervi normal olmasına rağmen FSH düzeyleri yüksek bulunabilinmektedir (18,19).

40 yaş üstünde FSH'nın pozitif belirleyici değeri infertilite prevelansının yüksek olması nedeniyle daha fazlayken, genç hastalarda belirleyicilik daha düşük

olmakta; bu nedenle genç yaş grubunda anormal FSH seviyeleri olan birçok olgu yanlış bir şekilde tedavi sonucunda gebelik oluşamayacak grup içinde değerlendirilmektedir (20).

Bazal FSH 'nın kontrolu inhibin, aktivin, estradiol, foliastatinler gibi birçok faktor tarafından düzenlendiğinden, ovaryen rezervin indirekt göstergelerinden biri olarak değerlendirilmektedir. Sikluslar arası değişkenliğinin fazla olması, laboratuarlar arasında kullanılan antikor testleri arasındaki farklılıklar ve belirgin olarak prediktif bir eşik değerinin olmaması bazal FSH ölçümünün klinik değerini azalmaktadır (21,22).

FSH/LH Oranı: FSH/LH, İVF tedavisinde ovaryen yanıtın ön görülebilmesi için kullanılabilen testlerden biridir. Artmış oranın, FSH düzeyi normal olsa bile, kötü over rezervinin göstergesi olduğu düşünülmektedir (23). Mukheree ve ark. tarafından yapılan retrospektif çalışmada 41 yaş altında FSH <15 olan olgularda, FSH/LH oranı 3.6 'nın üzerine çıktığında ovaryen yanıtın daha kötü olduğu gösterilmiştir. Başka bir çalşmada; FSH/LH oranının, FSH düzeyleri yükselmeye başlamadan önce artmaya başladığı gözlenmiştir (24).

.**Bazal Serum Estradiol:** Erken foliküler estradiol seviyeleri over rezervini belirlemek için kulanılabilir. Bazal estradiol seviyesi yüksekliğinin düşük fekundite ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Smotric ve ark tarafından FSH düzeyinden bağımsız olarak bazal estradiol seviyeleri ve İVF sonuçlarını karşılaştıran bir çalışmada 80 pg/ml eşik değeri olarak alındığında; bu değerin altı

ve üstündeki gruplarda gebelik oranları sırasıyla %37.0 ve 14.8% , siklus iptal oranlarının ise %0.4 ve 18.5% olduğu tespit edilmiştir. FSH'nın 15 IU/L den yüksek olduğu hastalar çalışma dışında tutulduğunda da benzer sonuçlar bulunmuştur (25, 26). Licciardi ve ark bazal estradiol düzeyi <30 pg/ml ise YÜT sonucu oluşan gebelik yüzdesinin estradiol düzeyi 31-74 pg/ml arasında olanlardan anlamlı şekilde fazla olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada bazal estradiol düzeylerinin 75 pg/ml üzerinde olduğu olgularda gebelik izlenmemiştir (27).

Estradiol seviyesindeki erken yükselme, azalmış over rezervine bağlı FSH düzeylerinin yükselmesi sonucunda erken foliküler büyüme ve erken dominant folikül yanıtına bağlı ortaya çıktığı düşünülmektedir. Artmış estradiol seviyeleri nedeniyle FSH baskılanmakta ve bazal seviyeleri normal sınırlar içinde ölçülebilmektedir. Bu nedenle bazal estradiol düzeyi, FSH düzeyine bağlı yanlış negatiflikleri azaltmaktadır.

İnhibin B: İnhibin dimerik ve polipeptit yapıda bir hormondur. İnhibin A ve inhibin B olarak iki farklı tipi bulunmaktadır. Her iki inhibin de granulosa hücrelerinden; inhibin A daha çok luteal fazda, inhibin B ise foliküler fazda olak üzere, salgılanmaktadır (28). İnhibin A estradiol düzeyi artmaya başladıktan sonra dominant folikülden, inhibin B ise büyümekte olan oosit havuzundan salgılanmaktadır (29). Bazal inhibin B düzeyindeki düşüklük, bazal FSH henüz yükselmeye başlamadan önce, kötü over rezervini gösterebildiği düşünülmektedir (30,31,32).

Seifer ve ark tarafından İVF tedavisi uygulanan hastalarda bazal inhibin B düzeyi< 45 pg/ml olduğunda over yanıtının ve gebelik oranlarının anlamlı derecede azaldığını gösterilmiştir (33). Fiçicıoğlu ve ark İVF sikluslarında toplanan oosit sayısı ile inhibin B düzeyini karşılaştırmışlar ve 56pg/ml eşik değerinin %81 sensitivitesi, %81 spesifitesi ile kötü over yanıtını göstermede etkin bir test olduğunu göstermişlerdir (34). Muttukrishna ve ark yaptığı benzer çalışmada ise 40 pg/ml eşik değeri olarak alındığında over rezervini göstermede sensitivitesi ve spesifisiteyi %87ve %49 olarak tespit etmişlerdir (35). İVF sikluslarında değişik zamanlarda yapılan inhibin B toplanan oosit sayısını ön görmede karşılaştırılmış ve en uygun zamanın pitüiter down regulasyondan sonraki ilk FSH dozunun uygulandığı gün olduğu bildirilmiştir (36). Buna karşın diğer iki çalışmada kontrollu ovaryen hiperstimulasyonun 4-6. günlerinde inhibin B ölçümünün over rezervini göstermede daha üstün olduğu gösterilmiştir (37,38). Bazı çalışmalarda ise; FSH veya GnRH-a ile stimülasyon sonrasında dinamik olarak ölçülen inhibin B düzeyi ile kontrollü over hiperstimulasyonuna verilen yanıt arasında doğrudan ilişkili olduğu (39,40) ancak bu ilişkinin bazal inhibin düzeyleri için çok net olmadığı bildirilmiştir. (15,41,42).

Bazal Antral Folikul Sayısı: Erken foliküler fazda ultrasonografik olarak ölçülen <10mm olan folikul sayısının toplanan oosit sayısı ve siklus iptal oranlarıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (43). Antral folikül sayılarının yaşla beraber azaldığı bilinmektedir. Bu azalma 37 yaşından önce yılda % 4.8 sonrasında ise %11.7 olarak ortaya çıkmaktadır (44). Antral folikül sayısı gonadotropin stimulasyonuna

verilen yanıtı ön görmede iyi bir parametre olsa da yapılan çalışmalarda gerek antral foliküllerin ultrasonografik olarak tanımında gerekse de antral folikül sayısının çeşitli çalışmalardaki eşik değeri arasında farklılıklar bulunmaktadır. AFS aynı hastada sikluslar arasında değişiklik gösterebilmekte; bu değişiklik genç ve AFS'sı fazla olanlarda daha fazla gözlenmektedir (45,46,47,48). Chang ve ark tarafından IVF sikluslarında prospektif olarak yapılan bir çalışmada bazal antral folikül sayısı <4, 4-10, >10 olarak gruplanmış; bu 3 grupta sırasıyla siklus iptal oranları %68.8, %5.3, %0 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada antral folikul sayısı arttıkça gebelik oranlarının arttığı, AFS <4 olan olgularda gebelik elde edilmemiştir (49). Antral folikül sayısı, bazal FSH, estradiol, inhibin B, total over hacmine göre kötü over yanıtını ön görmede daha etkin olduğunu düşünülmektedir (50).

Ovaryen Hacim: Ultrason ile ölçülen over volümünün over rezervi ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Ultrasonografik olarak ölçülen total ve ortalama over volümü yanında küçük olarak ölçülen over volümlerinin de kontrollü over stimulasyonuna verilen yanıt ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (51,52). Herhangi bir over volümü 3 cm^3 ten küçük olgularda siklus iptali artmaktadır (53). Yapılan başka bir çalışma da ise düşük over volümünün büyümekte olan folikül sayısıyla korelasyon gösterdiği; ancak toplanan oosit sayısıyla bu ilişkinin olmadığı gösterilmiştir (43). Over volümündeki progresif küçülme daha çok menapoz sonrası ortaya çıkmakta; reprodüktif dönemde ise belirgin bir değişiklik olmamaktadır (54,55).

Ovaryen Stromal Kan Akımı: Engman ve ark. yaptıkları bir çalışmada pituiter supresyon sonrasında transvajinal olarak ölçülen tepe ovaryen stromal akım hızının, FSH düzeyleri normal sınırlarda bulunan olgularda kontrollü over hiperstimulasyona verilen yanıtı ön görmede yaş, bazal estradiol ve FSH/LH oranına göre daha üstün olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada 10 cm/sn üstünde her 1cm/sn' lik kan akım hızı artışına karşılık toplanan oosit sayısında %7'lik artış saptanmıştır (56). Zaidi ve ark. ovaryen hiperstimulasyona kötü yanıt veren olgularda tepe overyen stromal kan akım hızının anlamlı şekilde azaldığını gözlemlemişlerdir (57). Ovaryen stromal kan akım yaşla beraber genel populasyonda da azaldığı bildiriliştir (58).

Ovaryen Biyopsi: Birim hacimdeki over korteksinde bulunan folikül sayısı folikül yoğunluğunu göstermektedir. Overden biyopsi alınalarak ölçülen folikül yoğunluğunun over reservini göstermek için kullanılabileceği düşünülmüş, ancak Lambalk ve ark. yaptığı çalışmada over rezervini göstermede faydası olmadığını gösterilmiştir (59). İnvasif bir işlem olmasının yanında over korteksinde folliküller homojen olarak dağılmadığı ve fertilite üzerine işlemin kendisinin olumsuz etkileri olabileceğinden rutin olarak önerilmemektedir.

Klomifen Sitrat Challange Test (CCCT): İlk olarak 1987 yılında Navoy ve ark tarafından 35 yaş üstünde açıklanamayan infertil olgularda üreme potansiyelini değerlendirmek amaçlı ortaya çıkmıştır. Bazal (3. gün) FSH seviyesinin

ölçülmesini takiben siklusun 5 ile 9. günleri arasında 100 mg oral klomifen sitrat verilmekte, siklusun 10. gününde tekrar FSH düzeyini belirlenerek test yapılmaktadır. Over rezervi normal olan olgularda foliküllerden üretilen inhibin B klomifene bağlı FSH yükselmesini inhibe etmektedir (8,60). Bazal veya 10. gün FSH değerlerinin normalden yüksek olması sonucu test anormal olarak kabul edilmektedir. Klomifen ile stimulasyon sonrası 10.gün progesteron seviyesinin 1.1 ng/ ml'den yüksek olmasının da kötü over rezervi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (61). YÜT olguları ve genel populasyonda yapılan çalışmalar sonucunda anormal CC test için FSH'nın eşik değerinin 10 IU/l ile 26.03 IU/l arasında değişmekte olduğu tespit edilmiştir. Anormal test sonuçlarının hem spontan sikluslardaki hem de İVF sikluslarındaki gebelik oranlarının düşük olması ile ilişkili olduğu bulunmuştur. CCCT normal olan hastalar kontrollü ovaryan stimulasyona daha iyi yanıt verdiği; ayrıca CCCT'in bazal FSH dan daha sensitif bir test olduğu gözlenmiştir (21).

Watt ve ark. yaptığı prospektif çalışmada, 40 yaşın üstünde bazal FSH düzeyi 11.1 IU/l veya stimule edilmiş 10.gün FSH değeri 13.5 IU/l üzerindeki olgularda gebelik izlememişler ve CCCT'ni bu yaş grubunda kullanmayı önermişlerdir (62). Yanushpolsky ve ark 40 yaş altındaki İVF hastalara CCCT yapmış ve sonucunda CCCT değerleri ile gebelik oranları arasında ters orantı bulmuşlar, ancak 3. veya 10. gün FSH değerleri >20 IU/l olan olgularda bile gebelik oluşabildiğinden, gebeliği öngörmede herhangi bir eşik değer tespit edememişlerdir (63). Kötü over rezervini göstermede CCCT sensitivitesi; bazal FSH dan daha yüksek, spesifitesi ise benzer bulunmuştur. Dolayısıyla CCCT'nin

FSH düzeyi normal olan bir grup kötü over rezervli hastanın ön görülmesin de fayda sağlayabildiği düşünülmektedir (64).

GnRH agonist Stimulasyon testi (GAST): Siklusun 3.günü GnRH uygulandıktan sonra pituiter FSH ve LH'nın artşına bağlı olarak estradiol seviyesindeki artışın değerlendirilmesini esas alan dinamik bir over rezerve testidir. GnRH stimulasyonu sonrasındaki estradiol seviyesindeki artış miktarının over rezervi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. ART sikluslarında değişik eşik değerler kullanılarak yapılan eski çalışmalarda rezervi göstermekte belirgin faydası olmadığı görülmektedir (65,66).

IVF sikluslarında prospektif olarak yapılan bir çalışmada; GnRHa uygulanması sonrasında FSH, estradiol, FSH/LH oranları değerlendirilmiş ve sadece estradiol artış düzeyinin ovaryen stimulasyona verilen yanıt ile korele olduğu gösterilmiştir (67). Ravhon ve ark tarafından yapılan bir çalışmada bazal ve GnRH agonist ile stimulasyon sonrasındaki inhibin B değerleri toplamı ve estradiol değişiminin kontrollu ovaryen stimulasyona verilen yanıtla ilişkili olduğu gösterilmektedir (41).

Eksojen FSH Ovaryen Rezerv Testi (EFORT): Menstrual siklusun 3.günü ve 300 IU FSH enjeksiyonundan 24 saat sonrası ölçülen FSH ve estradiol düzeyleri tekrar belirlenmesi ile yapılan dinamik bir over rezerve testidir. Bazal FSH düzeyleri ve estradiol düzeyindeki artış hastanın kontrollu ovaryen stimulasyona verdiği yanıtla orantılı bulunmuştur (68).

.

Anti-Müllerian Hormon (AMH): AMH; müllerian inhibing substance (MİS) olarak da bilinmektedir. Transforming growth faktör-β ailesinden 140 kDa büyüklüğünde dimerik glikoprotein yapıdadır (69). Erkeklerde testiküler gelişimin başlangıcından puberteye kadar sertoli hücrelerinden, dişilerde ise daha az miktarlarda granulosa hücrelerinden doğumdan menapoza kadar sentezlenmektedir (70,71).

AMH'nın etkisini sadece reprodüktif organlarda gösterdiği düşünülmektedir. En önemli ve belirgin etkisi mülleryan kanalın regresyonunu sağlamaktır. Yokluğunda müllerian kanaldan fallop tüpleri, uterus ve vajen'in üst 1/3'ü gelişmektedir (72,73).

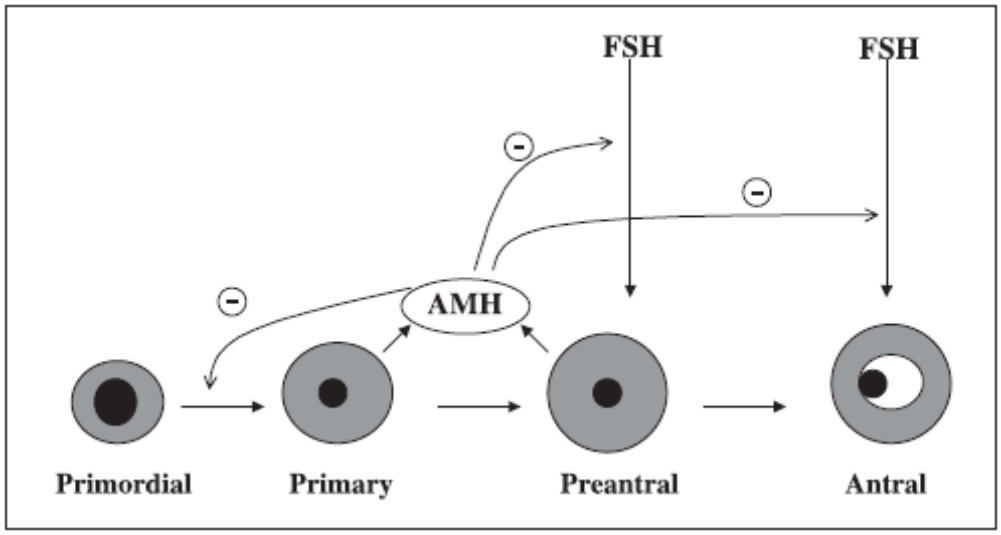
AMH preantral ve küçük antral foliküllerin granuloza hücrelerinden, pitüiter FSH'nın etkisiyle, dominant folikül olarak seçilebilecek büyüklüğe ve farklılaşmaya ulaşılıncaya kadar sentezlenmektedir. İnsanlarda bu olay folikül 4-6 mm büyüklüğe ulaşılıncaya kadar gerçekleşmektedir. AMH, teka ve atretik foliküllerden sentezlenmemektedir (74,75).

Son çalışmalarda preantral, geç pre-antral ve preovulatuar foliküllerde AMH mRNA seviyelerinin oositin gelişim evreleriyle paralel olarak düzenlendiğini ve AMH'nın intra ve inter-foliküler koordinasyonda önemli görevleri olduğu gösterilmiştir (76). AMH sentezini düzenleyen mekanizmalar tam olarak bilinmemekle beraber granulosa hücreleri üzerinde AMH receptörleri tespit edilmesi, ovaryen fizyolojide etkin rolü olduğunu düşündürmektedir (77).

AMH'nın serine tironine kinaz reseptorlerini kullanan iki farklı reseptörü bulunmaktadır (AMHR Tip1,AMHR Tip 2). AMHR 2 mülleryan kanal mezenkiminde bulunmaktadır. Bu reseptörün fonksiyon bozukluğu, tıpkı AMH yokluğu gibi, kalıcı mülleryan kanal sendromuna yol açabilmektedir. Ratlarda AMHR 2 granulosa ve teka hücrelerinde de izlenmektedir (78,79). AMHR 1 özellikleri ve işlevi günümüze kadar tam olarak tespit edilememiştir.

Primordial foliküllerin gelişmesi negatif ve pozitif faktörlerin etkisi altındadır. AMH erken foliküler gelişim üzerine negatif etkileri olan bir faktördür. Homozigot AMH knock-out dişi ratlarda daha fazla sayıda büyüyen preantral ve küçük antral folikül saptansa da bu ratlarda primordial folikül stoklarının da daha erken yaşta tükendiği gözlenmiştir.

AMH etkilerinin direkt primordial hücreler üzerinden olup olmadığını göstermek için yapılan bir çalışmada, AMH bulunmayan rat overini AMH bulunan yapay ortama bırakılmış ve iki gün sonra yapılan incelemede büyüyen folikül sayısının %50 azaldığı gözlenmiş. Dolayısıyla AMH'nın primordial oositleri direk olarak etkilediği ve AMH'nın primordial folikül gelişiminin aktivasyonunu ve preantral foliküllerin büyümesini azalttığı sonucu çıkartılmıştır (80). AMH'nın foliküller üzerinde düzenleyici rolü Şekil I' de gösterilmiştir.



Şekil I

İn vivo ve in vitro çalışmalar AMH eksikliğinde foliküllerin FSH'ya daha duyarlı olduğunu göstermektedir. Düşük ve yüksek FSH konsantasyonları ile yapılan çalışmalarda AMH'dan yoksun fareler AMH mevcut farelerle karşılaştırıldığında hem sayısal hem de gelişimsel olarak daha iyi yanıt alındığı gözlenmiştir (81). Clemente ve ark. eksojen AMH'un kültür ortamında granuloza hücrelerinde aromataz aktivitesini ve LH reseptor sayısını azalttığını göstermişlerdir (82). Bu çalışmalar ışığında AMH'nın ovaryen foliküllerin FSH'ya verdiği yanıtı belirleyen faktörlerden birisi olduğu sonucu çıkmaktadır. Başka bir çalışmada ise AMH'nın farelerde 1.mayoz bölünmeyi inhibe ettiği gösterilmiştir (83).

AMH insan granulosa-luteal hücrelerin proliferasyonunu bloke ettiği ve foliküler sıvı konsantrasyonlarının granulosa hücrelerindeki mitoz indeksi ile ters orantılı olduğu gösterilmiştir (84,85).

AMH düzeyi hayatları boyunca kadınlarda erkelerdenden daha düşük düzeylerdedir. Yenidoğanda AMH seviyeleri tesbit edilemeyecek kadar düşüktür; 2-4 yaşlarında hafif yükselme olur, sonrasında puberteye kadar stabil seyreder. Yaş ilerledikçe foliküler rezerve azalmasına bağlı olarak serum AMH düzeyleri düşmekte, menapozda çok düşük veya tespit edilemeyecek düzeylere gerilemektedir (86).

Serum AMH seviyeleri menstrual siklusun farklı fazları sırasında değişiklik göstermemektedir. Bu özelliği diğer over rezerve testlerinden farklı olarak siklusun herhangi bir gününde değerlendirilme yapma avantajı sağlamaktadır (87,88). Seviyelerindeki minimal fluktuasyonlar siklik olmayan küçük folikül büyümesinden dolayı oluşabilmektedir.

Ovaryen folikül havuzunun azalması ve oosit kalitesinin düşmesi nedeniyle üreme fonksiyonları yaşla beraber azalmaktadır. AMH over rezervini ölçen bir test olarak son yıllarda kullanılmaya başlamıştır. Spontan menapoz ve ooferektomi sonrasında AMH düzeylerinin tespit edilemeyecek düzeylere düşmesi AMH'nun tamamen over kaynaklı olduğunu göstermektedir (86,89,90).

Siklus 3.gününde saptanan bazal AMH seviyeleri yaşla beraber düşmektedir. De Vet ve ark yaptıkları bir çalışmada 1.1 - 7 yıl boyunca takip edilen olgularda AMH seviyelerinin ortalama %38 düştüğünü; buna karşın aynı süre içerisinde antral folikül sayısı, bazal FSH düzeyi ve inhibin B düzeylerinde değişiklik olmadığını saptamışlardır (91). AMH'nun over rezervini gösteren diğer belirteçlere oranla yaşa bağlı oosit rezervini daha iyi gösterdiği düşünülmektedir.

İlerleyen yaşla beraber diğer over rezervi parametrelerinde değişiklik olmadan ilk olarak AMH düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (92).

AMH düzeyleri kontrollü ovaryen stimulasyon sırasında verilen FSH'nın etkisiyle azalmaktadır (88,93). Baarends ve ark ratlarda FSH'nın AMH ve AMHR 2 ekspresyonunu azaltığını göstermişlerdir (75). Alternatif olarak aynı araştrıcılar suprafizyolojik estradiol seviyelerinin overde AMH ve AMHR2 mRNA sentezini azaltarak AMH seviyelerinin azalmasına katkıda bulunduğu bildirmişlerdir (75). Yine başka bir çalışmada kontrollü ovaryen hiperstimulasyon sırasında AMH seviyeleri küçük antral folikül sayısıyla korelasyon gösterdiği; AMH'nun multiple foliküler maturasyon sonrası küçük antral folikül sayısında azalmaya bağlı olarak ve daha büyük foliküllerden çok az salgılanması nedeniyle sekresyonunun KOH sırasında azalabileceği sonucuna ulaşılmıştır (94).

Foliküller antral folikül oluşuncaya kadar gonadotropinlerden bağımsız olarak gelişmekte, hipofizektomize ve hipopituiterize olan olgularda gonadotropinlerin mutlak eksikliğine rağmen antral folikül gelişimi olabilmektedir (95). Bu bilgi, AMH'nın sekonder amenore ayırıcı tanısında hipogonadotrpik hipogonadizm ile hipergonadotropik hipogonadism ayrımında yardımcı olabilmesine olanak vermektedir. Gebelikte gonadotropin düzeyleri oldukça düşük olmasına rağmen gebelik öncesine göre AMH düzeylerinde değişiklik olmadığı gözlenmesi AMH'nın plasentadan sentezlenmemekte olduğunu göstermektedir. Gebelikte ve puerperiumda AMH düzeyleri değişmemektedir (96).

AMH düzeyleri polikistik over sendromunda (PKOS) hormonal olarak normal kontoller ile karşılaştırıdığında artmıştır. AMH yüksekliğinin PKOS'un tanımlanmasında sensitivitesi % 92, spesifisitesi % 67 olarak bulunmuştur (97,98,99). Literatürde PKOS tanısal kriterlerinden ultrasonografik olarak gözlenen folikül sayısının yerine kulanılabileceğni bildiren çalışmalar bulunmaktadır (100). Amenoreik ve oligomenoreik PKOS hastaları karşılaştırıldığında; amenoreik grupta AMH seviyelerinin oligomenoreik gruptan anlamlı şekilde yüksek olduğu ve AMH'nın anovulasyon etyopatogenezinde rolü olabileceği düşünülmüştür (101).

AMH sadece granulosa hücrelerinden sentezlenmektedir, bu nedenle granüloza hücreli tümörlerde (GHT) belirteç olarak kullanılabilmektedir. GHT saptanan olguların %76-93' ünde AMH yüksek bulunmuştur (102,103). Tümör rezeksiyonunu takiben yapılan seri ölçümlerde AMH'un rekürensin klinik olarak tespitinden ortalama 16 ay önce yükselmeye başladığı gösterilmiştir (89). AMH, GHT rekürenslerin erken tesbitinde kullanılabilmektedir.

Kötü Yanıtlı Olgu Kriterleri:

Literatürde kötü yanıtlı hasta grubunu tanımlayan genel kabul görmüş tek bir tanım olmamakla beraber bir birinden farklı çok sayıda kötü ovaryen yanıt tanımı yapılmıştır.

Birçok yazar ultrasonografide matür folikül sayısı 2 –5'ten den az olan hastaları kötü yanıtlı olarak kabul etmiştir (104-113). Diğer yazarlar kötü ovaryen

yanıt tanımını erken foliküler fazda minimum serum FSH değerlerinin 6,5 – 15 mIU/mL üzerinde olmasına göre yapmışlardır (114-120).

Önceki KOH sikluslarında ulaşılabilen maksimum estradiol (E2) değerleri de kötü yanıtlı hastaların belirlenmesinde kullanılmıstır (105, 109, 111, 113, 114, 119, 121-124). Bazı çalışmalarda kötü ovaryen yanıt bir önceki siklusta kullanılmış olan minimum kümülatif doz veya indüksiyon süresini kullanılarak tanımlanmışdır (104, 122, 123, 125, 126). Bazı araştırmacılar ise kriter olarak toplanan matür oosit sayısını (<4 veya <6) kullanmışlardır (121, 127).

Kötü ovaryen yanıt tanımlanırken hasta yaşıda kriter olarak kullanılmıştır. 40 yaş üzerinde hasta yaşı olması, kullanılabilir over folikül sayısında azalma ve oosit kalitesinde azalmaya yol açması nedeni ile kötü yanıt kriteri olarak kullanılmıştır (128, 129). Kötü over yanıtı olarak alınan kriterler ve hangi çalışmada kullanıldığı Tablo I'de özetlenmiştir.

Tablo I Literatürde kötü ovaryen yanıt kriterleri

Kriter	**Referans**
Matür follikül sayısı	
<2	104,105
<3	106,109,112,113
≤4	110,111
<5	107,108
Erken Folliküler FSH Düzeyleri (mIU/ml)	
>6,5	115
>9	121
>12	117
>15	105,114,116,120
Artmış FSH/LH Oranı	115
Maksimum E2 Düzeyi (pg/ml)	
<100 (5.gün)	111
<300	109
<400	119,120
<500	105,123,113
<660	130
Yaş>40	117
Ortalama günlük Gonadotropin Dozu	
>300 IU	104,121,125,126
Toplam Gonadotropin Dozu	
>25 ampul	117
>44 ampul	131
Gonadotropin Tedavi Süresi	104,117,120
Toplanan Matür Oosit Sayısı	
≤3	113
≤4	127
<6	132
Tek Dominant Follikül	113

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Populasyonu:

Çalışmamıza 2008 Kasım ile 2009 Şubat ayları arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D. Tüp Bebek Merkezine başvuran ve infertilite değerlendirmeleri sonucunda IVF tedavisi planlanan 98 hasta dahil edilmiştir. Çalışma prospektif ve tek merkezli olarak planlanmıştır. Tüp bebek tedavisi için başvuran çiftler çalışma hakkında bilgilendirilerek onam alınmıştır. Çalışma öncesinde Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi yerel etik kurulunca çalışmanın gerçekleştirilmesinde etik sakınca olmadığına karar verilmiştir. İlgili belge ekte sunulmaktadır.

Çalışma Düzeni:

Hastaların genel fizik ve jinekolojik muayaneleri yapıldıktan sonra infertiliteye neden olan faktörlerin araştırılması için uygun testler yapılmıştır. Tubal faktör histerosalfingografi ile değerlendirilmiştir. Belirgin erkek faktörü olan hastalarda tubal faktör ayrıca değerlendirilmemiştir. Erkek faktörün değerlendirilmesi için hastaların eşlerine rutin olarak merkezimiz androloji laboratuarında sperm analizi yapılmıştır. Normoovulatuar hastalarda menstrüel siklusun 21. günü serumda progesteron düzeyini belirlemek amacıyla venöz kan alınmış; ayrıca menstrüel siklusun 3.gününde serumda bazal FSH, LH, estradiol düzeylerini, tiroid fonksiyonları ve prolaktin düzeylerini belirlemek amacıyla venöz kan alınmıştır. Servikovajinal smear, kan grubu ve Rh tayini ve tam kan

sayımı, HbS antijen, antiHbS, antiHCV ve antiHIV antikor testleri rutin olarak tüm hasta ve eşlerinde yapılmıştır. AMH dışındaki kan örnekleri her hasta için ayrı olarak biyokimya laboratuarında çalışılırken, AMH analizi için bazal kan örneklemesi yapılırken ayrıca polypropilen tüplere kan alınarak 2000 devir/ dakikada santrifüj edilmiş ve -60˚C de daha sonra bir seferde çalıştırılmak üzere saklanmıştır. Tüm hastalarda tedavi öncesi siklusun erken foliküler fazında (mentrüasyonun 2 veya 3. günü) bazal transvajinal ultrasonografi yapılmış ve uterus boyutları, over boyutları, folikül sayısı ve çapları ölçülmüştür. Bazal sonografik değerlendirme ve folikül gelişimi takibi tüm hastalarda ALOKA (SSD 1700, Japan) marka ultrasonografi cihazı ve 5 MHz' lik vajinal prob kullanılarak yapılmıştır.

Çalışmaya alınma kriterleri:

1) 18-42 yaşlar arasında olmak

2) Klinik ve biyokimyasal olarak polikistik over tanısı almamış olmak

3) Tiroid, adrenal gibi diğer endokrin bozuklukların olmaması

4) Geçirilmiş over cerrahisi olmaması

5) Erkek faktörü- azospermi tanısı alıp TESE işlemi sonrasında sperm elde edilen ve embriyo transferi yapılan hastalar da çalışma grubuna alınmıştır. Bu özelliklere sahip ve IVF tedavisi uygulanıp, embriyo transferi kötü ovaryen yanıt dışında bir nedenle yapılamayan hastalar çalışma dışında tutulmuştur.

Hormon Ölçümleri

FSH ölçümleri serumda kantitatif olarak "Chemi-luminescent Microparticle Immunoassay" (CMIA) yöntemiyle (Abbott laboratories, Illinois, USA) gerçekleştirildi. En düşük ölçülebilen FSH düzeyi 0.05 mlU/ml olup, intraassay değişkenlik (CV) %2.6 ve interassay değişkenlik (CV) %3.3 olarak bildirilmiştir.

Estradiol serum düzeyleri kantitatif olarak "Chemi-luminescent Microparticle Immunoassay" (CMIA) yöntemiyle (Abbott laboratories, Illinois, USA) gerçekleştirildi. Ölçülebilir en düşük E_2 değeri 5.00, en yüksek E_2 değeri 5000 pg/ml olarak tespit edilmiş olup intraassay değişkenlik (CV) % 2.3, interassay değişkenlik (CV) % 2.4 olarak bildirilmiştir.

. LH ölçümleri serumda kantitatif olarak "Chemi-luminescent Microparticle Immunoassay" (CMIA) yöntemiyle (Abott laboratories, Illinois, USA) gerçekleştirildi. İntraassay değişkenlik (CV) %3.1 ve interassay değişkenlik (CV) % 3.4 olarak bildirilmiştir.

AMH ölçümleri kantitatif olarak " Enzyme-linked immunosorbent assay" (ELISA) yöntemiyle (Diagnostic Systems Laboratories, Webster, Texas, U.S.A) gerçekleştirildi. Ölçülebilir en düşük AMH değeri 0,017 ng/ml olarak tespit edilmiş olup 0,144ng/ml de intra-assay değişkenlik (CV) % 4.6 inter-assay değişkenlik % 5.2 olarak bildirilmiştir.

Hasta Değerlendirilmesi ve IVF Protokolleri

Hastaların ilk değerlendirilmesinden sonraki ilk üç ay içinde yaş, antral folikül sayısı ve bazal FSH düzeyleri göz önüne alınarak GnRH agonist uzun luteal, microdose flare-up veya antagonist pitiüter supresyon protokollerinden uygun olanı belirlendi. Protokol öncesi siklusun 10. ve 17. günleri arasında her hastaya ve eşine günde iki kez bir hafta boyunca doksisiklin 100 mg'lık antibiyotik tedavisi uygulandı. GnRH agonist uzun luteal protokol uygulanan olgularda gonadotropin başlanmadan önceki siklusun mid-luteal fazında (21.gün) 1-0.5 mg/gün leuprolide asetat en az 14 gün cilt altına uygulandıktan sonra estradiol seviyesi 50 pg/ml altında ve menstrüasyon kanaması olan hastalara uygun dozda gonadotropin başlandı. Leuprolide asetat (Lucrin flakon® 1mg Abbott, Türkiye) dozu yarıya düşürülerek gonadotropin tedavisi boyunca aynı dozdan devam edildi. Mikrodose flare-up protokolü uygulanan olgularda gonadotropin öncesi siklusta menstrüasyonun 1. ve 21. günleri arasında etinil estradiol 0,03 mg + levonorgesterol 0,150 mg içeren oral kontraseptif (Microgynon tablet®, Schering AG, Türkiye) günde bir tablet başlandı. Hastalara oral kontraseptif tedavisinin 20. günü yapılan transvajinal ultrasonografide folikül kisti saptanmaması durumunda 2 gün sonra leuprolide asetat (Lucrin flakon® 1mg Abbott, Türkiye) 2 X 40 microgram/ gün s.c başlandı. Leuprolide asetat başlandıktan sonraki gün uygun dozda gonadotropin stimulasyonuna başlandı. Gonadotropin stimülasyonu boyunca hCG gününe kadar aynı dozdan pitüiter supresyona devam edildi. Antagonist protokol uygulanan olgular pitüiter supresyon yapılmaksızın menstrüel siklusun 3. günü hormonal ve sonografik

olarak değerlendirildi. Sonografik olarak foliküler yada korpus luteum kisti saptanmayan ve hormon düzeyleri normal sınırlarda olan hastalara siklusun 3.gününden başlayarak uygun dozda gonadotropin stimülasyonuna başlandı. Önde giden folikül 14 mm çapa ulaştığında cetrorelix 0,25 mg/gün s.c (Cetrotide flakon®, Merck Serono, İstanbul, Türkiye) olarak hCG gününe kadar gonadotropinlerle birlikte kullanıldı. Siklus başında antagonist protokolü planlanan; ancak takipleri sırasında erken folikül büyümesi saptanan ve LH kaçağı olmadığı tespit edilen hastalar sadece gonadotropin kullanılan olgular olarak değerlendirildi. Klomifen sitrat + hMG protokolü uygulanan olgularda siklusun 3. günü overlerde ksitik yapı saptanmamışsa, pitüiter supresyon yapılmaksızın klomifen 100mg/ gün başlandı ve 4 gün devam edildi. Klomifen tedavisinin 4.gününde 150 IU HMG/gün eklenmiştir. hCG gününe kadar uygun HMG dozuna devam edildi.

Tüm hastalarda gonadotropin dozu bireysel olarak belirlenmiştir. 150-450 IU/gün rekombinant FSH (Gonal–f® RFF Pen -follitropin alfa injection, Merck Serono, İstanbul, Türkiye) veya hMG (Menogon 75 U ampul, Ferring, İstanbul, Türkiye veya Merional 75 IBSA, İstanbul, Türkiye) tek başına veya kombine olarak maksimum doz 450 IU/ gün olacak şekilde uygulanmıştır. Folikül gelişiminin takibi amacıyla gonadotropin tedavisinin 5. gününde ultrasonografi ve estradiol kan seviyelerine göre hastalar değerlendirilip gonadotropin doz ayarlaması yapılmıştır. Yeterli gonadotropin stimulasyonuna rağmen dominant folikül (>14mm) gelişmeyen hastalarda siklus iptal edilmiştir. Kötü ovaryen yanıt

kriteri olarak; folikül gelişmemesi üzerine siklusun iptal edilmesi veya ≤3 oosit toplanması olarak belirlenmiştir.

Ultrasonografik takipler sonucunda iki veya daha fazla folikül >18 mm olduğunda rekombinant hCG (Ovitrelle® PreFilled Syringe-choriogonadotropin alfa injection, 250 mikrogram, Merck Serono, İstanbul, Türkiye) uygulanmıştır.

Yumurta Toplanması, Embriyo Gelişimi ve Embriyo Transfer İşlemleri:

Hastalara hCG uygulamasını takiben 35-36 saatler arasında anestezi altında, litotomi pozisyonunda transvajinal yoldan oosit toplama işlemi uygulanmıştır. Oosit toplanma işlemi sonrasında elde edilen oositlere uygun laboratuar işlemleri yapılmış ve sadece metafaz II maturasyon gösteren oositlere fertilizasyon işlemi uygulanmıştır. Aynı gün hastanın eşinden mastürbasyon yoluyla elde edilen spermler androloji laboratuarında likefaksiyon sonrası sayı ve motilite değerlendirilmiş ve swim-up yada gradient yöntemlerinden uygun olanı kullanılarak sperm hazırlanmıştır. TESE ile elde edilen sperm örnekleri ise gradient yöntemi ile hazırlanmıştır. Her hastada kocasının spermleri kullanılarak sadece intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) ile fertilizasyon işlemi yapılmıştır. Fertilizasyon ertesi gün embriyoloji laboratuarında değerlendirilmiş ve embriyo gelişimine bağlı olarak 2. yada 3. gün ultrason eşliğinde embriyo transferi uygulanmıştır. Hastanın yaşı ve elde edilen embriyoların sayısı ve kalitesi göz önüne alınarak 1-3 arası embriyo transfer edilmiştir. Üçten fazla embriyonun geliştiği olgularda öncelikle grade 1-2 embriyolar transfer için tercih edilmiştir. Tüm hastalara luteal destek sağlamak amacıyla yumurta toplama

gününden 1 gün sonra başlayarak intravaginal progesteron jel (Crinone® %8 gel, Merck Serono, İstanbul, Türkiye) uygulanmıştır. Ayrıca tüm hastalara yumurta toplama gününden başlayarak embriyo transfer gününe kadar oral doksisilin günde iki kez ve oral prednizolon 8 mg./gün başlanmıştır. Gebelik oluşan hastalarda vaginal progesteron uygulamasına 10. gebelik haftasına kadar devam edilmiştir.

Gebelik Tanımı ve Tespiti

Embriyo transferinden 12 gün sonra serumda β- HCG tayini yapılarak gebelik tespit edilmiştir. β- HCG pozitif gelmesine rağmen ultrasonda gestasyonel kese gözlenmeden kaybedilen olgular biyokimyasal gebelik olarak değerlendirilmiştir. β- HCG testi pozitif gelen hastalara iki hafta sonra ultrasonografi yapılmış ve ultrasonografik olarak gestasyonel kese varlığı klinik gebelik olarak tanımlanmıştır. Gestasyonel kese gözlendikten sonra olan düşükler klinik abortus olarak değerlendirilmiştir.

İstatistik Değerlendirme

Verilerin değerlendirilmesi SPSS 11.0 paket programı (Statistical Package for the Social Sciences – SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) kullanılarak yapılmıştır. Tüm veriler ortalama ± SD (±Standart Deviasyon) şeklinde bildirildi. Sayısal değişkenler için parametrik testler, kesikli değişkenler için ise parametrik olmayan testler kullanılmıştır. Gruplar arası farkların istatistiksel analizleri parametrik testlerden t-test ve nonparametrik testlerden Mann-Whitney U testi

kullanılarak değerlendirilmiştir. Gruplar arasında oranların karşılaştırılması için $\chi 2$-kare testi kullanılmıştır. Over rezervi ile ilişkili değişkenlerin birbirleri arasındaki ilişki Pearson korelasyon analizi ile değerlendirilmiştir. Kontrollü ovaryen hiperstimulasyona alınan yanıt ile ovaryen rezervi gösteren sonografik ve hormonal belirteçler arasındaki ilişkiyi ortaya koyabilmek amacıyla siklus sonrası olguları iyi ovaryen yanıtlı ve kötü ovaryen yanıtlı olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. Ovaryen yanıt, siklus iptali ve klinik gebelik için gruplar arasındaki karşılaştırmalardan istatistiksel olarak anlamlı çıkan parametreler regresyon analizine konularak bu değişkenlerin prediktif değeri değerlendirilmiştir. Regresyon metodu olarak değişkenlerin tek bir seferde analize sokulduğu "enter" metodu kullanılmıştır. Over rezervi olarak kullanılan testler ayrıca ROC (Receiver Operator Curve) analizine sokularak "Area Under Curve" verileri değerlendirilmiş, bazı değişkenler için eşik değerler saptanarak sensitivite ve spesifisiteleri hesaplanmıştır. Tüm karşılaştırmalarda $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Ekim–Şubat 2009 tarihleri arasında kliniğimizde IVF tedavisi başlanan, toplam 98 primer infertil olgu prospektif olarak çalışmaya dahil edilmiştir. İnfertilite nedeni olarak 41 olguda (% 41,8) açıklanamayan, 34 olguda (% 34,6) ciddi erkek faktör, 20 olguda (% 20,4) tubal faktör ve 3 olguda (%3) anovulasyon tespit edilmiştir. 57 hastada GnRH agonist uzun protokolü (% 58), 13 hastada oral kontraseptif ön tedaviyi takiben mikrodoz flare-up protokolü (% 13), 18 hastada GnRH antagonist protokolü (% 19), 8 hastada klomifen sitrat + hMG (% 8) ve 2 hastada (% 2) ise sadece gonadotropin protokolleri kullanılmıştır. Protokol seçiminde hastaların bazal FSH, bazal AFS ve yaşları göz önüne alınarak protokol belirlenmiştir.

Hastaların demografik, sonografik ve hormonal özellikleri Tablo II' de gösterilmiştir.

Tablo II Çalışmaya alınan hastaların demografik, sonografik ve hormonal özellikleri

	Ortalama ± SD	Aralık (min-maks)
Kadın yaşı (yıl)	32,9 ±5,7	19-43
Erkek yaşı (yıl)	36,5 ± 7,0	23-55
İnfertile süresi (ay)	83,2 ± 61,9	10-300
Vücut kitle indeksi (kg/m²)	24,2 ± 5,0	20-35
Antral folikül sayısı	8,4 7± 4,8	2-22
Bazal FSH (mIU/ml)	7,8 ± 4,9	2-23
Bazal E2 (pg/ml)	51,6 ± 42,9	10-150

Kontrollü ovaryen hiperstimulasyona alınan yanıt ile ovaryen rezervi gösteren sonografik ve hormonal belirteçler arasındaki ilişkiyi ortaya koyabilmek amacıyla siklus sonrası olgular iyi ve kötü ovaryen yanıtlı olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. 98 siklustan 16'sı kötü ovaryen yanıt nedeniyle iptal edilmiş; 82 hastada embriyo transferi yapılarak tedavi tamamlanmıştır. Toplanan oosit sayısına göre 82 hastanın 14'ünde 3 veya daha az oosit toplanmış (kötü ovaryen yanıt), 70'inde 4 ve daha fazla oosit (normal ovaryen yanıt) toplanmıştır. Siklus iptali olan hastalar ve 3 veya daha az oosit toplanan hastalar birlikte değerlendirildiğinde 30 hasta da (% 30.6) kötü ovaryen yanıt tespit edilmiştir. Over rezerv testlerinden çalışmamızda değerlendirilen AHM, bFSH, bazal AFS, yaş, maximum E_2 düzeyi ve toplanan oosit sayısı ile olan istatistiksel olarak anlamlı korelasyonlar Tablo III'te gösterilmiştir.

Tablo III AMH, yaş, bazal AFS, bazal FSH, maksimum E_2 ve toplanan oosit sayısı arasındaki korelasyonların değerlendirilmesi

	Yaş *r* *P*	**bFSH** *r* *P*	**Maks E_2** *r* *P*	**Toplanan oosit** *r* *P*	**bAFS** *r* *P*
AMH	-,442 ,0001	-,308 ,002	,503 ,0001	,711 ,0001	,718 ,0001
Yaş		,217 ,030	-,364 ,0001	-,573 ,0001	-,510 ,0001
B FSH			-,428 ,0001	-,394 ,0001	-,436 ,0001
Maks E_2				-,410 ,0001	-,436 ,0001
Toplanan oosit					,730 ,0001

AMH düzeyleri, maksimum E_2 , toplanan oosit sayısı, bAFS ile pozitif korelasyon göstermekte iken, bFSH, yaş ile istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon göstermektedir. Bazal FSH düzeyleri; maksimum E_2, toplanan oosit sayısı, bFSH, bAFS ile negatif korelasyon göstermektedir. Bazal AFS ise AMH ve toplanan oosit sayısı sayıları ile pozitif korelasyon, yaş, bFSH, maksimum E_2 ile negatif korelasyon göstermektedir.

Ovaryen yanıt ile ilgili bulgular:

Kötü ovaryen yanıt gösteren olgularla ovaryen yanıtı normal olan olguların hormonal, sonografik, demografik ve siklus sonrası yanıtlarının karşılaştırılması Tablo IV' te gösterilmiştir.

Tablo IV Ovaryen yanıta göre hasta ve siklus özelliklerinin karşılaştırılması

	Kötü ovaryen yanıt (n=30)	**Normal ovaryen yanıt (n=68)**	***P* değeri**
AMH (ng/ml)	0,7 ± 0,1	3,3 ± 3,1	<0,001
Yaş (yıl)	36,1 ± 5,0	31,6 ± 5,5	<0,001
Vücut kitle indeksi (kg/m²)	22,9 ± 1,6	26,0 ± 7,9	NS
Bazal Antral folikül sayısı	4,0 ± 2,6	10,2 ± 4,2	<0,001
Bazal FSH (mIU/ml)	11,5 ± 7,2	6,3 ± 2,1	<0,001
Bazal E_2 (pg/ml)	53,4 ± 52,8	50,8 ± 38,6	NS
İnfertile süresi (ay)	90,0 ± 69,1	80,3 ± 58,9	NS
Maksimum E_2 (pg/ml)	562,5 ± 559,2	1856,7 ± 1099,7	<0,001
hCG günü ≥17 mm fol. Sayısı	1,6 ± 0,74	3,4 ± 1,8	<0,001
hCG günü 15-17 mm fol sayısı	1,3 ± 1,1	5,2 ± 2,7	<0,001
hCG günü 10-14 mm fol. Sayısı	1,2 ± 1,6	4,59 ± 3	<0,001
Metafaz II oosit Sayısı	1,3 ± 0,9	11,2 ± 6,3	<0,001
Toplam oosit sayısı	1,8 ± 1,1	14,0 ± 7,2	<0,001
Transfer olan embriyo adeti	1,5 ± 0,8	2,3 ± 0,9	<0,001
Transfer olan grade1 embryo	0,7 ± 0,9	2,2 ± 1,2	<0,001

Kötü ovaryen yanıtlı hastaların yaşları, bazal FSH düzeyleri, istatistiksel olarak anlamlı şekilde ovaryen yanıtı normal olanlardan daha yüksek, AMH düzeyleri ve bazal antral folikül sayıları kötü over yanıtlı olgularda daha düşük olarak saptanmıştır (p<0,001). Her iki grup arasında infertilite süresi, bazal E_2 düzeyi, vücut kitle indeksi açısından fark saptanmamıştır. Siklus özellikleri her iki grup arasında karşılaştırıldığında; siklus sonrası maksimum E_2 düzeyleri, hCG günü gözlenen toplam folikül sayıları, toplanan oosit sayısı, metafaz II oosit sayısı, transfer edilen embriyo adeti, transfer edilen grade 1 embriyo adeti istatistiksel olarak anlamlı şekilde kötü ovaryen yanıtlı olgularda daha düşük saptanmıştır. (p<0,001)

Ovaryen stimulasyon yanıtının ön görülmesinde kullanılan değişkenlerin uni- ve multiple logistik regresyon analizi Tablo V'te görülmektedir. Regresyon analizine kötü ve iyi yanıt veren hastalar arasında anlamlı fark olduğu gösterilen değişkenler (kadın yaşı, bazal FSH, AMH ve AFS) konulmuştur. Univariate analizde bazal FSH ve yaşın sensitivitesinin (% 26 ve % 46) AMH ve AFS'ye (% 80ve % 76) göre daha düşük olduğu; spesifisitenin ise yaş ve bazal FSH'da (% 97) AMH ve AFS'ye (% 90 ve % 87) göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Toplam tanısal gücü yansıtan prognostik güvenilirlik oranlarının ise en yüksek AMH'da (% 87) olduğu görülmektedir. Univariate regresyon analizi sonuçlarına göre ovaryen stimulasyona verilen yanıtı ön görmede AMH düzeyleri diğer belirteçlerden ve yaştan daha etkin olduğu bulunmuştur. Multivariate analiz ile diğer değişkenler eklenerek birlikte değerlendirildiğinde; ovaryen yanıtı ön

görmede AFS'nın bağımsız tek değişken olduğu; buna karşın multivariate analiz ile AMH'nın prognostik etkinliğinin değişmediği gözlemlenmiştir.

Tablo V Kontrollü ovaryen stimulasyona verilen kötü ovaryen yanıtı ön görmede kullanılan hormonal ve sonografik değişkenlerin uni- multiple regresyon analiz

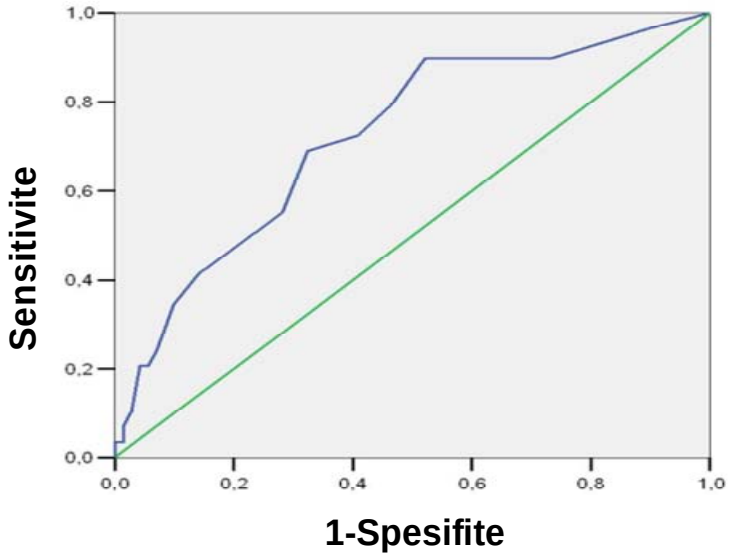
	OR	**95%Cİ**	**Sensitivite**	**Spesifite**	**Prognostik Güvenirlik**	***p* değeri**
AMH	0,23	0,11-0,48	80	90	87	<0,001
Yaş	1,18	1,07-1,29	26	97	76	<0,001
b FSH	1,40	1,18-1,66	46	97	82	<0,001
AFS	0,59	0,48-0,72	76	87	84	<0,001
AMH **+Yaş**	0,26 1,05	0,12-0,53 0,94-1,17	80	88	86	<0,001 NS
AMH **+ b FSH**	0,36 1,18	0,17-0,69 1,04-1,40	73	93	87	<0,01 <0,05
AMH **+AFS**	0,76 0,64	0,34-1,67 0,47-0,87	83	87	86	NS <0,01
AMH **+Yaş** **+AFS** **+bFSH**	0,82 1,02 0,69 1,15	0,40-1,73 0,90-1,15 0,51-0,93 0,97-1,36	76	92	88	NS NS <0,05 NS

Over rezervi testlerinin kötü over yanıtını önceden belirlemedeki tanısal etkinlikleri ROC ve AUC (Area Under Curve) analizleri ile de değerlendirilmiştir. Tablo VI'da gösterilen AUC sonuçlarına göre; AMH ve AFS'nin kötü ovaryen yanıtın ön görülmesinde en etkin testler olduğu görülmektedir. Kötü ovaryen yanıtlı hastalarda AMH için ROC eğrisi Şekil II de gösterilmektedir.Yaş ve bazal

FSH, AMH ve AFS kadar etkin olmasa da kötü ovaryen yanıtın ön görülmesinde etkin testler olduğu görülmektedir.

Tablo VI Kontrollü ovaryen sikluslarında kötü ovaryen yanıtın ön görülmesinde kullanılan parametrelerin ROC analizi

	AUC(ROC)	95% CI	*P*
AMH	0,89	0,82-0,97	<0,001
Antral Folikül Sayısı	0,89	0,82-0,96	<0,001
Yaş	0,72	0,61-0,83	<0,001
Bazal FSH	0,77	0,65-0,89	<0,001



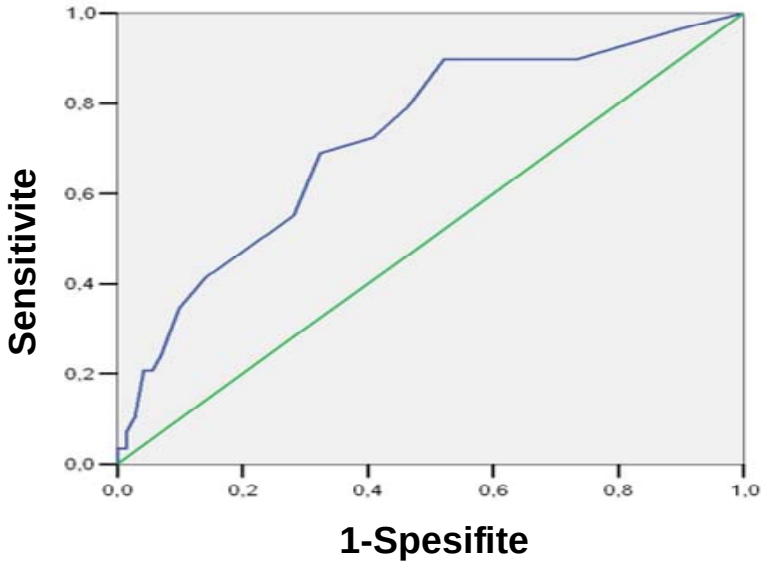
Şekil II Kötü Ovaryen Yanıtlı Hastalarda AMH İçin ROC Eğrisi (AUC=0,89)

ROC analizi sonucuna göre kötü ovaryen yanıtın ayırt edilmesinde en iyi AMH eşik değeri; % 86 sensitivite ve % 85 spesifisite ile 0,94 ng/ml olarak bulunmuştur. AMH değeri 0,94 ng/ml altında ve üstünde olan olgularda demografik ve klinik bulgular Tablo VII'de karşılaştırılmıştır. Saptanan eşik değerinin altındaki olgularda yaş, bFSH istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek, buna karşın AFS, maksimum E_2 düzeyi, toplanan oosit sayısı, MII oosit sayısı, transfer edilen oosit sayısı, transfer edilen grade 1 embryo sayısı istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Tedavinin asıl amacı olan klinik gebelik oranları göz önüne alındığında; AMH< 0,94 ng/ml olan 36 hastanın 4'ünde klinik gebelik elde edilmişken (% 11,1); AMH> 0,94 ng/ml olan 62 hastanın 25'inde (% 40,3) gebelik elde edilmiştir. Bu bulgular eşik değerinin altındaki olgularda gebelik şansının yaklaşık % 10 olduğu şeklinde yorumlanabilir. Oluşan tüm gebeliklerin % 13,8'i eşik değerin altında % 86,2' si eşik değerin üstünde bulunmuştur.Bu değerler istatistiksel olarak anlamlı fark içermektedir (p=0,02).

Kötü ovaryen yanıtlı hastalarda AFS için ROC eğrisi Şekil III' de gösterilmektedir. ROC analiz sonucuna göre kötü ovaryen yanıtın ayırt edilmesinde kullanılan en iyi AFS eşik değeri % 87 sensitivite ve % 86 spesifite ile 5,5 olarak bulunmuştur.AFS'nın etkinliği AMH ile benzerlik göstermektedir.

Tablo VII ROC analizi sonucunda bulunan AMH eşik değerine göre hasta özellikleri

	AMH<0,94 ng/ml (N=36)	**AMH>0,94 ng/ml (N=62)**	***P* değeri**
Yaş (yıl)	36,4 ± 4,9	30,9 ± ,1	<0,001
Bazal FSH (mIU/ml)	11,2 ± 6,6	5,9 ± 1,7	<0,001
Antral folikül sayısı	3,8 ± 2,5	11,0 ± 3,6	<0,001
Maksimum E_2 (pg/ml)	650,8 ± 580,1	1974,3± 1100,0	<0,001
Toplam oosit sayısı	3,6 ± 2,8	14,8 ±7,3	<0,001
MII oosit sayısı	2,5 ± 2,2	11,9 ± 6,3	<0,001
Transfer edilen embriyo sayısı	2,2 ± 1,1	2,9 ± 1,0	<0,01
Transfer edilen grade 1 embriyo sayısı	1,2 ± 1,4	2,2 ± 1,2	<0,01
Klinik gebelik oranı	%10,8	% 39,7	<0,01



,

Şekil III Kötü Ovaryen Yanıtlı Hastalarda AFS İçin ROC Eğrisi

(AUC=0,89)

Klinik Gebelik :

IVF/İCSİ tedavisi sonrasında 98 hastadan 29'unda (%29.6) klinik gebelik elde edilmiştir. Klinik gebelik elde edilen ve edilemeyen hastaların sonografik, demografik, hormonal ve siklus özellikleri Tablo VIII' de gösterilmektedir.

Tablo VIII Klinik gebelik elde edilen hastaların sonografik, demografik, hormonal ve siklus özelliklerinin gebelik elde edilemeyenlerle karşılaştırılması

	Klinik Gebelik (-) (n=69)	**Klinik Gebelik (+) (n=29)**	***P* değeri**
AMH (ng/ml)	1,9 ± 2,6	3,9 ± 3,1	<0,01
Yaş (yıl)	33,8 ± 6,0	30,8 ± 4,3	<0,01
Vücut kitle indeksi (kg/m²)	24,2 ± 5,0	23,3 ± 6,0	NS
bAFS	7,2 ± 4,3	11,1 ± 4,7	<0,001
bFSH (mIU/ml)	8,5 ± 5,5	6,1 ± 1,9	<0,05
Bazal E_2 (pg/ml)	56,1 ± 49,7	40,6 ± 4,5	NS
İnfertile süresi (ay)	87,1 ± 66,3	73,7 ± 49,4	NS
Maksimum E2 (pg/ml)	1320,5 ±1055,4	1883,8 ± 1246,8	<0,05
HCG günü ≥ 17mm fol. sayısı	2,7 ± ,5	3,5 ± 2,3	<0,05
hCG günü 15-17mm fol.sayısı	3,9 ± 2,7	5,2 ± 3,3	<0,05
hCG günü 10-14 mm fol. sayısı	3,2 ± 2,8	4,8 ± 3,3	<0,05
Mayoz II oosit Sayısı	7,39±5,36	12,31 ±8,50	<0,01
Toplam oosit sayısı	9,5 ± 6,6	15,1 ± 9,7	<0,01
Transfer edilen embriyo sayısı	2,8 ±1,0	2,7 ± 1,1	NS
Transfer edilen grade1 embryo sayısı	1,7 ± 1,4	2,4 ± 1,2	<0,05

Klinik gebelik elde edilen olgularda AMH düzeyi (p<0,01) ve bazal antral folikül sayısı (p<0,001) gebelik izlenmeyen olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek; kadın yaşı (p<0,01) ve bazal FSH düzeyleri (p<0,05) ise gebelik izlenmeyen olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük saptanmıştır.

Bazal E_2 ve infertilite süreleri açısından her iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Klinik gebelik elde edilen grupta maksimum E_2 düzeyi, sonografik olarak tespit edilen folikül sayısı ($p<0,05$), metafaz II oosit sayısı ($p<0,01$), toplanan oosit sayısı ($p<0,01$), transfer edilen grade 1 embriyo sayısı ($p<0,05$) anlamlı olarak daha yüksek tespit edilmiş ancak embriyo transfer sayısı açısından bir fark saptanmamıştır.

Tablo IX'da klinik gebeliğin ön görülmesinde kullanılan over rezervini ölçen değişkenlerin univariate ve multiple logistik regresyon analizi görülmektedir. Univariate analizin sonuçları değerlendirildiğinde; tüm değişkenlerin sensitivitesinin düşük olduğu, ancak AMH ve AFS'nin sensitivitelerinin yine de yaş ve bFSH'ya göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Tüm değişkenlerin spesifisitesi yüksek olarak tespit edilmiştir. AMH'nın diğer testler içinde spesifisite ve prognostik güvenirliliği en yüksek test olduğu görülmektedir. Multivariate analiz ile diğer değişkenler eklenerek birlikte değerlendirildiğinde; klinik gebeliği ön görmede AMH'nın etkinliğinin değişmediği gözlemlenmiştir.

Tablo IX Kontrollü ovaryen stimulasyon sonrası klinik gebeliği ön görmede hormonal ve sonografik değişkenlerin uni-multiple regresyon analizi

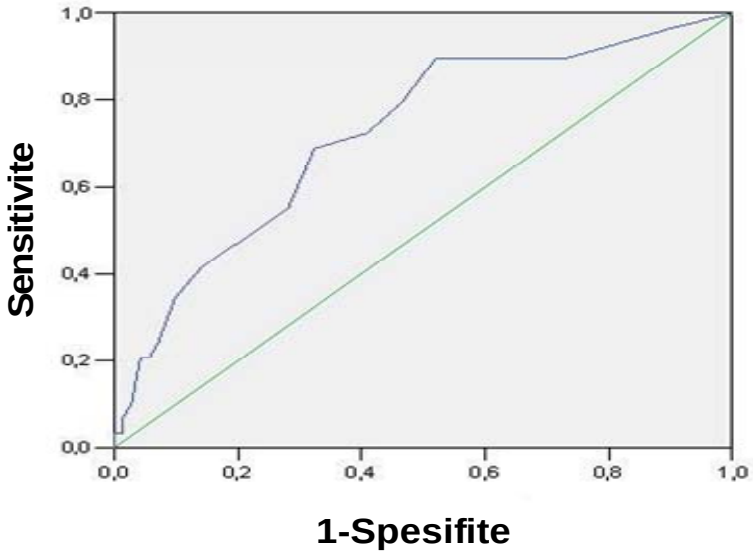
	OR	**95%Cİ**	**Sensitivite**	**Spesifisite**	**Prognostik Güvenirlik**	***p* değeri**
AMH	1,27	1,07-1,52	17,2	95,8	73	<0,01
Yaş	0,91	0,84-0,96	3,4	94,4	68	<0,05
bFSH	0,83	0,7-0,98	3,4	97,2	70	<0,05
AFS	1,20	1,08-1,36	24,1	93,0	73	<0,01
AMH	1,05	0,85-1,31	20	90,1	70	NS
+yaş	0,53	0,87-1,07				NS
+bFSH	0,89	0,74-1,07				NS
+AFC	1,12	0,96-1,30				NS

Over rezervi testlerinin klinik gebeliği önceden belirlemedeki tanısal etkinlikleri ROC ve AUC (Area Under Curve) analizleri ile de değerlendirilmiştir (Tablo X). AUC analizi sonuçlarına göre; AMH ve AFS'nin klinik gebeliğin ön görülmesinde en etkin testler olduğu görülmektedir. Tablo X'da gösterilen ROC analizi sonucuna göre bazal AMH ve bazal AFS ölçümlerinin klinik gebeliğin ön

görülmesinde etkin olduğu ancak bu etkinliğin kötü ovaryen yanıtın gösterilmesi kadar yüksek olmadığı görülmektedir. AMH ve bAFS ölçümleri benzer etkinliğe sahiptirler. Şekil IV'de klinik gebeliği öngörmede AMH için ROC eğrisi gösterilmektedir. Bu sonuçlar; yaş ve bazal FSH'nin, klinik gebeliğin ön görülmesinde AMH ve AFS kadar etkin olmasa da kullanılabileceğini göstermektedir.

Tablo X Kontrollü ovaryen sikluslarında klinik gebelik ön görmede kullanılan parametrelerin ROC analizi

	AUC(ROC)	**95% CI**	***P* değeri**
AMH	0,74	0,63-0,85	<0,001
bAFS	0,72	0,61-0,83	<0,01
Yaş	0,66	0,56-0,77	<0,01
bFSH	0,62	0,52-0,74	<0,05



Şekil IV Klinik Gebeliği Öngörmede AMH İçin ROC Eğrisi

(AUC=0,74)

Kötü ovaryen yanıtı ön görmek için ROC eğrisi kullanılarak bulunan eşik değeri (0,94ng/ml), klinik gebeliğin ön görülmesinde kullanıldığında % 86 sensitivite,% 45 spesifiteye sahip olduğu bulunmuştur.

Siklus İptali:

98 siklustan 16'sı kötü ovaryen yanıt nedeniyle iptal edilmiştir. Kötü ovaryen yanıt nedeniyle siklus iptali olan hastaların sonuçlarının karşılaştırılması Tablo XI'de gösterilmiştir.

Tablo XI Kötü ovaryen yanıt nedeniyle siklus iptali olan olguların özelliklerinin karşılaştırılması

	Siklus İptali (–) (n=82)	**Siklus İptali (+) (n=16)**	***p* değeri**
AMH (ng/ml)	2,9 ± 3,0	0,5 ± 0,8	<0,01
Yaş (yıl)	35,9 ± 4,9	32,4 ± 5,7	<0,05
Vücut kitle indeksi (kg/m²)	24,8 ± 5,9	22,8 ± 2,4	NS
bAFS	9,3 ± 4,6	3,7 ± 2,2	<0,001
bFSH (mIU/ml)	6,7 ± 2,9	13,9 ± 8,2	<0,001
Bazal E_2 (pg/ml)	50,6 ± 41,9	57,1 ± 50,1	NS
İnfertilite Süresi (ay)	85,6 ± 63,2	70,2 ± 55,0	NS

Siklus iptali olan olgularda istatistiksel olarak AMH düzeylerinin düşük (p< 0,01) olduğu, daha yaşlı oldukları (*p*<0,05), bazal FSH düzeylerinin yüksek (P<0,001), antral folikül sayılarının da düşük (*p*<0,001) olduğu bulunmuştur. Her iki grup arasında infertilite süresi, bazal E2 ve vücut kitle indeksi açısından fark bulunmamaktadır.

Tablo XII'de gonadotropinlerle ovaryen hiperstimulasyona yeterli ovaryen yanıt alınamaması nedeniyle siklus iptalinin ön görülmesinde kullanılan over rezervini ölçen değişkenlerin univariate ve multiple logistik regresyon analizinin sonuçları görülmektedir. Univariate analizin sonuçları

değerlendirildiğinde; tüm testlerin ve yaşın sensitivitesinin düşük olduğu; buna karşın spesifisitelerinin yüksek olduğu görülmektedir. Prognostik güvenilirliği en yüksek olan test ise bFSH' dır (%87). AMH, AFC, yaş, bazal FSH beraber değerlendirildiğinde siklus iptalini gösteren tek bağımsız değişkenin bazal FSH olduğu görülmektedir.(p<0,05)

Tablo XII Kontrollü ovaryen stimulasyon sırasında siklus iptalini ön görmede kullanılan hormonal ve sonografik değişkenlerin multipl regresyon analizi

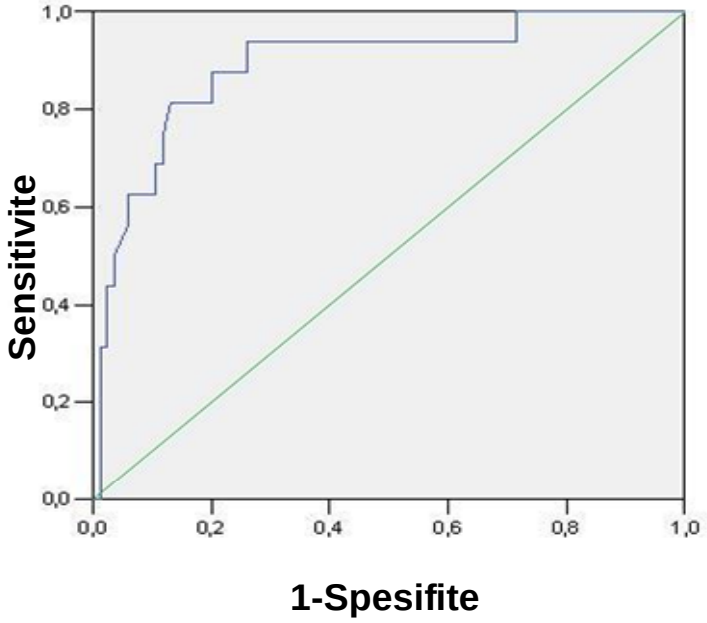
	OR	**95%Cİ**	**Sensitivite**	**Spesifisite**	**Prognostik Güvenilirlik**	***P* değeri**
AMH	0,16	0,05-0,53	12,5	98,8	85	<0,05
Yaş	1,13	1,01-1,27	0	100	84	<0,05
Bfsh	1,36	1,15-1,62	31,3	97,6	87	<0,001
AFS	0,62	0,47-0,81	25	95,2	84	<0,001
AMH **+yaş** **+bFSH** **+AFS**	0,54 0,98 1,18 0,82	0,12-2,37 0,86-1,13 1,01-1,37 0,55-1,23	37,5	97,6	88	NS NS <0,05 NS

AMH, yaş, bazal FSH, antral folikül sayısının siklus iptalini önceden belirlemedeki tanısal etkinlikleri ROC ve AUC (Area Under Curve) analizleri ile de değerlendirilmiştir. Tablo XIII'te gösterilen AUC analizi sonuçlarına göre; AMH, bAFS, ve bFSH'nın siklus iptalini ön görmede etkin testler olduğu

görülmektedir. Etkinliği en yüksek olan parametre AMH olarak saptanmıştır. Siklus iptalini ön görmede AMH için ROC eğrisi Şekil V'te gösterilmektedir.Yaş diğer parametrelere oranla siklus iptalini göstermede daha düşük etkinliğe sahiptir.

Tablo XIII Kontrollü ovaryen stimulasyon sırasında siklus iptalini ön görmede kullanılan hormonal ve sonografik değişkenlerin ROC analizi

	AUC(ROC)	**95% CI**	***P* değeri**
AMH	0,88	0,79-0,98	<0,001
Yaş	0,68	0,54-0,81	<0,05
bFSH	0,83	0,72-0,94	<0,001
bAFS	0,85	0,76-0,94	<0,001



Şekil V Siklus İptalini Ön Görmede AMH İçin ROC Eğrisi

(AUC= 0,88)

ROC analizi sonucuna göre siklus iptalinin ön görülmesinde en iyi AMH eşik değeri; % 86 sensitivite ve % 77 spesifite ile 0,83 ng/ml olarak bulunmuştur.

TARTIŞMA

Yardımcı üreme tekniklerinde tedavi başarısı, overlerin gonadotropin stimulasyonuna verdiği yanıtla ilişkilidir. Overlerin gonadotropin stimulasyonuna yanıtının az olmasına bağlı olarak, kötü over rezervli olgularda, siklus iptallerinin daha sık, toplanan oosit sayısı ve transfer edilen embriyo sayısının daha az, klinik gebelik oranlarının daha düşük olduğu gözlenmektedir. Kötü ovaryen yanıt, genellikle, artmış yaşla ilişkili olmasına rağmen; genç yaşta da görülebilmektedir. Ovaryen yanıtın tedaviye başlanmadan ön görülmesi; siklus iptallerinin oranlarını azaltmakta, aynı zamanda hekime uygun tedavi stratejileri geliştirme ve hastaların oosit donasyonu gibi alternatif yöntemlere yöneltilmesine imkan sağlayabilmektedir. Gonadotropin stimulasyonuna verilen yanıtı ve klinik gebelik elde edebilme şansını ön görebilmek için günümüze kadar bazal FSH, bazal FSH/LH, bazal inhibin-B, bazal ovaryen volüm, yaş, bazal antral folikül sayısı, klomifen sitrat challenge test, GnRH agonist stimulasyon testi, ekzojen FSH ovaryen rezerve test gibi over rezervinin indirekt göstergesi olan birçok test kullanılmıştır. Bu testlerin her birinin kendine ait handikapları mevcuttur ve hiçbiri tek başına yeterli etkinlikte değildir. AMH direkt olarak 6mm'den küçük büyüyen antral foliküllerin granulasa hücrelerinden salınmaktadır ve her bir folikülden homojen olarak salgılandığından ovaryen rezervi göstermek için kullanılabilecek bir belirteç olarak kabul edilmiştir. Bizim çalışmamızda da AMH

seviyelerinin kötü ovaryen yanıtın ve klinik gebelik oluşum hızının ön görülmesindeki etkinliği değerlendirilmiştir.

Konvansyonel ultrasonografi ile yaklaşık 2 mm'nin üzerindeki foliküller saptana bilmektedir. 2 mm üzerindeki foliküllerin fonksiyonel olarak normal olanları kontrollü ovaryen stimülasyon sırasında verilen yüksek doz gonadotropine yanıt vererek preovulatuar foliküle kadar büyüyebilirler. AMH ise 4-6 mm den küçük çoğunlukla sonografik olarak ölçülmeyen preantral ve küçük antral foliküllerin granulosa hücrelerinden sentezlenmektedir (133,134). Henüz literatürde yeterli çalışma olmamasına rağmen AMH düzeylerinin siklus sırasında fazla değişkenlik göstermediği düşünülmekte; bu da AMH'ya siklusun herhangi bir gününde çalışılabilme olanağı vermektedir. AMH salınımının ekstra-ovaryen hormonal kontrolü yoktur. Transgenik ratlarda AMH hetezigot (-/+) olan ratlardaki düzey AMH(-/-) ve AMH(+/+) olanlar arasında saptanmıştır; bu nedenle AMH salınımının sadece mevcut gen aktivitesine bağlı olduğu, diğer hormonal uyarıların salınması üzerine etkisi olmadığı sonucu çıkartılmıştır (135). AMH'nın hormonal uyarılardan etkilenmemesi ovaryen rezervin gösterilmesinde diğer hormonal parametreler göre AMH'ya avantaj sağlamaktadır. AMH'nın AFS göre diğer bir avantajı da gözlemciye bağlı olmaması ve dolayısıyla hekimden hekime değişiklik göstermemesidir. Antral folikül sayıları özellikle GnRH veya OKS ile baskılanmış hastalarda tam değerlendirilememekte; bu da klinik olarak bazı hastalarda doz ayarlamasını güçleştirmektedir.

Kötü over yanıtı tanımlamada çeşitli çalışmalarda çok farklı tanımlar kullanılmıştır. Toplanan oosit sayısı, bazal FSH, antral folikül sayısı, yaş,

maksimum estradiol düzeyi, toplam kullanılan gonadotropin dozu ve ortalama gonadotropin dozunu referans alan çalışmalar mevcuttur. Bizim çalışmamızda kötü ovaryen yanıt tanımı olarak kontrollü overyan hiperstimulasyona yanıt olarak gelişen oositlerin sayısının 3 veya daha az olması veya overde yeterli stimulasyona

rağmen siklusun iptal edilmesi kabul edilmiştir. Toplanan oosit sayısının overde rezerv olarak kalan primordial foliküller ile direkt olarak ilişkili olduğu ve diğer indirekt belirteçlere göre over rezervi ve dolayısıyla kötü over yanıtını daha iyi yansıttığı düşünülmektedir. Buna karşın; yetersiz stimulasyona bağlı olarak toplanan oositlerin sayısı azalabilir. Bizim çalışmamızda hastalara başlangıç olarak tek, standart bir gonadotropin dozu yerine hastanın yaşı, bazal antral folikül sayısı, bazal FSH değerleri göz önüne alınarak doz ayarlaması yapılmıştır. Bu nedenle bizim çalışmamıza alınan olgularda doz yetersizliğine bağlı olarak toplanan oosit sayısının az olması söz konusu değildir.

Çalışmamızda ovaryen yanıtı normal olan olgularda AMH ve AFS'nın; kötü ovaryen yanıtlı olgularda ise bFSH ve yaşın istatistiksel olarak daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu dört parametrenin hepsi toplanan oosit sayısı ile korelasyon göstermektedir. Ayrıca yapılan regresyon analizi sonuçları değerlendirildiğinde; kötü ovaryen yanıtın ön görülmesinde AMH ve AFS en etkin parametreler olduğu; AFS ve AMH'nın benzer tanısal etkinliğe sahip oldukları; bu iki parametreden herhangi birine başka bir değişkenin eklenmesinin sensitivite ve spesifisiteyi anlamlı olarak değiştirmediği görülmüştür. AFS ve AMH beraber kullanıldığında da etkinlik değişmemekte, dolayısıyla over

yanıtının ön görülmesi için yapılan İVF öncesi değerlendirmede AFS veya AMH düzeylerinin beraber çalışılmasının ek katkısı olmadığı düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda yaş ve FSH'nın prediktif etkinliği daha düşük bulunmuştur. Çalışmamızda elde edilen bu sonuçlar literatürdeki AMH'nın kötü over yanıtı ve klinik gebeliği belirleyiciliğini değerlendiren diğer çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Van Rooij ve ark 119 olguda yaptıkları çalışmada; bazal AMH düzeyinin toplanan oosit sayısı ve AFS ile korele olduğu göstermiş ve İVF tedavisinde kötü ovaryen yanıtın azalmış bazal AMH ile ilişkili olduğu sonucuna ulaşmışlardır (136). Eldar-Geva ve ark ise 56 olguyu kapsayan bazal, gonadotropin ile stimülasyondan 24 saat sonra ve luteal olarak ölçülen hormonal belirteçlerin dahil edildiği çalışmalarında, multi- regresyon analizi sonucunda toplanan oosit sayılarını ön görmede en etkin parametrelerin bazal AMH, AFS ve stimüle edilmiş inhibin B olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada klinik gebeliği ön görmede bazal ve luteal AMH düzeylerinin en etkin parametreler olduğu saptanmıştır (137). Kannamannadiar ve ark. ilk İVF siklusu olan 135 olguda bazal AMH ve AFS'larının kötü ovaryen yanıtın ön görülmesinde en iyi belirteçler olduğu ancak klinik gebelik tahmininde etkilerinin olmadığı sonucuna ulaşmışlardır (138). Kliniğimizde yapılan bir çalışmada, 56 olguda kötü ovaryen rezerv yanıtın ön görülmesinde ovaryen volum ve klomifen sitrat challenge test diğer hormonal ve sonografik parametreleren daha etkin bulunmuştur. Aynı çalışmada klinik gebeliği ön gören tek bağımsız değişkenin yaş olduğu saptanmıştır. (139)

. Bizim çalışmamızda KOH sikluslarında kötü ovaryen yanıtın ön görülmesinde kullanılan bu parametrelerin etkinliği ROC analizi ile de değerlendirilerek teyit edilmiştir. AUC sonuçları AMH ve AFS'nin over yanıtını ön görmede benzer etkinliğe sahip olduğu göstermiştir. ROC eğrisinde AMH için % 85 sensitivite ve % 86 spesifisite ile kötü ovaryen yanıtı ön görmedeki eşik değeri 0,94 ng/ml, AFS için % 86 sensitivite, % 87 spesifisite ile eşik değeri 5,5 olarak bulunmuştur. Literatürde kötü ovaryen yanıtın göstermede AMH için yapılan ROC analizi sonuçları ve bulunan eşik değerleri Tablo XIV'te özetlenmiştir. Değişik çalışmalarda değişik eşik değerleri bulunmasına karşın; sensitivite ve spesifite değerleri genel olarak benzer bulunmuştur. Bunun nedeni değişik laboratuarlarda değişik ticari kitlerle AMH'nın ölçülmesi, henüz rutin olarak kullanılmaya başlanan bir hormon olmadığı için internasyonel standartlarının oluşmamış olmasıdır. Bir diğer etken de çalışmalarda kötü ovaryen yanıt gösteren hastaların oranının farklılık göstermesidir. Tüm bu nedenlere karşın, çalışmamızda bulunan AUC değerleri literatürdeki diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Buna karşın özellikle spesifisite değerlerinin literatürde değişkenlik gösterdiği Tablo XIV'te görülmektedir.

Tablo XIV Literatürdeki KOH sikluslarında kötü ovaryen yanıtın ön görülmesinde kullanılan AMH ROC analizi sonuçları:

	AUC	Kit	Kötü over yanıt sayısı ve yüzdesi	Kötü over yanıt kriteri	Eşik Değer (ng/ml)	Sensitivite Spesifite (%)
Jayaprakasan ve ark. 2008	0,90	DSL,	15 %11,1	Oosit sayısı ≤ 3	0,99	100 73
Nardo ve ark.2008	0,88	DSL .	15 %9	Siklus iptali	1	-
Gnoth ve ark. 2008	-	DSL	33 %33	Oosit sayısı ≤ 4	1,26	97 41
Kwee ve ark 2008	0,85	DSL	29 %26	Oosit sayısı ≤ 6	1,4	76 86
Van Rooij ve ark. 2002	0,86	Immunotech Coulter	35 %29	Oosit sayısı ≤4	-	-
Muttukrishna ve ark.2004	-	Immunotech Coulter		Oosit sayısı ≤4	0,1	87 73
Tremellen ve ark. 2005	-	Beckman Coulter	20 %26	Oosit sayısı ≤ 4	1,1	80 85
Fıçıcıoğlu ve ark. 2006	0,92	DSL	11 %25	Oosit sayısı ≤ 4	0,25	91 91

Bizim çalışmamızda, univariate regresyon analizi sonucunda yaşın kötü ovaryen yanıtın ön görülmesinde % 26 sensitivite, % 97 spesifisiteye; bFSH'nın

ise % 46 sensitivite ve % 97 spesifisiteye sahip olduğu gösterilmiştir. Her iki parametrenin de kötü ovaryen yanıtın gösterilmesindeki etkinliklerinin AMH ve AFS'den düşük olduğu görülmektedir. Ovaryen yanıtın AMH düzeyine bakılarak FSH ve yaşa göre daha etkin belirlenmesi; gonadotropin tedavisine başlama dozunun daha iyi belirlenmesine; özellikle ilk siklusta bFSH' sı normal, genç ve beklenenin tersine düşük over yanıtı gösteren hastalarda siklus iptallerini önleyebilir. Kötü ovaryen yanıtlı olduğu ön görülen olgularda daha yüksek doz gonadotropin başlanmasının toplanan oosit sayısını artırmakta; ancak bu artışın klinik gebelik oranlarına yansımadığı gözlenmiştir. Land ve ark. 225 IU veya 450 IU gonadotropin verilen 126 olguyu retrospektif olarak karşılaştırılmış ve kötü ovaryen rezervi olan hastalarda gonadotropin dozunun artırılmasının klinik gebelik oranlarını değiştirmediği sonucuna ulaşılmıştır (107).

İVF tedavisi sonrasında nihai amaç klinik olarak gebelik elde edilmesidir. Dolayısıyla AMH'nın kinik olarak kullanımında over yanıtı göstermedeki etkinliği dışında gebelik oranlarını ön görmedeki etkinliği önemlidir. Bizim çalışmamızda klinik gebelik oluşan olgularda bAMH düzeyi ve bAFS anlamlı olarak yüksek, bFSH ve yaş ise düşük bulunmuştur.Yapılan uni- ve multivariate regresyon analizi sonucunda AMH ve AFS'nin klinik gebeliği ön görmede FSH ve yaşa göre daha üstün olduğu; ancak hiç bir parametrenin klinik gebeliğin ön görülmesinde bağımsız bir değişken olmadığı gösterilmiştir. AFS, AMH , bFSH ve yaş'ın kombine edilmesinin klinik gebeliği ön görmede ek yarar sağlamadığı saptanmıştır. Kötü over rezervi göstermede kullanılan AMH eşik değeri klinik gebeliği ön görmede kullanıldığında; sensitivitesi % 86 spesifitesi % 45 olarak

bulunmuştur. Eşik değerin altında bir olguda klinik gebelik oluşma ihtimali yaklaşık % 10 olarak bulunurken, bu değerin üstündeki olgularda oran % 40 olarak saptanmıştır. Bu AMH'nın 0,94 ng/dl'nin üstündeki değerlerinde gebelik oranını 4 kat arttığı anlamına gelmektedir. Bizim çalışmamızda klinik gebeliği belirlemede AMH için bir eşik değere bakılmamıştır. Bunun nedeni; klinik gebeliği belirleyen over rezervi dışında çok sayıda değişkenin olmasıdır. Bunun yerine over rezervi için saptanan eşik değer üzerinden klinik gebeliğin hangi oranda gerçekleştiği değerlendirilmiştir.

Literatürde Dharmawijaya ve ark. , Eldar-Geva ve ark., Hazout ve ark., bazal AMH düzeylerinin, klinik gebeliğin ön görülmesinde kullanılabileceğini göstermişler; buna karşın Fıçıcıoğlu ve ark., Gnoth ve ark., Penarubbia ve ark., klinik gebelik ön görmede etkinliğinin olmadığını bildirmişlerdir (137,140 -144).

Çalışmamız yardımcı üreme tekniklerinden yararlanan ve bazal AMH düzeyi yüksek olan olgularda; daha fazla oosit toplanacağı, kötü ovaryen yanıt nedeniyle daha az siklus iptali olacağı, klinik gebelik oranlarının daha yüksek olmasına bağlı olarak da reprodüktif potansiyellerinin daha yüksek olacağını ön görmektedir. Dharmawijaya ve ark bazal AMH düzeyi yüksek olan olgularda toplanan oosit sayısının yanında fertilizasyon oranları ve transfer günü elde olan yüksek kalitede embriyo sayısının anlamlı olarak yüksek, klinik gebelik sonrası abortus oranlarının anlamlı olarak düşük olduğunu saptamışlardır (140). Silbestein ve ark hCG günü AMH düzeylerinin embriyo kalitesiyle ilişkili olduğu göstermiştir (145). Bu konuda Smeeek ve ark. çalışmasında, bazal AMH düzeylerinin toplanan oosit ve oluşan embriyo adetini göstermede etkin olduğunu

ancak embriyo kalitesi hakkında bilgi vermediği sonucuna ulaşılmıştır.(146) Çalışmamızda embriyo kalitesi ve fertilizasyon oranlarını oosit kalitesinden bağımsız olarak etkileyecek olan erkek faktörüne sahip hastalar çıkartılarak AMH düzeyleri ile fertilizasyon oranları ve grade1-2 embriyo sayıları incelendiğinde her iki parametre açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Bizim verilerimiz ve Smeek ve ark. bulguları benzer bulunmuştur. Artan bazal AMH düzeylerinin klinik gebelik üzerine etkisinin oosit kalitesindeki artıştan ziyade toplanan oosit sayısının fazla olması nedeniyle olduğunu düşündürmektedir.

Bir çalışmada AMH'nın klinik gebeliği ön görmedeki etkinliğinin, dondurulmuş embriyolar dahil edilip kümülatif olarak gebelik oranları hesaplandığında, daha da arttığı gösterilmiştir (7). Çalışmaya alınan hastalardan hiçbirisi çalışmamız süresince dondurulmuş embryolar ile tedavi programına alınmadığı için bu etkinliğin derecesi saptanamamıştır.

İptal olan sikluslar değerlendirildiğinde oosit toplanması ile sonuçlanan sikluslara oranla bazal FSH ve yaş yüksek; AMH ve AFS düşük olarak tespit edilmiştir.Uni-multivariate regresyon analiz sonuçlarına göre bAFS, AMH; yaş ve bFSH siklus iptalini ön görmede etkindirler; etkinliği en yüksek saptanan ve aynı zamanda tek bağımsız değişken olarak gözlenen parametrenin bFSH olduğu saptanmıştır. Bunun nedeni çalışmaya alınan olguların seçiminde belirgin bir bFSH eşik değeri kullanılmaması; dolayısıyla yüksek FSH değerine sahip olguların da çalışmaya dahil edilmesi olabilir. Kontrollü ovaryen stimülasyon planlanan hastalarda siklus iptalinin ön görülmesinde kullanılan parametrelerin ROC analizi sonucunda AMH ve AFS ve bFSH AUC ile ölçülen etkinliklerinin

benzer olduğu ve yaşa göre daha etkin oldukları gözlenmektedir. La Marca ve ark 48 olguda AMH seviyelerine göre 12'şerlik 4 gruba ayrılarak yaptıkları çalışmada iptal olan 4 olgunun da AMH düzeylerinin en düşük olan çeyrekte olduğunu saptamışlar, 0,75 ng/dl' değerinin siklus iptalini göstermedeki sensitivitesin % 80, spesifitesinin % 93 olduğunu gözlemlemişlerdir (147). McIlveen ve ark. çalışmalarında kötü ovaryen yanıtı predikte etmekte kullanılan en iyi parametrenin bazal AMH olduğu, bazal AMH'nın aynı zamanda siklus iptallerini ön görmek için de kullanılabileceğini, ancak siklus iptalini en iyi gösteren parametrenin ortalama over hacmi olduğu sonucuna ulaşmışlardır (148).

SONUÇ:

1. AMH düzeyleri; maksimum E_2, toplanan oosit sayısı, bAFS ile pozitif olarak, bFSH, yaş ile negatif olarak korelasyon göstermektedir.

2. Kötü ovaryen yanıtlı olgularda bazal AMH düzeyi ve bazal AFS, ovaryen yanıtı normal olan olgulara göre daha düşüktür.

3. Kötü ovaryen yanıtlı olgularda bazal FSH düzeyi ve yaş ovaryen yanıtı normal olan olgulara göre daha yüksektir.

4. Kötü ovaryen yanıtın predikte edilmesinde en etkin parametre AMH ve AFS dır. bFSH ve yaş AMH ve AFS kadar etkin değildir.

5. Bazal AMH düzeylerine; yaş, b FSH veya AFS'nın eklenmesi kötü ovaryen yanıtı predikte etmedeki etkinliği değiştirmemektedir.

6. Kötü ovaryen yanıtın ayırt edilmesinde en iyi AMH eşik değeri; % 86 sensitivite ve % 85 spesifite ile 0,94 ng/ml dir.

7. Bazal AMH düzeyi 0.94 ng/ dl nin üzerinde olan olgularda klinik gebelik oranı % 40, altındaki olgularda % 10 olarak tespit edilmiştir.

8. Kötü ovaryen yanıtın ayırt edilmesinde en iyi bAFS eşik değeri; % 86 sensitivite ve % 87 spesifite ile 5.5 tir.

9. Klinik gebelik oluşan olgularda AMH düzeyi ve bazal AFS klinik gebelik oluşmayan olgulara göre daha yüksektir,b FSH ve yaş daha düşüktür.

10. AMH ve AFS'nin klinik gebeliği ön görmedeki etkinliği, kötü ovaryen yanıtı ön görmedeki etkinliği kadar yüksek değildir.

11. Klinik gebeliğin ön görülmesinde AMH, AFS, yaş ve bFSH düzeylerinin sensitiviteleri düşük, spesifiteleri yüksektir.

12. Klinik gebeliğin predikte edilmesinde bAFS ve AMH benzer etkiliğe sahiptirler, b FSH ve yaşa göre etkinlikleri fazladır.

13. Bazal AMH ile oosit kalitesi arasında bir ilişki bulunmamaktadır.

14. Kötü ovaryen yanıt nedeniyle siklusu iptal edilen olgularda bazal AMH düzeyi ve bazal AFS siklus iptali olmayan olgulara göre daha düşüktür.

15. Kötü ovaryen yanıt nedeniyle siklusu iptal edilen olgularda yaş ve bazal FSH , sikuls iptali olmayan olgulara göre yüksektir.

16. Siklus iptalini en iyi predikte parametre ve tek bağımsız değişken bFSH dır.

17. Siklus iptalinin ön görülmesinde en iyi AMH eşik değeri; % 86 sensitivite ve % 77 spesifite ile 0,83 ng/ml olarak bulunmuştur.

.

KAYNAKLAR

1. Weinstein M, Wood AJ and Chang MC Age patterns in fecundability. In Gray R, Leridon H and Spira A editors. Biomedical and Demographic Determinants of Reproduction. Clarendon Press, Oxford, 1993;209–20.

2. Abma JC, Chandra A, Mosher WD, Peterson LS and Piccinino LJ Fertility, family planning, and women's health: new data from the 1995 National Survey of Family Growth. Vital Health Stat 1997;23:1–114.

3. Spira A. The decline of fecundity with age. Maturitas 1988;1:15–22.

4. Wood JW. Fecundity and natural fertility in humans. Oxf Rev Reprod Biol 1989;11:61–109.

5. Pellicer A, Lightman A, Diamond MP, Russell JB, DeCherney AH. Outcome of in vitro fertilization in women with low response to ovarian stimulation. Fertil Steril 1987;47:812–5.

6. Laufer N, Navot D. Human in vitro fertilization. In AH DeCherney (ed), Reproductive Failure, 1st ed. New York, Churchill Livingstone, 1986;219–46.

7. Lekamge DN, Barry M, Kolo M, Lane M, Gilchrist R, Kelton P. Anti-Mullerian hormone as a predictor of IVF Outcome. Reprod BioMed Online 2007;4(5):602-10

8. Scott RT, Opsahl MS, Leonardi MR, Neall GS, Illions EH, Navot D. Life table analysis of pregnancyrates in a general infertility population relative to ovarian reserve and patient age. Hum Reprod 1995; 10: 1706– 10.

9. Templeton A, Morris JK, Parslow W. Factors that affect outcome of in-vitro fertilization treatment. Lancet 1996;348:1402– 6.

10. Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, NelsonJF. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life:implications for forecasting menopause. Hum Reprod 1992;7:1342–6.

11. Bukman A, Heineman MJ. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility. Hum Reprod Update 2001; 7:581–90.

12. Chuang CC, Chen CD, Chao KH, Chen SU, Ho HN, Yang YS. Age is a better predictor of pregnancy potential than bazal follicle-stimulating hormone levels in women undergoing in vitro fertilization. Fertil Steril 2003;79:63–8.

13. Lass A, Croucher C, Duffy S, Dawson K, Margara R,Winston. One thousand initiated cycles of in vitro fertilization in women or 5 40 years of age. Fertil Steril 1998;70:1030–4.

14. van Montfrans JM, Hoek A, van Hooff MH, de Koning CH, Tonch N, Lambalk CB. Predictive value of bazal follicle-stimulating hormone concentrations in a general subfertility population. Fertil Steril 2000;74:97–103.

15. Creus M, Peñarrubia J, Fábregues F, Vidal E, Carmona F, Casamitjana R, et al. Day 3 serum inhibin B and FSH and age as predictors of assisted reproduction treatment outcome. Hum Reprod 2000;15:2341–6.

16. Toner JP, Philput CB, Jones GS, Muasher SJ. Bazal folliclestimulating hormone level is a better predictor of in vitro fertilization performance than age. Fertil Steril 1991;55:784–91.

17. Bancsi LF, Broekmans FJ, Mol BW, Habbema JD, te Velde ER. Performance of bazal follicle stimulating hormone in the prediction of poor ovarian response and failure to become pregnant after in vitro fertilization: a meta-analysis. Fertil Steril 2003;79:1091–100.

18. Perez Mayorga M, Gromoll J, Behre HM, Gassner C, Nieschlag E, Simoni M. Ovarian response to folliclestimulating hormone (FSH) stimulation depends on the FSH receptor genotype. J Clin Endocrinol Metab 2000;85:3365–9.

19. Satoko Sudo, Masataka Kudo, Shin-ichiro Wada, Osamu Sato, Aaron J.W. Hsueh, Seiichiro Fujimoto Genetic and functional analyses of polymorphisms in the human FSH receptor gene. Mol Hum Reprod 2002; 8:893–99.

20. Bukulmez O and Arici A Assessment of ovarian reserve. Curr Opin Obstet Gynecol 2004; 16:231–7.

21. Scott RT Jr, Hofmann GE. Prognostic assessment of ovarian reserve. Fertil Steril 1995;63(1):1-11.

22. Lambalk CB and de Koning CH. Interpretation of elevated FSH in the regular menstrual cycle. Maturitas 1998; 30,215–20.

23. Barroso G, Oehninger S, Monzo A, Kolm P, Gibbons WE, Muasher SJ.High. FSH.:LH ratio and low LH levels in bazal cycle day 3: impact onfollicular development and IVF outcome. J Assist Reprod Genet 2001; 18:499–505.

24. Mukherjee T, Copperman AB, Lapinski R, Sandler B, Bustillo M, Grunfeld L. An elevated day three folliclestimulating hormone:luteinizing hormone ratio

(FSH:LH) in the presence of a normal day 3 FSH predicts a poor response to controlled ovarian hyperstimulation. Fertil Steril 1996; 65:588–93.

25. Smotrich DB, Widra EA, Gindoff PR, Levy MJ, Hall JL, Stillman RJ. Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome. Fertil Steril 1995;64:1136-40

26. Buyalos RP, Daneshmand S, Brzechffa PR. Bazal estradiol and follicle-stimulating hormone predict fecundity in women of advanced reproductive age undergoing ovulation induction therapy. Fertil Steril 1997;68:272-7

27. Licciardi FL, Liu HC, Rosenwaks Z. Day 3 estradiol serum concentrations as prognosticators of ovarian stimulation response and pregnancy outcome in patients undergoing in vitro fertilization. Fertil Steril 1995;64:991–94.

28. Klein NA, Illingworth PJ, Groome NP, McNeilly AS, Battaglia DE, Soules MR Decreased inhibin B secretion is associated with themonotropic FSH rise in older, ovulatory women: a study of serum and follicular fluid levels of dimeric inhibin A and B in spontaneous menstrual cycles. J Clin Endocrinol Metab 1996;81:2742–5.

29. Hall JE, Welt CK, Cramer DW. Inhibin A and inhibin B reflect ovarian function in assisted reproduction but are less useful at predicting outcome. Hum Reprod 1999;14:409–15.

30. Danforth DR, Arbogast LK, Mroueh J, Kim MH, Kennard EA, et al. Dimeric inhibin: a direct marker of ovarian aging. Fertil Steril 1998;70:119–23.

31. Fried G, Remaeus K, Harlin J, Krog E, Csemiczky G, Aanesen A, et al. Inhibin B predicts oocyte number and the ratio IGF-I/IGFBP-1 may indicate oocyte quality during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. J Assist Reprod Genet 2003;20:167–76.

32. Seifer DB, Scott RT, Bergh PA, Abrogast LK, Friedman CI, Mack CK, et al.Women with declining ovarian reserve may demonstrate a decrease in day 3 serum inhibin B before a rise in day 3 follicle stimulating hormone. Fertil Steril1999; 72:63–5.

33. Seifer DB, Lambert-Messerlian G, Hogan JW, Gardiner AC, Blazar AS, Berk CA. Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome. Fertil Steril 1997;67:110–4.

34. Ficicioglu C, Kutlu T, Demirbasoglu S and Mulayim B. The role of inhibin B as a bazal determinant of ovarian reserve. Gynecol Endocrinol 2003;17:287–93.

35. Muttukrishna S, McGarrigle H, Wakim R, Khadum I, Ranieri DM and Serhal PAntral follicle count, anti-mullerian hormone and inhibin B: predictors of ovarian response in assisted reproductive technology. BJOG 2005;112,1384–90.

36. Yong PY, Baird DT, Thong KJ, McNeilly AS, Anderson RA. Prospective analysis of the relationships between the ovarian follicle cohort and bazal FSH concentration, the inhibin response to exogenous FSH and ovarian follicle number at different stages of the normal menstrual cycle and after pituitary down-regulation. Hum Reprod 2003;18:35–44.

37. Eldar-Geva T, Robertson DM, Cahir N, Groome N, Gabbe MP, Maclachlan V, et al Relationship between seruminhibin A and B and ovarian follicle development after a daily fixed doseadministration of recombinant follicle-stimulating hormone. J Clin Endocrinol Metab 2000;85:607–13.

38. Fawzy M, Lambert A, Harrison RF, Knight PG, Groome N, Hennelly B, Robertson WR.Day 5 inhibin B levels in a treatment cycle are predictive of IVF outcome. Hum Reprod 2002;17:1535–43.

39. Lockwood GM, Muttukrishna S, Groome NP, Knight PG, Ledger WL. Circulating inhibins and activin A during GnRH-analogue down-regulation and ovarian hyperstimulation with recombinant FSH for in-vitro fertilization-embryo transfer. Clin Endocrinol (Oxf) 1996; 45:741–8.

40. Dzik A, Lambert-Messerlian G, Izzo VM, Soares JB, Pinotti JA, Seifer DB. Inhibin B response to EFORT is associated with the outcome of oocyte retrieval in the subsequent in vitro fertilization cycle. Fertil Steril 2000;74:1114–7.

41. Ravhon A, Lavery S, Michael S, Donaldson M, Margara R, Trew G, et al. Dynamic assays of inhibin B and oestradiol following buserelin acetate administration as predictors of ovarian response in IVF. Hum Reprod 2000;15:2297–301.

42. Dumesic DA, Damario MA, Session DR, Famuyide A, Lesnick TG, Thornhill AR,et al. Ovarian morphology and serum hormone markers as predictors of ovarian follicle recruitment by gonadotropins for in vitro fertilization. J Clin Endocrinol Metab 2001;86:2538–43.

43. Tomas C, Nuojua-Huttunen S, Martikainen H. Pretreatment transvajinal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in in-vitro fertilization. Hum Reprod 1997;12:220–3.

44. Scheffer GJ, Broekmans FJ, Dorland M, Habbema JD, Looman CW, te Velde ER. Antral follicle counts by transvajinal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility. Fertil Steril 1999;72:845–51.

45. Frattarelli JL, Levi AJ, Miller BT, Segars JH. A prospective assessment of the predictive value of bazal antral follicles in vitro fertilization cycles. Fertil Steril 2003;80:350–5.

46. Hansen KR, Morris JL, Thyer AC, Soules MR. Reproductive aging and variability in the ovarian antral follicle count: application in the clinical setting. Fertil Steril 2003;80:577–3.

.

47. Bancsi LF, Broekmans FJ, Looman CW, Habbema JD and te Velde ER Impact of repeated antral follicle counts on the prediction of poor ovarian response in women undergoing in vitro fertilization. Fertil Steril 2004; 81:35–41.

48. Durmusoglu F, Elter K, Yoruk P and Erenus M.Combining cycle day 7 follicle count with the bazal antral follicle count improves the prediction of ovarian response. Fertil Steril 2004;81:1073–8.

49. Chang MY, Chiang CH, Hsieh TT, Soong YK, Hsu KH. Use of the antral follicle count to predict the outcome of assisted reproductive technologies. Fertil Steril 1998;69:505–10

50. Bancsi LF, Broekmans FJ, Eijkemans MJ, de Jong FH, Habbema JD, te Velde ER Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: a prospective study comparing bazal markers of ovarian reserve. Fertil Steril 2002;77:328–36.

51. Lass A, Skull J, McVeigh E, Margara R, Winston RM. Measurement of ovarian volume by transvajinal sonography before ovulation induction with human menopausal gonadotrophin for in-vitro fertilization can predict poor response. Hum Reprod 1997;12:294–7.

52. Syrop CH, Dawson JD, Husman KJ, Sparks AE, Van Voorhis BJ. Ovarian volume may predict assisted reproductive outcomes better than follicle stimulating hormone concentration on day 3. Hum Reprod 1999;14:1752–6.

53. Sharara FI, McClamrock HD. The effect of aging on ovarian volume measurements in infertile women. Obstet Gynecol 1999; 94:57–60.

54. Tepper R, Zalel Y, Markov S, Cohen I, Beyth Y. Ovarian volume in postmenopausal women: suggestions to an ovarian size nomogram for menopausal age. Acta Obstet Gynecol Scand 1995;74:208–11.

55. Ng EH, Yeung WS, Fong DY, Ho PC. Effects of age on hormonal and ultrasound markers of ovarian reserve in Chinese women with proven fertility. Hum Reprod 2003;18:2169–74.

56. Engmann L, Sladkevicius P, Agrawal R, Bekir JS, Campbell S, Tan SL. Value of ovarian stromal blood flow velocity measurement after pituitary suppression in the prediction of ovarian responsiveness and outcome of in vitro fertilization treatment. Fertil Steril 1999; 71:22–9.

57.Zaidi J, Barber J, Kyei-Mensah A, Bekir J, Campbell S, Tan SL. Relationship of ovarian stromal blood flow at the baseline ultrasound scan to subsequent follicular response in an in vitro fertilization program. Obstet Gynecol 1996;88:779–84.

58. Pan HA, Cheng YC, Li CH, Wu MH, Chang FM. Ovarian stromal flow intensity decreases by age: a three-dimensional power doppler ultrasonographic study. Ultrasound Med Biol 2002;28:425–30.

59. Lambalk CB, de Koning CH, Flett A, Van Kasteren Y, Gosden R, Homburg R Assessment of ovarian reserve. Ovarian biopsy is not a valid method for the prediction of ovarian reserve. Hum Reprod 2004;19:1055–9.

60. Navot D, Rosenwaks Z, Margalioth EJ. Prognostic assessment of female fecundity. Lancet 1987;2:645–7.

61. Hofmann GE, Scott RT Jr, Horowitz GM, Thie J, Navot D. Evaluation ofthe reproductive performance of women with elevated day 10 progesterone levels during ovarian reserve screening. Fertil Steril 1995;63:979–83.

62. Watt AH, Legedza AT, Ginsburg ES, Barbieri RL, Clarke RN, Hornstein MD. The prognostic value of age and follicle-stimulating hormone levels in women over forty years of age undergoing in vitro fertilization. J Assist Reprod Genet 2000;17:264–8.

63. Yanushpolsky EH, Hurwitz S, Tikh E. Predictive usefulness of cycle day 10 follicle-stimulating hormone level in a clomiphene citrate challenge test for in-vitro fertilization outcome in women younger than 40 years of age. Fertil Steril 2003;80:111–5.

64. Barnhart K, Osheroff J. Follicle stimulating hormone as a predictor of fertility. Curr Opin Obstet Gynecol 1998;10:227–32.

65. Padilla SL, Bayati J, Garcia JE. Prognostic value of the early serum estradiol response to leuprolide acetate in in vitro fertilization. Fertil Steril 1990;53:288–94.

66. Winslow KL, Toner JP, Brzyski RG, Oehninger SC, Acosta AA, Muasher SJ. The gonadotropin-releasing hormone agonist stimulation test –a sensitive

predictor of performance in the flare-up in vitro fertilization cycle. Fertil Steril 1991;56:711–7.

67. Ranieri DM, Quinn F, Makhlouf A, Khadum I, Ghutmi W, et al.Simultaneous evaluation of bazal follicle-stimulating hormone and 17 beta-estradiol response to gonadotropin releasing hormone analogue stimulation: an improved predictor of ovarian reserve. Fertil Steril 1998; 70:227–33.

68. Fanchin,R.,D.,De Ziegler, F.Olivenned. Exogenous follicle stimulating hormone ovarian reserve test(EFORT): a simple and reliable screening test for detecting“poor responders” in in-vitro fertilization. Hum. Reprod.1994; 9:1607–11.

69. Cate, R.L., Mattaliano, R.J., Hession, C., Tizard, R., Farber, N.M.,Cheung, A ,et al. Isolation of the bovine and human genes for Müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells. Cell 1986;45:685–98.

70. Rey, R., Lukas-Croisier, C., Lasala, C. & Bedecarras, P. AMH/ MIS: what we know already about the gene, the protein and its regulation. Molecular and Cellular Endocrinology 2003;15:21–31.

71. Teixeira, J., Maheswaran, S. & Donahoe, P.K. Müllerian inhibiting substance: an instructive developmental hormone with diagnostic and possible therapeutic applications. Endocrine Reviews 2001;22:657–74.

72. Knebelmann, B., Boussin, L., Guerrier, D., Legeai, L., Kahn, A., Josso,N.,et al Anti-Müllerian hormoneBruxelles: a nonsense mutation associated with the persistent Müllerian duct syndrome.Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 1991;88:3767–71.

73. Behringer, R.R., Finegold, M.J. & Cate, R.L. Müllerian inhibiting substance function during mammalian sexual development. Cell 1994; 79:415–25.

74. Rajpert-De Meyts, E., Jorgensen, N., Graem, N., Müller, J., Cate, R.L., Skakkebaek, N.E. Expression of anti-Müllerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 1999; 84:3836–44.

75. Baarends, W.M., Uilenbroek, J.T., Kramer, P., Hoogerbrugge, J.W., van Leeuwen, E.C., Themmen, A.P., e al. Anti-Müllerian hormone and anti-Müllerian hormone type II receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle, and gonadotropin-induced follicle growth. Endocrinology, 1995;136:4951–62.

76. Salmon, N.A., Handyside, A.H., Joyce, I.M. Oocyte regulation of anti-Müllerian hormone expression in granulosa cells during ovarian follicle development in mice. Developmental Biology 2004;266:201–8.

77. Josso, N., di Clemente, N., Gouedard, L. Anti-Müllerian hormone and its receptors. Molecular and Cellular Endocrinology 2001;179:25–32.

78. Imbeaud, S., Carre-Eusebe, D., Rey, R., Belville, C., Josso, N., Picard, J.Y. Molecular genetics of the persistent müllerian duct syndrome: a study of 19 families. Human Molecular Genetics 1994;3:125–31.

79. Ingraham, H.A., Hirokawa, Y., Roberts, L.M., Mellon, S.H., McGee, E., Nachtigal, M.W.et al. Autocrine and paracrine Müllerian inhibiting substance hormone signaling in reproduction. Recent Progress in Hormone Research 2000;55:53–67.

80. Durlinger, A.L., Gruijters, M.J., Kramer, P., Karels, B., Ingraham, H.A.,Nachtigal, M.W.,et al . Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. Endocrinology 2002;143:1076–84.

81. Durlinger, A.L., Gruijters, M.J., Kramer, P., Karels, B., Kumar, T.R.,Matzuk, M.M., et al. Anti-Müllerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. Endocrinology 2001;142:4891–99.

82. di Clemente, N., Goxe, B., Rémy, J.J., Cate, R.L., Josso, N., Vigier, B., et al.Inhibitory effect of AMH upon aromatase activity and LH receptors of granulosa cells of rat and porcine immature ovaries. Endocrine 1994;2:553–8.

83. Tsafriri, A., Picard, J.Y., Josso, N. Immunopurified anti-Müllerian hormone does not inhibit spontaneous resumption of meiosis in vitro of rat oocytes. Biological Reproduction 1988;38:481–5.

84. Kim, J.H., Seibel, M.M., MacLaughlin, D.T., Donahoe, P.K., Ransil, B.J., Hametz, P.A., et al.The inhibitory effects of Müllerian-inhibiting substance on epidermal growth factor induced proliferation and progesterone production of human granulosa-luteal cells. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1992;75:911–7.

85. Seifer, D.B., MacLaughlin, D.T., Penzias, A.S., Behrman, H.R., Asmundson, L., Donahoe, P.K., et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist-induced differences in,granulosa cell cycle kinetics are associated with alterations in follicular fluid müllerian-inhibiting substance and androgen content. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1993;76:711–4.

86. Lee, M.M., Donahoe, P.K., Hasegawa, T., Silverman, B., Crist, G.B.,Best, S., et al. Müllerian inhibiting substance in humans: normal levelsfrom infancy to adulthood. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1996;81:571–6.

87. Cook, C.L., Siow, Y., Taylor, S., Fallat, M.E. Serum müllerian inhibiting substance levels during normal menstrual cycles. Fertility and Sterility 2000;73:859–61.

88. La Marca, A., Malmusi, S., Giulini, S., Tamaro, L.F., Orvieto, R., Levratti, P., et al.Anti-Müllerian hormone plasma levels in spontaneous menstrual cycle and during treatment with FSH to induce ovulation. Human Reproduction 2004;19:2738–41.

89. Long, W.Q., Ranchin, V., Pautier, P., Belville, C., Denizot, P., Cailla, H., et al. Detection of minimal levels of serum anti-Müllerian hormone during follow-up of patients with ovarian granulosa cell tumor by means of a highly sensitive enzyme-linked immunosorbent assay. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 2000;85:540–44

90. La Marca, A., De Leo, V., Giulini, S., Orvieto, R., Malmusi, S., Giannella, L., et al. Anti-Müllerian hormone in premenopausal women and after spontaneous or surgically induced menopause. Journal of the Society for Gynecologic Investigation 2005;12:545–8.

91. de Vet, A., Loven, J.S., de Jong, F.H., Themmen, A.P., Fauser, B.C. Anti-Müllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. Fertility and Sterility 2002;77: 357–62.

92. Van Rooij, I.A., Tonkelaar, I., Broekmans, F.J., Looman, C.W.,Schefferde, G.J., Jong, F.H.. Anti-Müllerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition. Menopause 2004;11:601–6.

93. Fanchin, R., Schonauer, L.M., Righini, C., Frydman, N., Frydman, R., Taieb, J. Serum anti-Müllerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation. Human Reproduction 2003;18:328–32

94. Fanchin R., Schonauer, L.M., Righini, C Guibourdenche, J., Frydman,R., Taieb, J. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. Human Reproduction 2003;18:323–7.

95. Richardson, S.J. & Nelson, J.F. Follicular depletion during the menopausal transition. Annals of the New York Academy of Sciences 1990;592,13–20.

96. La Marca, A., Giulini, S., Orvieto, R., De Leo, V., Volpe, A. Anti-Müllerian hormone concentrations in maternal serum during pregnancy. Human Reproduction 2005;20,1569–72.

97. Fallat, M.E., Siow, Y., Marra, M., Cook, C., Carrillo, A. Müllerian-inhibiting substance in follicular fluid and serum: a comparison of patients with tubal factor infertility, polycystic ovary syndrome, and endometriosis. Fertility and Sterility 1997;67:962–5.

98. Mulders, A.G., Laven, J.S., Eijkemansde, M.J., Jong, F.H., Themmen,A.P., Fauser, B.C. Changes in anti-Müllerian hormone serum concentrations over time suggest delayed ovarian ageing in normogonadotrophic anovulatory infertility. Human Reprod 2004;19:2036–42

.

99. Cook, C.L., Siow, Y., Brenner, A.G., Fallat, M.E. Relationship between serum müllerian-inhibiting substance and other reproductive hormones in untreated women with polycystic ovary syndrome and normal women. Fertility and Sterility 2002;77:141–6.

100.Pigny, P., Jonard, S., Robert, Y. & Dewailly, D. Serum anti-Müllerian hormone as a surrogate for antral follicle count for definition of the polycystic ovary syndrome. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 2006; 91: 941–5.

101. La Marca, A., Orvieto, R., Giulini, S., Jasonni, V.M., Volpe, A., De Leo, V. Müllerian-inhibiting substance in women with polycystic ovary syndrome: relationship with hormonal and metabolic characteristics. Fertility and Sterility 2004;82:970–2.

102. Rey, R.A., Belville, C., Nihoul-Fekete, C., Michel-Calemard, L., Forest, M.G., Lahlou, N., et al.Evaluation of gonadal function in 107 intersex patients by means of serum antimüllerian hormone measurement. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1999;84:627–31.

103. Lane, A.H., Lee, M.M., Fuller, A.F. Jr, Kehas, D.J., Donahoe, P.K., MacLaughlin, D.T. Diagnostic utility of Müllerian inhibiting substance determination in patients with primary and recurrent granulosa cell tumors. Gynecologic Oncology 1999;73:51–5.

104. Busacca M, Fusi F, Brigante C, Bonzi V, Gonfiantini C, Vignali M, et al. Use of growth hormone-releasing factor in ovulation induction in poor responders. J Reprod Med 1996;41:699 –703.

105. Feldberg D, Farhi J, Ashkenazi J, Dicker D, Shalev J, Ben Rafael Z. Minidose gonadotropin releasing hormone agonist is the treatment of choice in

poor responders with high follicle-stimulating hormone levels. Fertil Steril 1994;62:343–6.

106. Fridstrom M, Akerlof E, Sjoblom P, Hillensjo T. Serum levels of luteinizing and follicle-stimulating hormones in normal and poor-responding patients undergoing ovarian stimulation with urofollitropin after pituitary down regulation. Gynecol Endocrinol 1997;11:25–8

107. Land J, Yarmolinskaya M, Dumoulin J, Evers J. High-dose human menopausal gonadotropin stimulation in poor responders does not improve in vitro fertilization outcome. Fertil Steril 1996;65:961–5.

108. Lashen H, Ledger W, Lopez-Bernal A, Barlow D. Poor responders to ovulation induction: is proceeding to in-vitro fertilization worthwhile? Hum Reprod 1999;14:964–9.

109. Lindheim S, Barad D, Witt B, Ditkoff E, Sauer M. Short-term gonadotropin suppression with oral contraceptives benefits poor responders prior to controlled ovarian hyperstimulation. J Assist Reprod Genet 1996;16:745–7.

110. Raga F, Bonilla-Musoles F, Casan EM, Bonilla F. Recombinant follicle stimulating hormone stimulation in poor responders with normal bazal

concentrations of follicle stimulating hormone and oestradiol: improved reproductive outcome. Hum Reprod 1999;14:1431– 4.

111. Schoolcraft W, Schlenker T, Gee M, Stevens J, Wagley L. Improved controlled ovarian hyperstimulation in poor responder in vitro fertilization patients with a microdose follicle-stimulating hormone flare, growth hormone protocol. Fertil Steril 1997;67:93–7.

112. Serafini P, Stone B, Kerin J, Batzofin J, Quinn P, Marrs R. An alternate approach to controlled ovarian hyperstimulation in "poor responders": pretreatment with a gonadotropin-releasing hormone analog. Fertil Steril 1988;49:90–5.

113. Surrey E, Bower J, Hill D, Ramsey J, Surrey M. Clinical and endocrine effects of a microdose GnRH agonist flare regimen administered to poor responders who are undergoing in vitro fertilization. Fertil Steril 1998;69:419 –24.

114. Brzyski R, Muasher S, Droesch K, Simonetti S, Jones G, Rosenwaks Z. Follicular atresia associated with concurrent initiation of gonadotropin releasing hormone agonist and follicle-stimulating hormone for oocyte recruitment. Fertil Steril 1988;50:917–21.

115. Droesch K, Muasher S, Brzyski R, Jones G, Simonetti S, Liu H-C, et al. Value of suppression with a gonadotropin-releasing hormone agonist prior to gonadotropin stimulation for in vitro fertilization. Fertil Steril 1989;51:292–7.

116. Karande V, Jones G, Veeck L, Muasher S. High-dose follicle-stimulating hormone stimulation at the onset of the menstrual cycle does not improve the in vitro fertilization outcome in low-responder patients. Fertil Steril 1990;53:486 –9.

117. Karande V, Morris R, Rinehart J, Miller C, Rao R, Gleicher N. Limited success using the "flare" protocol in poor responders in cycles with low bazal follicle-stimulating hormone levels during in vitro fertilization. Fertil Steril 1997;67:900 –3.

118. Olivennes F, Righini C, Fanchin R, Torrisi C, Hazout A, Glissant A, et al. A protocol using a low dose of gonadotropin-releasing hormone agonist might be the best protocol for patients with high follicle stimulating hormone concentrations on day 3. Hum Reprod 1996;11:1169–72.

119. Salat-Baroux J, Rolten D, Alvarez S, Antoine J. Comparison of growth hormone responses to growth hormone-releasing factor and clonidine in women with normal or poor ovarian response to gonadotropin stimulation. Fertil Steril 1993;60:791–9.

120. Toth T, Awwad J, Veeck L, Jones H, Muasher S. Suppression and flare regimens of gonadotropin-releasing hormone agonist: use in women with different bazal gonadotropin values in an in vitro fertilization program. J Reprod Med 1996;41:321– 6.

121. Faber B, Mayer J, Cox B, Jones D, Toner J, Oehninger S, et al. Cessation of gonadotropin-releasing hormone agonist therapy combined with high-dose gonadotropin stimulation yields favorable pregnancy results in low responders. Fertil Steril 1998;69:826–30.

122. Hugues J, Torresani T, Herve F, Martin-Pont B, Tamboise A, Santarelli J. Interest of growth hormone-releasing hormone administration for improvement of ovarian responsiveness to gonadotropins in poor responder women. Fertil Steril 1991;55:945–51.

123. Ibrahim Z, Matson P, Buck P, Lieberman B. The use of biosynthetic human growth hormone to augment ovulation induction in buserelin acetate/human menopausal gonadotropin in women with a poor ovarian response. Fertil Steril 1991;55:202– 4.

124. Scott R, Navot D. Enhancement of ovarian responsiveness with microdoses of gonadotropin-releasing hormone agonists during ovulation induction for in vitro fertilization. Fertil Steril 1994;61:880 –5.

125. Hofmann G, Toner J, Muasher S, Jones G. High-dose follicle-stimulating hormone (FSH) ovarian stimulation in low-responder patients for in vitro fertilization. J In Vitro Fert Embryo Transfer 1989;6:285–9.

126. Hughes S, Huang Z, Morris I, Matson P, Buck P, Lieberman B. A double-blind cross-over controlled study to evaluate the effect of biosynthetic growth hormone on ovarian stimulation in previous poor responders to in-vitro fertilization. Hum Reprod 1994;9:13– 8.

127. Rombauts L, Suikkari A, MacLachlan V, Trounson A, Healy D. Recruitment of follicles by recombinant human follicle-stimulating hormone commencing in the luteal phase of the ovarian cycle. Fertil Steril 1998;69:665–9.

128. Muasher SJ. Controversies in assisted reproduction: treatment of low responders. J Assist Reprod Genetics 1993;10:112–4.

129. Navot D, Drews MR, Bergh PA, Guzman I, Karstaedt A, Scott RT, et al. Agerelated decline in female fertility is not due to diminished capacity of the uterus to sustain embryo implantation. Fertil Steril 1994;61:97–101.

130. Manzi D, Thorton K, Scott L, Nulsen J. The value of increasing the dose of human menopausal gonadotropins in women who initially demonstrate a poor response. Fertil Steril 1994;62:251– 6.

131. Shaller A, Fleming R, Jamieson M, Yates R, Coutts J. Absence of effect of adjuvant growth hormone therapy on follicular responses to exogenous gonadotropins in women: normal and poor responders. Fertil Steril 1992;58:919 – 23

132. Chong A, Rafael R, Forte C. Influence of weight in the induction of ovulation with human menopausal gonadotropin and human chorionic gonadotropin.Fertil Steril1986;46:599–603.

133. Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, Cranfield M, Groome NP,Visser JA, et al. Anti-Mullerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. Mol Hum Reprod 2004;10:77–83.

134. Themmen AP. Anti-Mullerian hormone: its role in follicular growth initiation
and survival and as an ovarian reserve marker. J Natl Cancer Inst Monogr 2005;34:18–21.

135. Durlinger, A.L., Kramer, P., Karels, B., de Jong, F.H., Uilenbroek, J.T., Grootegoed, A.et al. Control of primordial follicle recruitment by anti-Mullerian hormone in the mouse ovary. Endocrinol,1999;140:5789–96.

136. Van Rooij IA, Broekmans FJ, te Velde ER, Fauser BC, Bancsi LF, de Jong FH, et al. Serum anti-Mullerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. Hum Reprod 2002;17:3065–71.

137. Talia Eldar-Geva , Avraham Ben-Chetrit, Irving M.Spitz, Ron Rabinowitz, Einat Markowit , Tzvia Mimoni, et al.Dynamic assays of inhibin B, anti-Mullerian hormone and estradiol following FSH stimulation and ovarian ultrasonography as predictors of IVF outcome Hum Reprod 2005;20:3178–83.

138. Kannamannadiar Jayaprakasan., Bruce Campbell , James Hopkisson, Ian Johnson, and Nick Raine-Fenning,. A prospective, comparative analysis of anti-Mullerian hormone,inhibin-B, and three-dimensional ultrasound determinants of ovarian reserve in the prediction of poor response to controlled ovarian stimulation. Fertil Steril 2008; Nov 29. [Epub ahead of print]

139. Mehmet Erdem, Ahmet Erdem, Rifat Gursoy, Kutay Biberoglu Comparison of Basal and Clomiphene Citrate Induce FSH and Inhibin B, Ovarian Volume and Antral FollicleCounts as Ovarian Reserve Tests

and Predictors of Poor Ovarian Response in IVF. J of Assis Reprod and Genetics 2004;2;37-45

140. Dharmawijaya N Lekamge, Michael Barry, Michele Kolo, Michelle Lane , Robert B Gilchrist, Kelton PTremellen Anti-müllerian Hormone as a predictor of IVF outcome Reprod BioMed Online; Vol 14. No 5. 2007 602-10

141. Hazout A, Bouchard P, Seifer DB, Aussage P, Junca AM, Cohen-Bacrie P Serum anti-mullerian hormone/mullerian-inhibiting substance appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than follicle-stimulating hormone, inhibin B, or estradiol. Fertil Steril 2004;82:1323-9

142. Ficicioglu C, Kutlu T, Baglam E, Bakack Z. Early follicular antimullerian hormone as an indicator of ovarian reserve. Fertil Steril 2006; 85:592-6.

143. C.Gnoth, A.N. Schuring, K. Friol1, J. Tigges, P. Mallmann, E. Godehardt. Relevance of anti-Mullerian hormone measurement in a routine IVF program Hum Reprod 2008;23:1359–65

144. Peñarrubia J, Fábregues F, Manau D, Creus M, Casals G, Casamitjana R et al. Basal and stimulation day 5 anti-Mullerian hormone serum concentrations as predictors of ovarian response and pregnancy in assisted reproductive technology

cycles stimulated with gonadotropin-releasing hormone agonist-gonadotrOpin treatment. Hum Reprod. 2005; 20:915-22

145. T.Silberstein, D.T.MacLaughlin, I.Shai, J.R.Trimarchi, G.Lambert-Messerlian, D.B.Seifer, et al. Müllerian inhibiting substance levels at the time of HCG administration in IVF cycles predict both ovarian reserve and embryo morphology Hum Reprod 2006; 21(1):159–63.

146. Smeenk JM, Sweep FC, Zielhuis GA, Kremer JA, Thomas CM, Braat DD. Antimüllerian hormone predicts ovarian responsiveness,but not embryo quality or pregnancy, after in vitro fertilization or intracyoplasmic sperm injection Antimüllerian hormone predicts ovarian responsiveness, but not embryo quality or pregnancy, after in vitro fertilization or intracyoplasmic sperm injection Fertil Steril 2007;87(1):223-6

147. A.La Marca, S.Giulini, A.Tirelli, E.Bertucci, T.Marsella, S.Xella , et al.Anti-Müllerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology Hum Reprod. 2007;22(3):766–71.

148. Mc Ilveen M, Skull JD, Ledger WL .Evaluation of the utility of multiple endocrine and ultrasound measures of ovarian rezerve in the prediction of cycle cancellation in a high-risk IVF population Hum Reprod 2007;22(3):778-85

YARDIMCI ÜREME TEKNİKLERİ İLE TEDAVİ EDİLEN OLGULARDA ANTİ MÜLLERYAN HORMON DÜZEYİNİN KÖTÜ OVER YANITI BELİRLEMEDEKİ TANISAL DEĞERİ

Kötü ovaryen rezerv kontrollü ovaryen stimulasyon yapılan olgularda tedavi başarısını azaltmaktadır. Bu çalışmada görülme sıklığı gitikçe artan yardımcı üreme teknikleri ile tedavi edilen ve gonadotropinlere kötü ovaryen yanıt gösteren hastalarda AMH düzeylerinin ovaryen yanıtı ve gebelik oluşum hızını ön görmedeki etkinliğini belirlemektir.

Çalışmamıza Ekim –Şubat 2009 tarihleri arasında kliniğimizde IVF tedavisi başlanan, toplam 98 primer infertil olgu prospektif olarak dahil edilmiştir. Üniversitemiz etik komitesi tarafından çalışmaya onay alındı. Kontrollü ovaryen hiperstimulasyona verilen yanıta göre 3 ve daha az oosit toplanan veya yetersiz over yanıtı nedeniyle siklusları iptal olan vakalar kötü ovaryen yanıtlı olarak tanımlandı. Ovaryen yanıt, klinik gebelik elde edilmesi ve siklus iptallerine göre olgular gruplara ayrıldı ve gruplar arasındaki hormonal, sonografik ve demografik özellikler karşılaştırıldı.

Çalışmamızın sonucunda kötü ovaryen yanıtlı olgularda AMH, AFS düzeyleri düşük yaş ve b FSH yüksek bulundu. Kötü ovaryen yanıtı predikte etmekte en etkin parametrenin bazal AMH düzeyleri olduğu saptandı. Kötü ovaryen yanıtın belirlemek için ROC analizinde AUC 0,89 (%95 CI 0,82-0,97) bulundu. ROC analizine göre %86 sensitivite ve %85 spesifite ile eşik değeri 0,94 ng/ml olarak belirlendi. Klinik gebelik oluşan olgularda AMH ve AFS'nin istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu, klinik gebeliği predikte etmede en etkin parametrelerin AFS ve AMH olduğu saptandı. ROC analizinde AFS ve AMH için AUC 0,74 ve 0,72 olarak bulundu. AMH ve AFS siklus iptali olan

olgularda anlamlı şekilde düşük olarak saptandı ancak siklus iptalini ön görmede en etkin ve tek bağımsız değişkenin b FSH olduğu saptandı.

Anahtar kelimeler: AMH, kötü ovaryen yanıt, kontollü ovaryen hiperstimülasyon

THE DİAGNOSTİC VALUE OF AMH LEVELS IN THE PREDİCTİON OF POOR OVARİAN RESPONSE IN ASSİSTED REPRODUCTİVE TECHNİQUE CYCLES

Poor ovarian reserve reduces the success of the outcome in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation. Our aim is to determine the predictive value of AMH concentrations on ovarian response and pregnancy rates after a cycle of controlled ovarian hyperstimulation in patients with poor ovarian response.

Our study included 98 primarily infertile patients who applied to our infertility clinic and initiated IVF treatment between October-February 2009. The study was approved by our university ethics council. Patients were identified as poor responders if only 3 or less oocytes were collected after controlled ovarian hyperstimulation, or if the cycle was cancelled due to insufficient ovarian response following treatment. Patients were then divided into subgroups in accordance with their response, and the occurrence of clinical pregnancy and cycle cancellation. Hormonal, sonographic and demographic data were then compared between groups.

Our study concluded that, patients demonstrating poor response to ovarian stimulation had lower AMH levels, decreased AFC (antral follicle count), were older and hence had higher bFSH levels. Logistic regression revealed that the best parameter for predicting poor ovarian response was AMH. ROC analysis used to identify poor ovarian response resulted in an AUC value of 0.89 (%95 CI: 0.82-0.97). The predictive threshold value was appointed at 0.94ng/ml with sensitivity of % 84 and specificity of % 85. In patients with confirmed clinical pregnancies,

AMH and AFC were deemed significantly high and both of these parameters were also regarded as the best predictors of clinical pregnancy with AUC values of 0.75 (%95 CI: 0.63-0.85) and 0.72 (%95 CI: 0.60-0.80) respectively. AMH and AFC were significantly lower in cancelled cycles; although the one and only effective predictor of cycle cancellation was b FSH.

Key words: AMH, poor ovarian response, controlled ovarian hiperstimulation

T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ YEREL ETİK KURULU
RESEARCH ETHICS COMMITTEE OF MEDICAL FACULTY, GAZİ UNIVERSTY
ANKARA-TÜRKİYE
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI
İLAÇ DIŞI KLİNİK ÇALIŞMALAR

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL ADI	"İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu sikluslarına alınan "Kötü Ovaryen Yanıt'lı hastalarda Anti Müllerian Hormon Düzeyinin Ovaryen Rezervi Belirlemedeki Prediktif Değeri"	
	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVANI, / ADI	Doç.Dr.Mehmet Erdem	
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarihi / değişiklik No.su	Dili Türkçe
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 390	Tarih : 17 Kasım 2008	
	Üniversitemiz Tıp Fakültesinde yapılması tasarlanan ve yukarıdaki künyede kayıtlı araştırma projesine ait dosya; amaç, gerekçe, yaklaşım, yöntemler ve aydınlatılmış onamın yeterliliği yönünden incelenmiş ve çalışmanın gerçekleştirilmesinde Etik sakınca bulunmadığına karar verilmiştir.		

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	İYİ KLİNİK UYGULAMALAR KILAVUZU, HELSİNKİ BELGESİ, BİYOETİK SÖZLEŞMESİ

ÜYELER

Ünvanı / Adı / Soyadı Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)		Katılım (**)		İmza
Prof.Dr.Necla BUYAN BAŞKAN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları - Nefroloji	G.Ü.T.F Çocuk Sağ.ve Hast.A.D.	K		E	xx	E	
				x	H		H	
Prof. Dr.Firdevs Aktaş ÜYE	Enfeksiyon	G.Ü.T.F Enfeksiyon Hast. A.D.	K		E	xx	E	
				x	H		H	
Prof. Dr.Aysel ARICIOĞLU ÜYE	Tıbbi Biyokimya	G.Ü.T.F Tıbbi Biyokimya A.D.	K		E	xx	E	
				x	H		H	
Prof.Dr.Fatma ATALAY ÜYE	Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon	G.Ü.T.F Fiziksel Tıp ve Reha.A.D.	K		E	xx	E	
				x	H		H	
Prof.Dr.Çağatay ÇİFTER ÜYE	Genel Cerrahi	G.Ü.T.F Genel Cerrahi A.D	E		E	xx	E	
				x	H		H	
Prof.Dr.Seyhan ERSAN ÜYE	Farmasötik Kimya Ecz. Fak.	G.Ü.E.F (Ecz.Fak.) Farmasötik Kimya	K		E	xx	E	
				x	H		H	
Prof.Dr.Reha KURUOĞLU ÜYE	Nöroloji	G.Ü.T.F Nöroloji A.D.	E		E	xx	E	
				x	H		H	
Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Etiği ve Tıp Tarihi	G.Ü.T.F Tıp Etiği ve Tıp tarihi A.D.	K		E	xx	E	
				x	H		H	
Doç.Dr.Mehmet Ali Ergün ÜYE	Tıbbi Genetik	G.Ü.T.F Tıbbi Genetik A.D.	E		E	xx	E	
				x	H		H	
Doç.Dr.Aylar POYRAZ ÜYE	Tıbbi Patoloji	G.Ü.T.F Tıbbi Patoloji A.D	K		E	xx	E	
				x	H		H	
Doç.Dr.Canan ULUOĞLU ÜYE	Tıbbi Farmakoloji	G.Ü.T.F Tıbbi Farmakolji A.D.	K		E		E	Raporlu
				x	H	X	H	
Doç.Dr.Münci YAĞCI ÜYE	İç Hastalıkları - Hematoloji	G.Ü.T.F İç Hastalıkları A.D.	E		E	xx	E	
				x	H		H	
Yrd.Doç.Dr.Birol DEMİREL ÜYE	Adli Tıp	G.Ü.T.F Adli Tıp A.D.	E		E		E	Katılmadı
				x	H	X	H	
Hukuk Müşaviri Adem GELİR ÜYE	Hukuk Müşavirliği	Rektörlük Hukuk Müşavirliği	E		E	xx	E	
				x	H		H	

* Araştırma İle İlişki
** Toplantıda Bulunma