

## Araştırma Makalesi

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg 2024;17(2):242-250

doi:10.26559/mersinsbd.1379691

# Agonist/antagonist kontrollü over hiperstimülasyon rejimlerinde serum ve folliküler sıvı iskemi modifiye albümin düzeyleri ve gebelik oranları ile ilişkisi

 Dilay Gök Korucu<sup>1</sup>,  Rengin Karataylı<sup>2</sup>,  Aysun Toker<sup>3</sup>,

 Kazım Gezginç<sup>4</sup>,  Mehmet Cengiz Çolakoğlu<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Sağlık Bilimleri Üniv., Konya Şehir Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD., Konya, Türkiye

<sup>2</sup>Özel KONYA Medicana Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD., Konya, Türkiye

<sup>3</sup>Acıbadem Lab. MED. Tıbbi Biyokimya AD., İstanbul, Türkiye

<sup>4</sup>Necmettin Erbakan Üniv., Kadın Hastalıkları ve Doğum AD., Konya, Türkiye

## Öz

**Amaç:** İn vitro fertilizasyon (IVF) sikluslarında uzun GnRH analog protokol veya kısa GnRH antagonist protokol alan normoresponder hastalarda klinik gebelik oranları ve siklus parametrelerini bir oksidatif stres belirteci olan iskemi modifiye albümin düzeyleri (İMA) ile karşılaştırmayı amaçladık. **Yöntem:** Uzun GnRH analog protokolü alan 30 hasta ve kısa GnRH antagonist protokolü alan 30 hasta, toplam 60 normoresponder hasta çalışmaya dahil edildi. Hastalardan kan ve foliküler sıvı örnekleri oosit toplama (OPU) günü alındı. İMA düzeyleri Bar-Or ve ark. tarafından tanımlanan, kobaltın albümin ile bağlanmasını azaltan hızlı ve kalorimetrik bir teknikte manuel olarak ölçüldü. İstatistiksel yöntem olarak, t-testi veya Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kategorik verilerin gruplar arasındaki frekans dağılımını belirlemek için ki-kare testi kullanıldı. Etki büyüklükleri, parametrik ve parametrik olmayan karşılaştırmalar için Cohen's d ve kategorik değişkenler için Cramér's V kullanıldı. Biyokimyasal parametrelerin korelasyonları için parametrik değerlerde Pearson korelasyon katsayısı ve parametrik olmayan verilerde Spearman korelasyon katsayısı kullanılmıştır. **Bulgular:** Her iki grup arasında demografik veriler, siklus parametreleri, klinik gebelik oranları arasında anlamlı fark yoktu ( $p>0.05$ ). Kısa GnRH antagonist protokolde serum İMA değeri anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p=0.043$ ). Her iki tedavi grubunda da foliküler sıvı İMA düzeyleri ile gebelik oranları arasında korelasyon saptandı ( $r=0.042$ ,  $r=0.056$ ). **Sonuç:** Kısa GnRH antagonist protokolde serum İMA düzeyleri uzun GnRH analog protokolden yüksek olsa da en son nokta olan klinik gebelikler arasında her iki tedavi protokolünde anlamlı farklılık bulunmamıştır. Normoresponder hastaların IVF sikluslarında her iki protokolde tercih edilebilir. Oksidatif stres belirteci olan İMA düzeyleri erken dönemde IVF başarısının belirlenmesinde kullanılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Foliküler sıvı, iskemi modifiye albümin, kısa GnRH antagonist protokol, uzun GnRH agonist protokol

**Yazının geliş tarihi:** 07.11.2023

**Yazının kabul tarihi:** 20.03.2024

**Sorumlu Yazar:** Dilay Gök Korucu, Sağlık Bilimleri Üniv., Konya Şehir Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD., Konya, Türkiye, Tel: 0530 3301168, E-posta: dilaygok@yahoo.com

**Not:** Bu makale Dilay Gök Korucu'nun "Agonist/antagonist kontrollü over hiperstimülasyon rejimlerinde serum ve folliküler sıvı iskemi modifiye albümin düzeyleri ve gebelik oranları ile ilişkisi" başlıklı doktora tez çalışmasından üretilmiştir.

## Serum and follicular fluid ischemia modified albumin levels in agonist/antagonist controlled ovarian hyperstimulation regimens and their relationship with pregnancy rates

### Abstract

**Aim:** We aimed to compare clinical pregnancy rates and cycle parameters with ischaemia-modified albumin levels (IMA), a marker of oxidative stress, in normoresponder patients receiving long GnRH analogue protocol or short GnRH antagonist protocol in in vitro fertilisation (IVF) cycles. **Method:** 60 normoresponder patients, 30 receiving the long GnRH analog protocol and 30 patients receiving the short GnRH antagonist protocol, were included. Blood and follicular fluid samples were taken from the patients on the oocyte pick up (OPU) day. IMA levels was measured manually using a rapid, calorimetric technique described by et Bar-Or et al., which reduces the binding of cobalt to albumin. As statistical method, t-test or Mann-Whitney U test was used. Chi-square test was used to determine the frequency distribution of categorical data between groups. Findings were obtained using Cohen's d for effect sizes, parametric and non-parametric comparisons, and Cramér's V for categorical variables. For correlations of biochemical parameters, Pearson correlation coefficient was used for parametric values and Spearman correlation coefficient for non-parametric data. **Results:** There was no significant difference in demographic data, cycle parameters, and clinical pregnancy rates between the two groups ( $p>0.05$ ). Serum IMA value was found to be higher in the short protocol ( $p = 0.043$ ). A correlation was detected between follicular fluid IMA and pregnancy rates in both treatment groups ( $r = 0.042$ ,  $r = 0.056$ ). **Conclusion:** Both protocols can be preferred in IVF cycles of normoresponder patients. IMA, a marker of oxidative stress, can be used to determine IVF success in the early period.

**Keywords:** Follicular fluid, ischemia modified albumin, short GnRH antagonist protocol, long GnRH agonist protocol

### Giriş

Kontrollü ovaryan hiperstimülasyon (KOH) protokolü, çok sayıda oositin toplanması ve dolayısıyla birden fazla embriyonun gelişmesini sağlayarak IVF tedavilerinin başarısındaki temel faktörlerden biridir. Ovaryan stimülasyon (OS) genellikle gonadotropinlerin ve gonadotropin salgılayan hormon (GnRH) analoglarının birlikte uygulanmasını içerir; en sık kullanılan iki protokol, uzun GnRH-agonisti (GnRH-ag) ve kısa çoklu doz GnRH-antagonisti (GnRH-ant), OS protokolüdür. Literatür taramasında bu iki protokolü karşılaştırırken canlı doğum oranı için çelişkili sonuçlar mevcuttur ve bir stimülasyon protokolünün diğerine göre net bir avantajı belirlenmemiştir.

GnRH agonistinin avantajı, erken luteinize edici hormon (LH) dalgalanmasını

önlemek, böylece alınan oosit sayısını ve gebelik oranlarını arttırmak ve siklus iptallerinin sayısını azaltmaktır. Ancak bu avantajlar, over hiperstimülasyon sendromuna (OHSS) veya diğer yan etkilere yol açabilir.<sup>1</sup>

1990'larda keşfedilen GnRH antagonisti, GnRH reseptörlerini kompetitif bir şekilde bloke ederek gonadotropin salınımının hızlı baskılanmasına neden olabilir. Bu protokolün daha az komplikasyonu vardır ve daha kısa tedavi süresi ve daha az enjeksiyon nedeniyle hastalar için daha uygundur. Ancak etkinliği hala tartışmalıdır.<sup>2,3</sup>

Oksidatif stresin spermatogenez, folikülogenez, fertilizasyon, implantasyon ve plasentasyon dahil olmak üzere üremeyle ilgili temel süreçlere müdahale ederek infertiliteye katkıda bulunduğu inanılmaktadır. Subsellüler düzeyde, aşırı reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimi, hücre sinyal ağlarını düzensizleştirir ve DNA, lipitler ve proteinlerin oksidasyonuna yol açarak hücresel işlev bozukluğuna yol açabilir.<sup>4</sup> Doku iskemisi sırasında üretilen ROT'leri yüksek reaktif hidroksil radikali oluşturur. Bu radikal oluşumu özellikle N-Asp-Ala-His-Lys dizisi olmak üzere albuminin N terminal yapısında değişikliklere neden olur ve iskemi modifiye albuminin (İMA) oluşumuna yol açar. İMA ilk olarak miyokardiyal iskemide çalışılmıştır fakat diğer iskemik durumlar, Tip 2 diyabetes mellitus, pulmoner emboli, karaciğer sirozu, koroner bypass cerrahisi ve metabolik sendrom gibi birçok hastalığı değerlendirmede de faydalı olabilir. Şu anda İMA bir oksidatif stres belirteci olarak kabul edilmektedir ve aynı zamanda herhangi bir organda iskemi reperfüzyon ile ilgilidir.<sup>5</sup>

Literatürde uzun GnRH agonist protokol ile kısa GnRH antagonist protokolü siklus özellikleri ve gebelik parametrelerine göre karşılaştıran çalışmalar olsa da her iki protokolü oksidatif stres belirteçlerine göre karşılaştıran çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada ilk IVF denemesi olan normoresponder hastalarda uzun GnRH-ag protokol ile kısa GnRH-ant protokol alan 2 grubun serum ve folikül sıvı İMA düzeylerinin gebelik ile ilişkisi araştırılmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi etik kurul (Karar no: 2012/126) onayı ile, Helsinki Deklerasyonu Prensipleri'ne uygun olarak hastalardan sözlü ve yazılı onamlar alındıktan sonra; 2 Şubat 2012-01 Temmuz 2012 tarihleri arasında prospektif gözlemsel yapılan bu çalışmada Konya Özel Selçuklu Hastaneleri Tüp Bebek Merkezi'nden 60 normoresponder hastanın IVF sikluslarından folikül sıvı ve kan örnekleri toplandı. Çalışmaya ilk IVF denemesi, sigara

içmeyen, sistemik hastalığı olmayan, VKİ (vücut kitle indeksi) <30 kg/m<sup>2</sup> ve 20-35 yaş arası, FSH (folikül stimüle edici hormon) <10 U/L olan hastalar dahil edildi. Ek sistemik hastalığı, endometriozis/ endometrioma, polikistik over hastalığı, erkek faktörü, kötü over rezervi, daha önce IVF denemesi almış, sürekli ilaç kullanım öyküsü olan olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Uzun GnRH-ag protokolü (grup1, n=30) veya kısa GnRH-ant (grup2, n=30) protokolü uygulanan toplam 60 normoresponder olgu çalışmaya dahil edildi. Her iki grupta yaş, infertilite süresi, VKİ, adet 2. günü bakılan bazal FSH, LH, E2 (estradiol) değerleri demografik veriler olarak belirlendi. Çalışma grupları serum İMA, foliküler sıvı (FS) İMA, indüksiyon süresi, hCG gününde E2 düzeyi, toplanan oosit sayısı, MII oosit sayısı, fertilize oosit sayısı ve klinik gebelik oranı açısından karşılaştırıldı. Çalışmadaki primer amaç uzun GnRH-ag protokol alan hastalar ile kısa GnRH-ant protokol alan hastaların kan ve foliküler sıvılarındaki oksidatif stres belirteci olan İMA değerlerini ve klinik gebelik oranlarını karşılaştırmaktı. Sekonder amaç ise protokollerdeki serum ve FS İMA değerlerinin siklus parametreleri ve demografik verilerle olan korelasyonunu incelemektir.

## Ovaryan Stimulasyon Protokolü

Uzun GnRH-ag protokol uygulanan hastalarda GnRH analogu (Lucrin®; Abbot, Türkiye) önceki siklusun midluteal fazından başlayarak hipofiz down regülasyonu sağlandı. Optimum down regülasyon elde edildikten sonra adet 2. yada 3. gününde İnsan Menopozal Gonadotropini (Menogon®; Erkim, Türkiye/ Menopur; Erkim, Türkiye) bireysel dozları ile indüksiyon başlandı.

Kısa GnRH-ant protokol planlanan hastalarda adet 2. veya 3. günü bireysel dozlarda İnsan Menopozal Gonadotropini (Menogon®; Erkim, Türkiye/ Menopur; Erkim, Türkiye) gonadotropin tedavisi başladıktan beş veya altı gün sonra 12-13mm'ye ulaşan folikül görüldüğünde GnRH antagonisti (Cetrotide®; Serona, Türkiye) eklenerek gonadotropin indüksiyonuna devam edildi.

Her iki protokolde de foliküler büyüme transvajinal USG (ultrasonografi) ölçümleriyle düzenli olarak takip edildi. En az 2 folikül çapının 18 mm'den büyük olması durumunda 10.000 IU İnsan Koryonik Gonadotropini (Pregnyl®, Organon, Türkiye) ile son oosit matürasyon işlemi gerçekleştirildi.

HCG enjeksiyonundan ortalama 36 saat sonra oosit toplama işlemi gerçekleştirildi. 125 mmhg vakum basıncında 16 G iğneler ile proba en yakın olan 15-20 mm çaplı foliküllere keskin bir şekilde girilerek foliküller aspire edildi. Her aspirasyondan sonra toplama seti temizlendi ve bir sonraki foliküler sıvının kontaminasyonunu önlemek için yeni tüpler kullanıldı. İMA ölçümü için kan örnekleri oosit toplamaya başlamadan önce heparinize tüplere alındı, 4000 devirde 10 dk santrifüj edildikten sonra süpernatantları ependorflara alındı, çalışma gününe kadar -80°C'de bekletildi. Oosit toplama sırasında foliküler sıvı örnekleri çalışma için ayrıldı. 4000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek hücresel komponentlerinden ayrıldı ve -80°C'de çalışma gününe kadar bekletildi.

OPU ile eş zamanlı eşlerden ejakülat örnekleri alındı. Standart intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) işlemi yapıldıktan sonra oluşan embriyolardan en iyi kalitedeki embriyolar seçilerek 3. günde embriyo transferi gerçekleştirildi. Luteal faz desteği 600 mg/gün intravajinal mikronize progesteron (Progestan® kapsül, 200mg, Koçak, Türkiye) uygulamasıyla yapıldı. Tüm hastalar embriyo transferinde 12 gün sonra gebelik testi kontrolüne çağırıldı. Klinik gebelik transferden 3 hafta sonra USG'de fetal kalp atımı izlenen gebelik kesesi saptanması olarak tanımlandı.

### İMA Ölçümü

İMA, Bar-Or ve ark. tarafından tanımlanan, kobaltın albümin ile bağlanmasını azaltan hızlı ve kalorimetrik bir teknikte manuel olarak ölçüldü.<sup>7</sup> Cam tüplere 200 µl hasta serumu çekildi ve içerisine 50 µl %0.1 kobalt klorür (CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O®; Sigma, Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, MO) H<sub>2</sub>O ilave edildi. Hafifçe çalkalandıktan sonra çözelti 10 dakika bekletildi. Renklendirici madde

olarak 50 µl ditiyotreitöl (DTT) (1.5 mg/mL H<sub>2</sub>O; Sigma) ilave edildi ve reaksiyon, 1.0 mL %0.9 NaCl ile söndürüldü. Kalorimetrik kontrol numuneleri için 50 µl damıtılmış su, 50 µl 1.5 mg/mL DTT ile değiştirildi. Numune absorbansları spektrofotometre ile 470 nm'de analiz edildi (ShIMAdzu® UV-1601, ShIMAdzu Scientific Instruments, Inc., Columbia, MD). DDT'li tüplerin renkleri kontrol gruplarıyla karşılaştırıldı ve sonuçlar absorbans ünitelerinde (ABSU) yayınlandı.

### İstatistiksel Analiz

Toplanan verilerin analizlerini yapmak için SPSS 22.0 istatistik yazılımı (SPSS®Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılmıştır. Her iki grubun VKİ, yaş ve biyokimyasal parametreleri dağılım özelliklerine göre bağımsız değişkenler *t*-testi veya Mann-Whitney *U* testi kullanılarak karşılaştırıldı. Kategorik verilerin gruplar arasındaki frekans dağılımını belirlemek için ki-kare testi kullanıldı. Normal dağılımı belirlemek için -2 ile +2 arasındaki çarpıklık ve basıklık değerleri kullanıldı.<sup>14</sup> Anlamlılık değeri %95 güven aralığı ile *p*<0.05 olarak kabul edildi. Etki büyüklükleri, parametrik ve parametrik olmayan karşılaştırmalar için Cohen's *d* ve kategorik değişkenler için Cramér's *V* kullanılarak bulgulara erişildi. Cohen'in etki büyüklükleri ≥0.8 büyük, 0.5-0.7 orta, 0.2-0.4 küçük ve <0.2 etki yok olarak kategorize edilmiştir.<sup>15</sup> Biyokimyasal parametreler ile klinik değişkenler arasındaki korelasyonlar da değerlendirildi; değişkenler arasındaki ilişkileri değerlendirmek için kullanılan parametrik değerler için Pearson korelasyon katsayısı ve parametrik olmayan veriler için Spearman korelasyon katsayısı kullanılarak bulgulara ulaşılmıştır.

### Bulgular

Uzun GnRH-ag grup (Grup 1) ile kısa GnRH-ant grup (Grup 2) arasında yaş, infertilite süresi, VKİ, bazal hormon FSH, E2 düzeyi açısından anlamlı fark yoktu (*p*>0.05). Bazal LH düzeyi kısa protokol grubunda (grup 2) uzun protokol grubundan (grup 1) anlamlı olarak yüksek bulundu (6.03 U/L vs. 8.2 U/L, *p*<0.001).



Her iki grubu siklus parametreleri açısından değerlendirdiğimizde induksiyon süreleri, hCG günü bakılan E2 düzeyi, toplam oosit sayısı, MII oosit sayısı, transfer edilen embriyo sayısı, transfer günü bakılan endometrial kalınlıklar ve gebelik oranları arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Gruplar arasında serum ve foliküler sıvı İMA değerlerine

baktığımızda kısa protokolde serum İMA düzeyi uzun protokol alan gruptan anlamlı olarak yüksek bulundu ( $1.1225\pm 0.10022$  vs.  $1.0736\pm 0.09528$ ,  $p=0.043$ ), fakat folikül sıvı İMA'larda gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu ( $p=0.051$ ). Her iki grubun demografik veri, siklus özellikleri, klinik gebelik sonucu ve serum/ folikül sıvı İMA parametrelerinin karşılaştırılması Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Gruplar arası demografik veriler, siklus parametreleri, gebelik, İMA ilişkisi

	Uzun GnRH-an (N=30)	Kısa GnRH-ant (N=30)	<i>p</i>	<i>t/z</i>	<i>d</i>
Yaş (Yıl)	30.83±2.64	29.13±4.24	0.068	1.86	0.089
FSH (U/L) <sup>a</sup>	6.46±1.96	6.5±2.23	0.951 <sup>a</sup>	-0.06 <sup>a</sup>	0.306
LH (U/L)	8.23±1.85	6.03±1.71	0.001	4.77	0.123
E2 (ng/l)	36.7±8.16	35.4±9.06	0.562	0.58	0.000
VKİ (kg/m <sup>2</sup> )	22.13±1.67	21.36±1.90	0.103	1.65	0.042
İnfertilite süresi (Yıl)	5.46±1.81	5.23±2.14	0.651	0.45	0.011
İndüksiyon süresi (Gün)	10.93±1.72	10.6±1.27	0.391	0.85	0.721
Hcg gunu E2 düzeyi (ng/l)	1641.06±455.63	1375.7±600.28	0.059	1.92	0.305
Toplanan total oosit sayısı	10.1±3.80	9.3±4.45	0.235	1.19	0.000
MII oosit sayısı	4.16±2.30	3.66±2.00	0.374	0.89	0.023
Transfer edilen embriyo sayısı <sup>a</sup>	1.76±0.72	1.83±0.69	0.719 <sup>a</sup>	-0.36 <sup>a</sup>	0.009
Transfer günü EK (mm)	10.4±1.83	10.16±1.87	0.628	0.48	0.547
Serum İMA (ABSU) <sup>a</sup>	1.07±0.09	1.12±0.10	0.043 <sup>a</sup>	-2.06 <sup>a</sup>	0.053
Folikül Sıvı İMA (ABSU) <sup>a</sup>	1.35±0.13	1.40±0.14	0.051 <sup>a</sup>	-1.95 <sup>a</sup>	0.029
Klinik Gebelik Sayısı	16.2	14.3	0.779	0.28	0.318

FSH: folikül stimulan hormon. LH: luteinizan hormon. E2: estradiol. VKİ: vücut kitle indeksi, İMA: iskemi modifiye albümin. GnRH-an: Gonadotropin releasing hormon agonist. GnRH-ant: Gonadotropin releasing hormon antagonist. EK: endometrial kalınlık. ABSU: absorbans unit *d*: Cohen's d effect size, *t*: bağımsız t testi t skoru, *z*: Mann-Whitney U testi z skoru <sup>a</sup>Mann-Whitney U test.

Uzun GnRH-ag protokol alan hastalarda serum ve foliküler sıvı İMA düzeyleri analizine bakıldığında; serum İMA değerinin yaş ile yüksek korele olduğu saptandı ( $r=0.08$ ). Serum İMA ile induksiyon süresi, infertilite süresi, VKİ ve klinik gebelik sayısı arasında negatif korelasyon saptandı ( $r=-0.123$ ,  $r=-0.301$ ,  $r=-0.255$ ,  $r=-0.079$ ). Uzun GnRH-ag protokol grubunda foliküler sıvı İMA ile induksiyon süresi, VKİ, MII oosit

sayısı arasında negatif korelasyon bulunurken ( $r=-0.051$ ,  $r=-0.129$ ,  $r=-0.28$ ), gebelik ile folikül sıvı İMA arasında orta düzeyde korelasyon saptandı ( $r=0.042$ ).

Uzun protokol alan hasta grubundaki serum ve folikül sıvı İMA değerlerinin demografik veriler, siklus parametreleri ve klinik gebelik sayıları ile korelasyonu Tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 2.** Serum İMA ve folikül sıvı İMA ile uzun GnRH-ag grubun korelasyon katsayıları

		Yaş (Yıl)	İnfertilite süresi (Yıl)	İndüksiyon süresi (Gün)	MII oosit sayısı	Transfer edilen embriyo sayısı	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	Gebelik Sayısı
Serum İMA(ABSU)*	p	0.675*	0.106*	0.519*	0.37*	0.436*	0.173*	0.679*
	r	0.08	-0.301	-0.123	0.17	-0.102	-0.255	-0.079
Folikül Sıvı İMA(ABSU)*	p	0.999*	0.307*	0.79*	0.135*	0.855*	0.496*	0.825*
	r	0,00	0.193	-0.051	-0.28	-0.24	-0.129	0.042

\*Spearman

Kısa antagonist protokolü ile tedavi alan hasta grubunda serum İMA ile yaş, infertilite süresi, VKİ ve klinik gebelik sayısı arasında negatif korelasyon saptandı ( $r=-0.312$ ,  $r=-0.263$ ,  $r=-0.206$ ,  $r=-0.032$ ) fakat klinik gebelik sayısı folikül sıvı İMA arasında

orta düzeyde korelasyon saptandı ( $r=0.056$ ). Kısa antagonist hasta grubundaki serum ve folikül sıvı İMA değerlerinin demografik veriler, siklus parametreleri ve klinik gebelik sayıları ile korelasyonu Tablo 3'de verilmiştir.

**Tablo 3.** Serum İMA ve folikül sıvı İMA ile kısa GnRH-ant grubun korelasyon katsayıları

		Yaş (Yıl)	İnfertilite süresi (Yıl)	İndüksiyon süresi (Gün)	MII oosit sayısı	Transfer edilen embriyo sayısı	VKİ (kg/m <sup>2</sup> )	Gebelik Sayısı
Serum İMA(ABSU)*	p	0.093*	0.16*	0.899*	0.534*	0.204*	0.275*	0.865*
	r	-0.312	-0.263	0.024	0.118	-0.239	-0.206	-0.032
Folikül Sıvı İMA(ABSU)*	p	0.332*	0.833*	0.282*	0.89*	0.895*	0.114*	0.768*
	r	0.184	0.04	0.203	-0.026	0.025	-0.294	0.056

\*Spearman

Gebe kalan ve kalamayan grupları karşılaştırdığımızda gebe kalan grubun yaş ortalaması kalamayan gruptan istatistiksel anlamlı olarak yüksekti (32.1 yıl vs. 29.1 yıl,  $p=0.003$ ), fakat gebe kalan ve kalamayan gruplarda serum ve foliküler sıvı İMA düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı

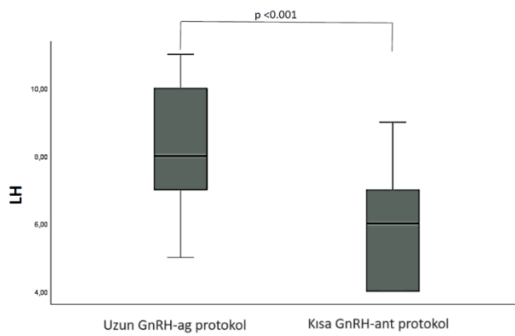
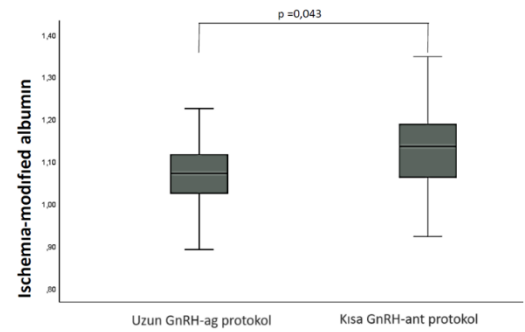
farklılık saptanmadı ( $p=0.436$ ,  $p=0.855$ ) (Tablo 4).

Gruplar arasında LH kutu grafiği ve serum İMA kutu grafiği Şekil 1 ve 2' de gösterilmiştir.

**Tablo 4.** Gebelik durumuna göre verilerin analizleri

	Gebelik yok	Gebelik var	<i>p</i>	<i>t/z</i>
Yaş (Yıl)*	29.13 ±3.58	32.11 2.73	0.003*	-3.079*
FSH (U/L)*	6.34 ±1.98	6.82 2.35	0.432*	-0.791*
<b>Tablo 4'ün devamı</b>				
LH (U/L)*	6.95 ±1.95	7.58 2.39	0.292*	-1.063*
E2 (ng/l)*	35.65 ±8.57	37.05 8.74	0.571*	-0.57*
VKİ (kg/m <sup>2</sup> )	21.86 ±1.69	21.47 2.12	0.459	0.745
İnfertilite süresi (Yıl)	5.41 ±1.80	5.17 2.40	0.672	0.425
İndüksiyon süresi (Gün)	10.83 ±1.63	10.58 1.17	0.57	0.572
Hcg günü E2 düzeyi (ng/l)	1534.07 ±555.40	1443.41 528.58	0.566	0.577
Toplanan total oosit sayısı*	10.1 ±3.80	9.3 ±4.45	0.034*	-2.176*
MII oosit sayısı*	3.55 ±2.01	4.82 2.29	0.04*	-2.106*
Transfer edilen embriyo sayısı*	1.67 ±0.64	2.11 0.78	0.028*	-2.259*
Transfer günü EK (mm)*	10.09 ±1.81	10.76 1.88	0.206*	-1.28*
Serum İMA (ABSU)	1.10 ±0.10	1.08 0.07	0.436	0.784
Folikül Sıvı İMA (ABSU)	1.38 ±0.14	1.37 0.12	0.855	0.184

E2: estradiol. EK: endometrial kalınlık. FSH: folikül stimulan hormon. LH: lüteinizan hormon. VKİ: vücut kitle indeksi. İMA: iskemi modifiye albümin, *t*: bağımsız *t* testi *t* skoru, *z*: Mann-Whitney *U* *z* skoru, \*Mann-Whitney *U* test

**Şekil 1.** Gruplar arasında LH kutu grafiği**Şekil 2.** Gruplar arasında serum İMA kutu grafiği

## Tartışma

Normoresponder hastaların IVF sikluslarında uzun GnRH analog protokol ile kısa GnRH antagonist protokol alan grupları siklus parametreleri ve klinik gebelik oranlarını bir oksidatif stress belirteci olan İMA değerini de ekleyerek karşılaştırdık. Kısa GnRH-ant protokolde serum İMA değeri anlamlı olarak yüksek bulunsa da, her iki tedavi protokolünde de klinik gebelikler arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Litetratürde uzun GnRH-ag protokolü ile kısa GnRH-ant protokolü karşılaştıran birçok çalışma olsa da bir oksidatif stress belirteci olan İMA ile ilgili her iki protokolü karşılaştıran çalışma bulunmamaktadır. Hipoksi, serbest radikal hasarı, asidoz, iskemik koşullar ve enerjiye bağlı membran bozulması sonucu albüminin N-terminal ucunu değiştirilmesi sonucu İMA oluşur.<sup>6,8</sup>

Cochrane sistemik derlemesi incelendiğinde (2016 yılında 73 randomize kontrollü çalışma) bu iki protokolün eşdeğer canlı doğum oranlarına sahip olduğu ve kısa GnRH-ant protokolünün OHSS sıklığının daha düşük olduğu sonucuna varmıştır.<sup>9</sup> Biz de çalışmamızda her iki protokol arasında klinik gebelik açısından anlamlı fark bulamadık ( $p=0.779$ ), aynı zamanda OHSS gelişen hastamız her iki tedavi grubunda da yoktu.

Wang R. ve arkadaşları<sup>2</sup> stimülasyon günlerine, gonadotropin dozuna, hCG uygulama gününde E2 düzeyine ve alınan oosit sayısına ilişkin olarak; elde edilen embriyoların sayısı kısa GnRH-ant protokolünde, uzun GnRH-ag protokole göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olarak saptadılar. GnRH-ant grubundaki daha kısa stimülasyon süresi ve daha düşük gonadotropin dozunun, hCG uygulama gününde daha düşük E2 düzeyine yol açarak, daha düşük OHSS' na yol açabileceğini tespit ettiler. Bununla birlikte, etkililiğin ana sonuç ölçütleri, klinik gebelik oranı, devam eden gebelik oranı ve canlı doğum oranı açısından iki grup arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır. Wang R. ve arkadaşlarının sonuçlarına göre, kısa GnRH-ant protokolü, normal over rezervi hastalarında üreme sonuçlarını etkilemeden, OHSS görülme sıklığını daha hızlı ve daha

uygun maliyetli bir şekilde azaltabileceğini saptamışlardır.

Shuo Yang ve arkadaşları<sup>10</sup> 2012 de yaptığı 711 hastayı içeren çalışmalarında normal over rezerv fonksiyonuna sahip hastaların ilk IVF veya ICSI siklusunda, kısa GnRH-ant protokolü uzun GnRH-ag protokol ile aynı tatmin edici klinik sonucu elde edebildiği ve uzun GnRH-ag protokolüne kıyasla daha ekonomik, kullanışlı ve daha güvenli olduğu sonucuna varmışlardır.

Foliküler sıvı, içindeki oksidatif/antioksidatif sistem ve metabolik ürünler arasındaki etkileşim, foliküler gelişimi, oosit olgunlaşmasını ve ardından YÜT'nin (yardımcı üreme teknikleri) sonuçlarını önemli ölçüde etkiler. Foliküler sıvının elde edilmesi basit ve invazif olmayan bir işlemdir. Bu yaklaşım, onu foliküler ortamdaki oksidatif stress seviyelerinin değerlendirilmesi yoluyla oositlerin gelişim potansiyelini değerlendirmek için ideal bir araç haline getirmektedir. FS içindeki TAK (total antioksidan kapasite), MDA (malonaldehit) ve 8-OHdG (8-oksodeoksiguanozin) gibi oksidatif stress belirteçleri, YÜT sonuçlarını tahmin etmede çok önemli bir öneme sahiptir.<sup>11</sup> Pasqualotto EB. ve arkadaşları<sup>12</sup> infertil hastaların IVF sikluslarında folikül sıvılarında iki oksidatif stress belirteci olan LPO (lipid peroksidasyon) ve TAK araştırmışlar ve gebelik ile ilgili korelasyonlarına bakmışlardır. Gebe kalan hastaların foliküler sıvılarında oksidatif stress belirteci olan LPO ve TAK oranlarını istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (LPO,  $p=0.022$  vs. TAK,  $p=0.018$ ). Bu çalışmanın sonuçlarına benzer olarak Attaran M. ve arkadaşları<sup>13</sup> da gebe kalan hastaların foliküler sıvılarında reaktif oksijen türlerini gebe kalamayanlarda daha yüksek bulmuşlardır. Biz de kendi çalışmamızda literatürdeki bu çalışmalar ile uyumlu olarak hem uzun GnRH-ag hem de GnRH-ant gruplarda gebelik ile folikül sıvı İMA değerleri arasında orta düzeyde korelasyon saptadık ( $r=0.042$  vs.  $r=0.056$ ).

Gebe hastaların folikül sıvılarında artmış olan oksidatif stress şu şekilde yorumlanabilir; birincisi artmış fertilizasyon kapasitesini gösteriyor olabilir, ikincisi foliküllerin sayısı ve hacminin artması



nedeniyle büyük ölçüde genişlemiş overlerin vaskülarizasyon ihtiyacının artması nedeniyle göreceli hipoksiye bağlı İMA düzeyleri artmış olabilir. Çalışmamızın kısıtlılıkları, az sayıda hasta içermesi ve maddi kısıtlılıklar nedeni ile tek bir oksidatif stres belirteci olan İMA değerini ölçmemizdir.

Sonuç olarak, kısa GnRH-ant grubun serum oksidatif stres değeri uzun GnRH-ag protokolden yüksek olsa da en son ve değerli nokta olan klinik gebelik oranları açısından her iki tedavi protokolü açısından fark saptanmamıştır. Normoresponder hastaların IVF sikluslarında her iki tedavi protokolü de tercih edilebilir.

**Yazar katkısı:** RK, MCC: Çalışmanın fikri ve dizaynı. DGK: Verilerin toplanması, analizi, makalenin yazımı. AT: Biyokimyasal analizlerin yapılması. KG: Eleştirel okumanın yapılması.

**Çıkar çatışması:** Bu makale Dilay Gök Korucu' nun "Agonist/antagonist kontrollü over hiperstimülasyon rejimlerinde serum ve folliküler sıvı iskemi modifiye albümin düzeyleri ve gebelik oranları ile ilişkisi" başlıklı doktora tez çalışmasından üretilmiş olup, yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

**Mali destek:** Mali destek alınmamıştır. Tüm yazarlar bireysel mali katkı sağlamışlardır.

### Kaynaklar

- Orvieto R. Stop GnRH-agonist/GnRH-antagonist protocol: a different insight on ovarian stimulation for IVF. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2023;21(1):1-4.
- Wang R, Lin S, Wang Y, Qian W, Zhou L. Comparisons of GnRH antagonist protocol versus GnRH agonist long protocol in patients with normal ovarian reserve: A systematic review and meta-analysis. *PloS One*. 2017;12(4):e0175985.
- Bodri D, Sunkara SK, Coomarasamy A. Gonadotropin-releasing hormone agonists versus antagonists for controlled ovarian hyperstimulation in oocyte donors: a systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility*. 2011;95(1):164-169.
- Silva E, Almeida H, Castro JP. (In) Fertility and Oxidative Stress: New Insights into Novel Redox Mechanisms Controlling Fundamental Reproductive Processes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020.
- Sbarouni E, Georgiadou P, Voudris V. Ischemia modified albumin changes - review and clinical implications. *Clin Chem Lab Med*. 2011;49:177-184.
- Beyazit F, Yilmaz N, Balci O, Adam M, Yaman ST. Evaluation of oxidative stress in women with polycystic ovarian syndrome as represented by serum ischemia modified albumin and its correlation with testosterone and insulin resistance. *Internal Medicine*. 2016;55(17):2359-2364.
- Bar-Or D, Lau E, Winkler JV. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia a preliminary report. *J Emerg Med*. 2000;19:311-315.
- Caglar GS, Oztas E, Karadag D, Pabuccu R, Demirtas S. Ischemia-modified albumin and cardiovascular risk markers in polycystic ovary syndrome with or without insulin resistance. *Fertil Steril*. 2011;95:310-313.
- Al-Inany HG, Youssef MA, Ayeleke RO, Brown J, Lam WS, Broekmans FJ. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2016;4: Cd001750.
- Yang S, Chen XN, Qiao J, et al. Comparison of GnRH antagonist fixed protocol and GnRH agonists long protocol in infertile patients with normal ovarian reserve function in their first in vitro fertilization-embryo transfer cycle. *Zhonghua fu Chan ke za zhi*. 2012;47(4):245-249.
- Chen Y, Yang J, Zhang L. The Impact of Follicular Fluid Oxidative Stress Levels on the Outcomes of Assisted Reproductive Therapy. *Antioxidants*. 2023;12(12):2117.
- Pasqualotto EB, Agarwal A, Sharma RK, et al. Effect of oxidative stress in follicular fluid on the outcome of assisted reproductive procedures. *Fertility and Sterility*. 2004;81(4):973-976.
- Attaran M, Pasqualotto E, Falcone T, et al. The effect of follicular fluid reactive oxygen species on the outcome of in vitro fertilization. *International Journal of Fertility and Women's Medicine*. 2000;45(5):314-320.
- George D. SPSS for windows step by step: A simple study guide and reference, 17.0 update, 10/e. Pearson Education India. 2011
- Cohen J. Statistical power analysis for the behavioral sciences. Academic press. 2013