

KÖTÜ OVER YANITLI HASTALARDA UZUN PROTOKOL İLE MİKRODOZ FLARE UP PROTOKOLÜNÜN IVF-ICSI SONUÇLARI AÇISINDAN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Mustafa Kara,¹ Dr. Kenan Sofuoğlu²

¹ Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, Yozgat

² Zeynep Kamil Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tüp Bebek Ünitesi, İstanbul

ÖZET

Amaç: Kötü over yanıtı hastalarda uygulanacak kontrollü ovarian hiperstimülasyon (KOH) tedavisi in vitro fertilizasyon (IVF) programlarının önemli meselelerinden biridir. Çalışmamızın amacı kötü over yanıtı hastalarda 2 gonadotropin tedavi rejiminin (uzun protokol ve mikrodoz flare protokolü) karşılaştırmasını yapmaktır.

Materyal ve Metod: Çalışmaya katılan hastalardan 124 tanesi uzun protokol, 140'ı mikrodoz protokolü ile tedavi edildi. Adetin 2. günündeki FSH düzeyi >15 IU/L ve antral folikül sayısı <4 olanlar çalışmaya dahil edildi. Uzun protokol alan hastalara 450 IU, mikrodoz tedavisi uygulananlara ise 450 IU ileri derecede saflaştırılmış üriner folikül stimülan hormon (HP uFSH) verildi.

Bulgular: Mikrodoz protokolü uygulanan grupta human koriyonik gonadotropin (hCG) günündeki fertilizasyon oranı, >18 mm olan folikül sayısı, elde edilen matür oosit sayısı, endometrial kalınlık uzun protokol grubundan daha yüksekti, ama bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Sonuç: Mikrodoz protokolü kötü over yanıtı olguların tedavisinde uzun protokolden daha etkili bulunmuştur. Her 2 grupta da aynı tip FSH preparatı kullanılmasına rağmen mikrodoz grubunda daha yüksek gebelik oranları elde edilmiş, ama bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Anahtar Kelimeler: İn vitro fertilizasyon, folikül stimülan hormon, ovulasyon indüksiyonu, gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH) **Nobel Med 2012; 8(3): 87-90**

COMPARISON OF THE LONG PROTOCOL AND MICRODOSE FLARE UP PROTOCOL IN RELATION WITH IVF-ICSI OUTCOME IN POOR RESPONDER PATIENTS

ABSTRACT

Objective: Controlled Ovarian Hyperstimulation (COH) in the poor responders is an important challenge in in-vitro fertilization (IVF) programs. The aim of our study was to compare the two gonadotropin regimes (long protocol and microdose flare protocol) in poor responder patients.

Material and Method: While long protocol was given in 124 patients, microdose protocol was performed in 140 patients. The patients who have FSH value >15 IU/L and antral follicle number <4, on the second day of the menstruation were included the study. The patients in long

protocol group were given 450 IU highly purified urinary follicle stimulating hormone (HP uFSH), the ones in microdose treatment were given 450 IU HP uFSH.

Results: Fertilization rate, >18 mm follicle number, mature oocyte number and endometrial thickness on human chorionic gonadotropin (hCG) day were better in microdose protocol group than long protocol group, but these differences were not statistically significant.

Conclusion: Microdose protocol was found to be efficacious than long protocol. Despite using the same FSH preparation, pregnancy rates were better in microdose group, but these values were found to be statistically not significant.

Key Words: In vitro fertilization, follicle stimulating hormone, ovulation induction, gonadotropin releasing hormone (GnRH) **Nobel Med 2012; 8(3): 87-90**

GİRİŞ

Over rezervinin kısıtlı olduğu olgularda genellikle kısa protokollerle indüksiyon tercih edilir. Kötü over yanıtı ya da düşük over rezervli olarak adlandırılan bu olgulara yaklaşım konusunda henüz bir fikir birliği mevcut değildir.¹ Bunun nedeni hangi protokol uygulanırsa uygulansın, kötü over yanıtı olgularda ovarian cevabın büyük oranda değiştirilemeyeceği gerçeğidir. Kötü yanıt veren hastalar, çok sayıda folikül gelişimi için daha fazla miktarda gonadotropine gereksinim duyarlar. Ancak, gonadotropinleri belli bir dozun üzerinde artırmanın faydalı olmadığı gösterilmiştir. Bu olgularda kısa süreli “Gonadotropin releasing hormon” (GnRH) analogu protokolleri uygulanırken, GnRH analoglarının (GnRHa) endojen gonadotropinleri alevlendirici etkisinden yararlanılmaktadır.^{2,3} Ancak kısa ya da co-flare protokolleri endojen gonadotropinleri artırarak oosit kalitesinde bozulma, düşük fertilizasyon ve corpus luteum persistansı gibi istenmeyen etkilere yol açabilir. Kısa protokollerde prematür LH piki ve buna bağlı siklus iptali riski daha yüksektir. Ancak uzun protokolda zaten over rezervi düşük olan hastaya kısa protokole göre daha uzun bir süre GnRH analogu verilmektedir ve bu durum overlerin daha fazla baskılanmasına neden olur. Mikrodoz protokol ile tedavi yapmadan önce oral kontraseptif (OKS) kullanılırsa GnRH analoguna bağlı corpus luteum persistansının önüne geçilebilir.^{4,5}

Birçok çalışma mikrodoz “flare up” tedavisinin kötü over yanıtı hastalarda ovarian yanıtı ve klinik sonuçları iyileştirdiğini göstermiştir.^{6,7} GnRH analoglarının yaygın bir şekilde kullanılmasına rağmen insanlarda etkili en düşük dozunun ne olduğu hakkındaki bilgilerimiz sınırlıdır. Navot ve ark. çok düşük dozdaki GnRHa’yı sinomolgus maymunları ve insanlarda kullanmış ve 10 µg dozdaki histrelinin insanlardaki kontrollü ovarian hiperstimülasyon (KOH) için yeterli olduğunu ileri sürmüştür.⁸

Bu bilgilerin ışığında kötü over yanıtı olup da in vitro fertilizasyon-intrasitoplazmik sperm injeksiyonu (IVF-ICSI) planlanan hastalardan uzun protokol alan 124 kadın ile mikrodoz protokol uygulanan 140 kadının tedavi sonuçlarını değerlendirmeyi amaçladık.

MATERYAL ve METOD

Hastanemizin tüp bebek kliniğine Ocak 2009 ile Ocak 2010 yılları arasında başvuran infertil hastaların dosyaları retrospektif olarak tarandı. Çalışmaya katılan 264 hastanın seçim kriterleri aynıydı. Adetinin 2. gününde serum FSH düzeyi <15 IU/L ve antral folikül sayısı <4 olan hastalar çalışmaya dahil edildi. Her 2 gruptaki hastaların dağılımı homojendi. Çalışma ile ilgili karı-

şıklığın önüne geçmek için her hastanın yalnızca bir siklusu kullanıldı. Tüm hastalara standart IVF-ICSI işlemi uygulandı. Her iki protokolda de standart olarak oral kontraseptif uygulamak yerine yalnızca over kisti ya da adet düzensizliği olanlara tedaviden önceki adet 2. gününde oral kontraseptif başlandı ve 3 haftalık tedaviyi takiben hastalar 2 protokolden birine alındı. Hastalar 2 gruba randomize edildi.

Uzun protokoldeki hastalara siklusun 21. gününde 1 mg/gün dozunda löprolid başlandı. En az 10 günlük tedavi uygulandıktan sonra hastalar ovarian supresyonun oluştuğunu saptamak amacıyla adet 2. gününde transvaginal ultrasonografi (TV USG) ve serum estradiol (E₂) takibine alındı. Ovarian baskılanma doğrulandıktan sonra hastalara ileri derecede saflaştırılmış ürener FSH 450 IU dozunda başlandı ve GnRHa dozu 0,5 mg/gün’e düşürüldü. HP uFSH dozu daha önceki tedaviye verilen yanıt, vücut kitle indeksi (VKİ) ve yaşa göre bireysel olarak ayarlandı.

Mikrodoz protokolündeki hastalara siklusun 2. gününde 0,1 mg/gün dozunda löprolid asetat başlandı ve hCG gününe kadar aynı dozda devam edildi. Adet 3. günü ürener FSH 450 IU dozunda başlandı ve doz daha önceki tedaviye verilen yanıt, vücut kitle indeksi (VKİ) ve yaşa göre bireysel olarak ayarlandı.

Foliküler gelişim monitörize edilerek serum E₂ seviyesi ve ultrasonografik ölçümlere göre doz ayarlaması yapıldı. Bir ya da iki folikül 17 mm çapa ulaştığı zaman final matürasyonu için hCG (5000 IU x 2) verildi. İnsan koriyonik gonadotropini verildikten 36 saat sonra transvaginal ultrasonografi eşliğinde foliküler sıvı aspirasyonu uygulandı. Toplanan oositler 2-4 saat boyunca inkübatörde inkübe edildikten sonra denü-dasyon işlemi için hiyaluronidaz uygulandı. Tüm vakalarda IVF-ICSI uygulandı.

Semen örnekleri gradient metodu kullanılarak yıkandı. Sperm hazırlanması için izole sperm ayırma medyumunu ve Quinn sperm yıkama medyumunu kullanıldı. Embriyo kültürü için G-MOPS plus, G-IVF plus, G1-plus, G2-plus besi yerleri kullanıldı. Embriyolar 1., 3. ve 5. günde blastomer sayısı, blastomer görünümü ve fragmentasyon oranına göre tip 1, 2, 3 ve 4 olmak üzere gruplara ayrıldı. Oosit toplandıktan sonraki 2, 3 ve 5. günlerde 1 ya da 2 embriyo transferi yapıldı. Transfer için Rocket ince duvarlı transfer seti kullanıldı.

Vaginal yolla verilen progesteron ile luteal faz desteği sağlandı. Oosit toplama gününde başlanan progesteron desteği 12. gebelik haftası bitimine kadar devam ettirildi. Embriyo transferinden 6 hafta sonra yapılan transvaginal ultrasonografide gebelik kesesinin görülmesi ile klinik gebelik tanısı kondu. →

Tek yönlü varyans analizi (ANOVA), öğrenci t testi ve ki-kare testleri uygulandı. $p < 0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi. Sonuçlar \pm standart sapma olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Her 2 tedavi protokolündeki hastaların demografik özellikleri Tablo 1'de özetlenmiştir. Her iki gruptaki hastalar arasında yaş, ağırlık, infertilite süresi, 2. gündeki FSH ve E_2 düzeyleri açısından fark yoktu. KOH ve siklus sonuçları ise Tablo 2'de gösterilmiştir. Toplanan oosit sayısı, metafaz 2 oosit sayısı, hCG günündeki endometriyal kalınlık, hCG günündeki E_2 düzeyi, >18 mm folikül sayısı, 12-17 mm folikül sayısı, fertilizasyon oranı ve klinik gebelik oranı açısından fark yoktu. Ancak mikrodoz "flare up" protokolü uygulanan grupta genel olarak sonuçlar daha iyi idi.

TARTIŞMA

Klinik olarak kötü over rezervli hastalardaki KOH protokollerini değerlendirmenin zorluklarından birisi evrensel olarak kabul edilmiş klasik bir tanımlamanın olmamasıdır.⁹ Önerilen protokole dahil edilme kriteri olarak bir dizi kriter tek başına ya da kombine olarak kullanılmıştır. Bugünkü araştırmalar kötü over yanıtını tanımlarken tek bir kriterden çok; daha önceki tedaviye zayıf yanıt, ileri anne yaşı ve over rezervinin standart yöntemlerle değerlendirilmesi gibi kombine kriterleri kullanmaktadır.^{10,11} Zayıf yanıt verecek hastaları tahmin etme ve onlar için uygun olan tedavi rejimini planlama konusunda sorun yoktur. Böylece bu hastalar için zayıf yanıt alınabilecek standart bir rejim yerine onlar için daha uygun olan tedavi yöntemi belirlenir. İdeal olanı standart yöntemlerin kullanılması ile homojenize edilmiş bir popülasyonda randomize kontrollü bir çalışma yapılmasıdır.

Mikrodoz flare up rejiminin zayıf yanıtı hastalarda etkili bir tedavi yöntemi olduğu gösterilmiştir. Yüksek doz GnRH analogunun FSH başlanma gününden 1 gün önce verildiği geleneksel flare rejimleri foliküler fazdaki androjen ve progesteron seviyelerini artırır ve bu durum foliküler gelişim ve oosit kalitesinde bozulmayla sonuçlanır.^{12,13} Bu etkiyi azaltmak için endojen gonadotropin stimülasyonunu sağlayacak en düşük dozda GnRH analogu verilmesi hedeflenir.

Taşdemir ve ark. kötü over yanıtı hastalarda GnRH agonisti ile birlikte uzun ve kısa protokolü karşılaştırdıkları çalışmalarında uzun protokole daha iyi sonuç aldıklarını bildirmişlerdir.¹⁴

Detti ve ark.'nın 2005 yılında yaptıkları çalışmada düşük over rezervli hastalar 3 farklı stimülasyon re-

Özellik	Uzun protokol (n=124)	Mikrodoz flare up (n=140)	p değeri
Yaş (yıl)	33,4 \pm 2,1	34,1 \pm 2,5	AD
Ağırlık (kg)	68,4 \pm 4,7	71,2 \pm 5,6	AD
İnfertilite süresi (yıl)	9,1 \pm 2,2	8,6 \pm 1,9	AD
2. gün FSH düzeyi (IU/L)	14,3 \pm 3,5	15,1 \pm 2,9	AD
2. gün E_2 düzeyi (IU/L)	29,6 \pm 3,6	31,5 \pm 4,8	AD

AD: Anlamlı değil

Değişkenler	Uzun protokol (n=124)	Mikrodoz "flare up" (n=140)	p değeri
hCG günündeki endometriyal kalınlık (mm)	7,4 \pm 2,9	9,2 \pm 3,2	AD
hCG günündeki E_2 düzeyi (pg/ml)	1271 \pm 233	1404 \pm 312	AD
>18 mm folikül sayısı	1,3 \pm 0,8	1,6 \pm 1,0	AD
12-17 mm folikül sayısı	3,1 \pm 1,9	4,2 \pm 3,1	AD
Toplanan oosit sayısı	4,9 \pm 1,2	6,2 \pm 1,5	AD
Metafaz 2 oosit sayısı	2,4 \pm 1,1	3,1 \pm 2,3	AD
Fertilizasyon oranı (%)	70,3 \pm 18,7	79,5 \pm 23,5	AD
Klinik gebelik oranı (%)	18	25	AD

AD: Anlamlı değil

jimiyle tedavi edilmiş, 1. grupta GnRHa 500 μ g/gün dozuyla bir önceki siklusun midluteal fazında başlanıp adet 2. gününde gonadotropinler başlanınca kesilmiş, 2. grupta 20 μ g/gün gibi düşük bir dozda başlanan GnRHa adet 2. gününden hCG gününe kadar aynı dozda verilmiş (mikrodoz protokol), 3. grupta ise adet 2. günü 1 mg/gün dozunda başlanan GnRHa 3 gün sonra 250 μ g/gün dozuna düşürülmüş ve hCG gününe kadar aynı dozda verilmiştir. Sonuç olarak mikrodoz protokolün uygulandığı grupta daha iyi gebelik ve doğum oranları elde edilmiştir.¹⁵

GnRH analoglarının kullanımının prematür luteinizasyonu önleyerek toplanan oosit miktarını artırdığı ve netice itibarıyla siklus başına ve embriyo transferi başına gebelik oranını artırdığı gösterilmiştir.¹⁶ Biz bu çalışmamızda her 2 tedavi rejimi arasında klinik gebelik oranı açısından anlamlı bir farklılık bulmadık. Surrey ve ark. mikrodoz flare up protokolünün foliküler fazdaki serum FSH düzeyini yükselttiğini ama, bu durumun luteinizan hormon (LH), progesteron (P) ve testosteronda (T) bir yükselmeye yol açmadığını göstermişlerdir.¹⁷ Bu durum, bu tedavi protokolünün literatürde bildirilen daha yüksek başarı oranlarının sebebini açıklamaktadır. Biz kendi çalışmamızda mikrodoz protokolü ile fertilizasyon ve gebelik oranlarını uzun protokole göre daha yüksek bulduk ancak, sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kötü over yanıtı hastalardaki tedavi rejimlerini karşılaştıran diğer çalışmalar da benzer şekilde anlamlı olmayan sonuçlara ulaşmıştır. Akman ve arkadaşları GnRH analogları ve antagonistlerini karşılaştırdıkları randomize \rightarrow

KÖTÜ OVER YANITLI HASTALARDA UZUN PROTOKOL İLE MİKRODOZ FLARE UP PROTOKOLÜNÜN İVF-İCSİ SONUÇLARI AÇISINDAN KARŞILAŞTIRILMASI

çalışmada birbirine yakın gebelik oranları elde etmiştir (sırasıyla, %17 ve %21).¹⁸ İki GnRH analogu rejimini karşılaştıran 60 hastalık bir randomize çalışmada Weisman ve ark. uzun mini doz protokolü ile modifiye flare protokolünden daha yüksek (%5'e karşın %25,9) gebelik oranları elde etmiş ama, bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.¹⁹ Daha yakın bir tarihte Goswami ve arkadaşları GnRH+rekombinan FSH (rFSH) ile letrozol+rFSH verdikleri 2 hasta grubunu karşılaştırmış ve birbirine yakın (%24'e karşın %25) gebelik oranları elde etmişlerdir. Bununla birlikte letrozol protokolü daha az rFSH stimülasyonu gerektirdiği için daha ucuz bulunmuştur.²⁰

Schoolcraft ve arkadaşları 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada mikrodoz flare up protokolü ile GnRH antagonisti+letrozol protokolünü karşılaştırmış ve pik östrojen düzeyleri haricinde 2 tedavi rejimini benzer bulmuştur. Bununla birlikte implantasyon ve gebelik oranları mikrodoz grubunda daha iyi bulunmuştur.²¹

Bizim çalışmamızdaki veriler karşılaştırıldığında sonuçların anlamlı olmamasının nedenlerinden biri hasta sayılarımızın az olmasıdır. Sonuçları daha iyi değerlendirebilmek için birkaç merkezde birden yürütülecek ve daha fazla hasta sayısı içeren prospektif randomize çalışmalar gerekmektedir.

İ	İLETİŞİM İÇİN: Dr. Mustafa Kara Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi Adnan Menderes Bulvarı No: 190 Yozgat mustafa.kara@bozok.edu.tr
✓	GÖNDERDİĞİ TARİH: 30 / 12 / 2010 • KABUL TARİHİ: 11 / 03 / 2011

KAYNAKLAR

1. Loverro G, Nappi L, Mei L, et al. Evaluation of functional ovarian reserve in 60 patients. *Reprod Biomed Online* 2003; 7: 200-204.
2. Padilla S L, Dugan K, Maruschak V, et al. Use of flare up protocol with high dose human follicular stimulating hormone and human menopausal gonadotropins for in vitro fertilization in poor responders. *Fertil Steril* 1996; 65: 796-799.
3. Raga F, Bonilla-Musoles F, Casan EM, Bonilla F. Recombinant follicle stimulating hormone stimulation in poor responders with normal basal concentrations of follicle stimulating hormone and oestradiol: improved reproductive outcome. *Hum Reprod* 1999; 14: 1431-1434.
4. de Placido G, Mollo A, Alviggi C, et al. Rescue of IVF cycles in pituitary down regulated normogonadotrophic young women characterized by a poor initial response to recombinant FSH. *Hum Reprod* 2001; 16: 1875-1879.
5. Leondires MP, Escalpes M, Segars JH, Scott RT, Miller BT. Microdose follicular phase gonadotropin-releasing hormone agonists (GnRH-a) compared with luteal phase GnRH-a for ovarian stimulation at in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1999; 72: 1018-1023.
6. 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: 880-885.
7. 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: 93-97.
8. Navot D, Rosenwaks Z, Anderson F, Hodgen GD. Gonadotropin-releasing hormone agonist-induced ovarian hyperstimulation: low-dose side effects in women and monkeys. *Fertil Steril* 1991; 55: 1069-1075.
9. Surrey E, Schoolcraft WB. Evaluating strategies for improving ovarian response of the poor responder undergoing assisted reproductive technologies. *Fertil Steril* 2000; 73: 667-676.
10. Sharara F, Scott R. Assessment of ovarian reserve and treatment of low responders. *Reprod Med Clin NA* 1997; 8: 501-522.
11. Scott R, Hofman G. Prognostic assessment of ovarian reserve. *Fertil Steril* 1995; 63: 1-11.
12. San Roman G, Surrey E, Judd H, Kerin J. A prospective randomized comparison of luteal phase versus concurrent follicular phase initiation of gonadotropin-releasing hormone agonist for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1992; 58: 744-749.
13. Gelety T, Pearlstone A, Surrey E. Short-term endocrine response to gonadotropin-releasing hormone agonist initiated in the early follicular, mid luteal or late luteal phase in normally cycling women. *Fertil Steril* 1995; 64: 1074-1080.
14. Tasdemir M, Tasdemir I, Kodama H, et al. Short protocol of gonadotropin releasing hormone agonist administration gave better results in long protocol responders in IVF-ET. *J. Obstet Gynaecol Res* 1996; 22: 73-77.
15. Detti L, Williams D, Robins J, Maxwell R, Thomas M. A comparison of three down regulation approaches for poor responders undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2005; 84: 1401-1405.
16. Huges E, Fedorkow D, Daya S, et al. The routine use of gonadotropin releasing hormone agonists prior to in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertil Steril* 1992; 58: 888-896.
17. Surrey E, Bower J, Hill D, Ramsey J, Surrey M. Clinical and endocrine effects of a microdose GnRH agonist flare regime administered to poor responders who are undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1998; 69: 419-424.
18. Akman MA, Erden HF, Tosun SB, et al. Comparison of agonistic flare-up-protocol and antagonistic multiple dose protocol in ovarian stimulation of poor responders: results of a prospective randomized trial. *Hum Reprod* 2001; 16: 868-870.
19. Weissman A, Farhi J, Royburt M, et al. Prospective evaluation of two stimulation protocols for low responders who were undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 2003; 79: 886-892.
20. Goswami SK, Das T, Chattopadhyay R, et al. A randomized single-blind controlled trial of letrozole as a low-cost IVF protocol in women with poor ovarian response: a preliminary report. *Hum Reprod* 2004; 19: 2031-2035.
21. Schoolcraft WB, Surrey ES, Minjarez DA, Stevens JM, Gardner DK. Management of poor responders: can outcomes be improved with a novel gonadotropin-releasing hormone antagonist / letrozole protocol? *Fertil Steril* 2008; 89: 151-156.