

In Vitro Fertilizasyon Uygulanacak Polikistik Over Sendromlu Hastalar İçin Myo-İnositol Ve Folik Asit Desteği

Myo-Inositol And Folic Acid Supplementation For The Polycystic Ovary Syndrome Patients Undergoing In-Vitro Fertilization Cycles

Mehmet Murat SEVAL¹, Dilek ACAR¹, Yavuz Emre ŞÜKÜR¹, Batuhan ÖZMEN¹, Melahat ATASEVER², Murat SÖNMEZER¹, Bülent BERKER¹, Cem ATABEKOĞLU¹

¹ Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum A.B.D., Ankara, Türkiye

² Giresun Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıklar ve Doğum A.B.D., Giresun, Türkiye

ÖZ

Amaç: Myo-inositol'un IVF hastalarında serum düzeylerinden bağımsız olarak ovaryan fonksiyon ve oosit kalitesini artırdığı izlenmiştir. Biz de bu PCOS'lu IVF hastalarında myo-inositol'un hormonal ve klinik parametreler üzerine etkisini araştırmayı hedefledik.

Gereç ve Yöntemler: Ocak 2013 ve Mayıs 2015 arasında üniversitemiz üreme sağlığına IVF/ICSI için başvurmuş hastalar retrospektif olarak değerlendirildi. Tüm hastalar ikinci IVF siklusundan önce en az 12 hafta myo-inozitol ve folik asid replasmanını (1gr/gün) aldı ve çalışma sonucunda klinik gebelik oranları, implantasyon oranı, toplanan oosit sayısı, metafaz 2 oosit sayısı, grade A embriyo sayısı ve siklus iptal oranları değerlendirildi.

Bulgular: Çalışma sonucunda MI-FA replasmanı sonrası gebelik oranları artmış olsa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Benzer şekilde M2 oosit sayısında azalma 14 ve 17 mm'lik folikül sayısı ve transfer edilen embriyo sayısında artış, siklus iptal oranlarında azalma izlense de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Sonuç: Çalışmamızda ele alınan hasta sayısı az olmakla birlikte, bazı parametrelerde tedavi öncesine göre düzelmeye izlenmiş ancak istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır.

Anahtar Kelimeler: İn vitro fertilizasyon, polikistik over sendromu, myo-inositol, folik asid, gebelik oranı

ABSTRACT

Aim: We evaluated the effects the administration of "Myo-inositol plus Folic acid" (MI-FA) supplementation on ovarian reserve markers and in-vitro fertilization (IVF) cycle in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS) patients.

Material and Methods: Totally 58 PCOS women aged <40 years and with basal FSH <10 mIU/ml were enrolled to the study. All the patients received MI-FA supplementation (1gr/day) for at least 12 weeks (maximum 36 weeks) prior to their second IVF cycle. In all enrolled COS cycles, a flexible GnRH antagonist along with combined rFSH (150 IU/day) and hMG (75 IU/day), without any adjuvant agent. All data concerning COS and laboratory outcomes in selected patients were evaluated.

Results: The characteristics and basal ovarian reserve assessment in study population were given in Table 1. All the parameters evaluated in the patients were found similar before and after MI-FA supplementation. Cycle cancelation rate were reduced after MI-FA supplementation for the groups, but the difference was not statistical significant.

Conclusions: MI-FA supplementation has no any additional benefits for parameters of ovarian reserve and cycle parameters in PCOS patients undergoing ovarian stimulation for IVF.

Keywords: In-vitro fertilization, polycystic ovary syndrome, myo-inositol, folic acid, pregnancy rates

Yazışma Adresi/ Correspondence Address:

Mehmet Murat Seval

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıklar ve Doğum A.B.D., Ankara, Türkiye

Tel/Phone: 0533 730 89 78

E-mail : seval@ankara.edu.tr

Geliş Tarihi/ Received: 12/04/2016

Kabul Tarihi/Accepted: 25/04/2016

Giriş

Polikistik over sendromu reproduktif yaşta kadınların %5-10 unu etkileyen sık endokrinopati aynı zamanda anovulatuvar infertilitenin en sık nedenidir. Polikistik over sendromu tanısı için 2003 Rotterdam kriterlerine göre; Oligo ve/veya anovulasyon, hiperandrogenizm (klinik ve/veya biyokimyasal), ultrasonda polikistik overler kriterlerinden 2 sinin varlığı tanısaldır (1). Polikistik over sendromunu (PKOS) kadın infertilitesinin en sık nedeni olarak görebiliriz. İn-vitro fertilizasyon (IVF) başarısını etkileyen önemli nedenler arasında gebeliğin ileri yaşlara ertelenmesinden dolayı yaşa bağlı zayıf over yanıtı ve oosit kalitesindeki azalmaya da polikistik over sendromu sayılabilir. Son yıllarda kontrollü ovaryan stimülasyon protokollerinde gelişmelere rağmen başan IVF'de %30 ile sınırlı kalmaktadır (2).

Polikistik over sendromlu hastalarda oosit ve embriyo kalitesi önemli bir problemdir. Bir çok çalışmada daha iyi sonuçlar için oosit kalitesi üzerinde durulmaktadır. Bu nedenle son yıllarda oosit kalitesini artıran adjuvan ajanların art protokollerine eklenmesi üzerinde durulmaktadır (3). Polikistik over sendromlu hastalarda vücut kitle indeksinden (BMI) bağımsız olarak insülin direncinin yaygın olduğu bildirilmiştir. İnsülin direncine bağlı olarak PKOS'lu hastaların %80 inde hiperinsülinemi izlenir. Hiper insülineminin tetiklediği endojen gonadotropinlere azalmış ovaryan yanıtı düzeltmek için metformin, pioglitazon, troglitazon gibi insülin duyarlaştırıcı ajanlar kullanılmıştır (3,4).

Hiperinsülineminin PKOS'lu hastalarda ovaryan androjen üretimini stümüle ettiği anlaşıldığından beri insülin sinyal iletimindeki second Messenger ve post reseptör mediatör olarak inositolphosphoglycan (IPG) mediatörlerine ilgi artmıştır. Bir çok çalışmada D-chiro-inositol (DCI) ve Myo-inositolün (MYO) insülin seviyelerini azalttığı izlenmiştir.

Polikistik over sendromlu hastalarda MYO ve DCO gibi IPG prekürsörleri eksikliği insülin direncine patofizyolojik olarak ek katkıda bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda PKOS lu hastalarda daha düşük plazma DCO seviyeleri izlenmiştir (5). Papaleovearık .2009 yılında Miyoinositolün PKOS'lu hastalarda oosit kalitesini artırarak IVF başarısını etkilediğini yayınlamasından sonra myo-inositol IVF arenası için bir kırılma noktası olmuştur. Bir çok yayında miyoinositolün PKOS'lu hastalarda IVF sonuçlarını iyileştirdiği yayınlanmıştır (6). MYO' ün IVF hastalarında serum düzeylerinden bağımsız olarak ovaryan fonksiyon ve oosit kalitesini artırdığı izlenmiştir. Bizde bu PCOS'lu IVF hastalarında myo-inositol'un hormonal ve klinik parametreler üzerine etkisini araştırmayı hedefledik.

Gereç ve Yöntemler

Ocak 2013 ve Mayıs 2015 arasında üniversitemiz üreme sağlığına IVF/ICSI için başvurmuş hastalar retrospektif olarak değerlendirildi. Çalışmaya bazal FSH <10 mIU/ml olan <40 yaş olan PCOS'lu kadınlar dahil edildi. Vücut kitle indeksi ileri derecede düşük ya da aşırı yüksek olan hastalar (BMI <18 ve >30 kg/m²), bilinmeyen ovaryan yetmezliği olanlar (3.gün FSH düzeyi >10 IU/L ya da serum Antimüllerian hormon (AMH) düzeyi ≤1,0 ng/ml), endokrin bozukluğu olanlar (diabetes mellitus, hiperprolaktinemi, tiroid disfonksiyonu, konjenital adrenal hiperplazi, Cushing sendromu) ya da uterin anomali varlığı histerosalpingografi ya da histeroskopi ile doğrulanmış olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Tüm hastalar ikinci IVF siklusundan önce en az 12 hafta MI-FA (1 g myo-inositol + 100 mcg folic acid) (İNOFOLIC; ITF, TURKEY) replasmanını (1 gr/gün) aldı. Tüm hastalara başlangıç doz rekombinant FSH (rFSH) (Puregon; MSD Türkiye

ya da Gonal F, Merck Serono, Türkiye) 150-225 IU menstruasyonun 2.-3. günü başlanarak flexible GnRH antagonist (Orgalutran; MSD, Türkiye ya da Cetrotide, Merck Serono, Türkiye) protokolu uygulandı.

Başlangıç rFSH dozu hastanın yaşı, vücut kitle indeksi, önceki siklulardaki KOH yanıtına göre değerlendirilerek belirlendi. rFSH dozu seri transvajinal foliküller gelişim takibine, serum estradiol düzeylerine göre ayarlandı. Ultrasonografi ve serum estradiol düzeyleri hCG ile tetikleme kriterleri karşılanana kadar düzenli olarak yapıldı.

Final oosit maturasyonu >17 mm üzerinde en az 3 folikül izlendiğinde ovulasyon tetiklendi. Standart tetikleme 250 µg rekombinant hcg (Ovitrelle; Merck Serono, Türkiye). Tüm oositlerin toplanması transvajinal ultrasonografi eşliğinde hcg tetiklenmesinden 35-36 saat sonra yapıldı. Embriyo transferi 3. gün yapıldı kalan embriyolar 5. güne kadar kültüre edildi. Ulusal embriyo transfer düzenleme politikasına göre tek ya da maksimum 2 embriyo transferi yapıldı. İyi kalite embriyolar 5. gün kriyopreservasyon yapıldı.

Embriyo transfer gününden başlayarak 9. gebelik haftasına kadar tüm hastalara 90 mg/gün intra vajinal progesteron luteal destek için verildi. Klinik gebelik fetal kalp atımına sahip embriyo varlığı olarak tanımlandı. İmplantasyon oranı her kadın için ayrı olarak hesaplandı.

Orta-şiddetli OHSS hematokrik seviyesi %45 'in üzerinde, abdominal rahatsızlık, progresif oligüri, orta derecede asitle birlikte respiratuar bozukluk varlığı, trombositoz (plt >400.000/µl) ve lokositoz (beyaz küre sayısının > 12.000 µl) varlığı olarak tanımlandı.

Bu çalışmada primer sonuç olarak klinik gebelik oranı, sekonder sonuç olarak implantasyon oranı, toplanan oosit sayısı, metafaz 2 oosit sayısı, grade A embriyo sayısı ve siklus iptal oranları değerlendirildi.

Tablo 1: çalışmaya katılan hastaların temel karakteristikleri, stimülasyon verileri ve IVF sonuçları

Parameter	MI-FA öncesi	MI-FA sonrası	p
Yaş (yillar)	28.8 ± 4,8	-	NA
Vücut Kitle İndeksi (kg/m ²)	25.4 ± 4.5	-	NA
İnfertilite süresi (yillar)	6.6 ± 4.2	-	NA
FSH (mIU/ml)	8.1 ± 2.4	7.6 ± 2.1	NS
LH (mIU/ml)	5.7 ± 3.6	5.2 ± 1.7	NS
E2 (pg/ml)	45.6 ± 26.4	48.8 ± 19.3	NS
hCG günü Serum Estradiol konsantrasyonu (pg/ml)	2544 ± 1558	2466 ± 1743	NS
hCG günü endometrial kalınlık (mm)	8.2 ± 3.1	8.2 ± 2.8	NS
Toplam rFSH dozu (IU)	2120 ± 260	2306 ± 524	NS
Toplam HMG dozu (IU)	1487 ± 789	2025 ± 670	NS
Stimülasyon süresi (gün)	8.6 ± 1.3	8.3 ± 1.7	NS
>14 mm folikül sayısı (n)	6.5 ± 2.7	8.0 ± 3.2	NS
>17 mm folikül sayısı (n)	3.1 ± 1.2	3.5 ± 1.5	NS
Toplanan oosit sayısı (n)	9.3 ± 5.4	8.8 ± 3.7	NS
MII oosit sayısı (n)	7.8 ± 4.6	6.9 ± 4.2	NS
Transfer edilen embriyo sayısı (n)	1.1 ± 0.3	1.3 ± 0.5	NS
Toplam siklus iptali	8	3	NS
Klinik gebelik oranı	-	9/55 (16.3%)	NS
Devam eden gebelik oranı	-	8/55 (14.5%)	NS

Bulgular

GnRH antagonist protokolü başlanmış 58 hasta retrospektif olarak ele alındı. Replasman sonrasıCG günü pik e2 düzeyi azalmış, stimülasyon süresi kısalmış izlenirse de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.14 ve 17 mm'lik folikül sayısı ve transfer edilen embriyo sayısında artış ,siklus iptal oranlarında azalma izlenirse de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.MI-FA replasmanı sonrası gebelik oranları artmış olsa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.Benzer şekilde M2 oosit sayısında azalma izlenmiş olup anlamlı değildir.

Tartışma

Biz bu çalışma ile ivf planlanan pcos hastalarında miyoinositol tedavisi sonrası ovaryan fonksiyon, metabolik faktörler, ivf sonuçlarına olan etkilerini karşılaştırmayı hedefledik. Metabolik sonuçlar arasında tedavi öncesi ve sonrası BMI oranlarında farklılık izlenmemiş. Ovaryan fonksiyonlar incelenecek olduğunda FSH, LH, estradiol düzeylerinde anlamlı farklılık olmamıştır.

Toplanan folikül sayısı artmış olarak izlenirse de M2 kalite oosit sayısı azalmış olarak bulunmuş, transfer edilen embriyo sayısında artma izlenmiş 9 hasta da gebelik elde edilmiştir. Her ne kadar sonuçlar istatistiksel anlamlı olmasa da toplanan oosit sayısında artış, klinik gebelik oranlarında artma ve siklus iptal oranlarında azalma pcos'lularda ivf öncesi MI-FA replasmanının faydalı olabileceğini düşündürmektedir.

Inositol 19 farklı isomere sahip polialkoldür. Bunlardan 2'si miyoinositol ve DCI insülin duyarlaştırıcı ajan olarak pcos tedavisine kullanılmaktadır. Her iki ajan benzer yapıya sahip olsada myo pcosda daha etkilidir. MYO DCI 'ün prekürsürüdür. DCI Pcos tedavisinde insülin rezistansını azaltsa da overde etkisi yoktur. Pcosta overlerde artmış myodco dönüşümünden dolayı pcosta myo azalır ve oosit kalitesi bozulur (7).

Myo ve dcı onun karşılaştırdığı bir çalışmada myo grubunda m2 oosit ,grade 1 embriyo sayısının myo grubunda fazla olduğu biyokimyasal gebelik oranlarının benzer olduğu izlenmiştir (8). Myoinositol B vitamini kompleksine ait 6 karbonlu polioldür. Bazı çalışmalarda myo ün hücre morfogenez ve sitogenezinde, lipid sentezinde, hücre membran oluşumunda, hücre büyümesinde rol alır (9). MYO ün oositlerde hücre içi sinyal üretiminde görevli fosfolipidlerin prekür söru olması nedeniyle hücre siklusu ve embriyonik gelişimde önemli role sahiptir. İntrafoliküler myo konsantrasyonu ve oosit kalitesi birbiri ile ilişkilidir, çünkü inositol fosfolipidler (myo prekürsör) oosit gelişimi için esansiyel olan intraselüler sinyal iletiminden sorumludurlar (10,11,12). Ratlarda yapılan çalışmada iyi kalite oositlerdeki myo düzeyinin kötü kalite olanlara göre yüksek oluşu MYO ün in vitro oosit gelişimini olumlu etkilediğini desteklemiştir .

Son zamanlarda myo' ün insülin ilişkili yolaktaki hücre içi sinyal iletiminden sorumlu olan inositol fosfo glikanların prekürsörü olmasından dolayı insülin direnci ile komplike pcos lu hastalarda kullanımı gündeme gelmiştir. İnsülin etkilerinde inofosfoliglanlar ikincil habercidir (13). Pcos da insülin rezistansına inofosfoliglan ikinci habercilerde defekt neden olabilir ki, bazı çalışmalarda pcos da bu mediatörlerde azalma izlenmiştir (14). Tüm bunlardan yola çıkarak pcoslu ivf hastalarında myo replasmanı insülin rezistansını azaltarak daha iyi ivf sonuçlarına yol açabilir.

PCOS da görülen insülin direncine sekonder olarak anovulasyon ve hiperandrogenizmde artış olur. Buna neden olan ise insülinin seks hormonu bağlayıcı globülini düzeyini düşürmesi ve serbest testosteronu artırması, ovaryan teka hücrelerinden androjen yapımının artırmasıdır (15). Bu bilgiler ışığında bir çok

araştırmada myo 'un ovulasyon, oosit kalitesi, klinik gebelik oranları, toplam alınan gonadotropin düzeyleri üzerine etkileri ilgili çeşitli sonuçlar elde edilmiştir (16).

Bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar incelendiğinde hcg günü pik e2 düzeylerinde artış izlenmemiş, endometrial kalınlık düzeyi ile değişiklik saptanmamıştır. Çalışmamızda diğer çalışmalara benzer olarak klinik gebelik oranları ve transfer embriyo sayısı artsa da, siklus iptal oranları azalsa da istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır.

Ovulasyon indüksiyonunda metformin ve myo ün karşılaştırdığı bir çalışmada myo grubunda klinik gebelik oranlarının metformine göre daha iyi olduğu izlenmiştir (17). Ayrıca folikül sıvısından yüksek myo oranlarının oosit kalitesinin kolere olduğu izlenmiştir(18). Lisi ve ark pcos olmayan hastalarla yaptıkları randomize çalışmada myo alan grupta olmayan arasında gebelik oranları arasında fark bulunmamış. Toplanan oosit elde edilen embriyo sayısı myo grubunda daha az izlenmiş (19). MYO kullanımı ve ovulasyon indüksiyonu sonuçlarını karşılaştıran bazı çalışmalarda germinal vezikül sayısında azalma, dejenere oosit sayısında azalma, hcg günü pik estradiol seviyelerinde azalma, total r-fsh dozunda ve sitomulasyon süresinde azalma, m2 oosit yüzdesi artmıştır toplanan oosit ve >15 mm oosit sayısında anlamlı artış olsa da klinik gebelik oranları benzer bulunmuştur (20). MYO foliküler mikro çevrenin önemli yapıtaşdır, nükleer ve sitoplazmik oosit gelişimi için önemli rol oynar(21). Foliküler sıvıdaki yüksek myo oranları oosit kalitesi için iyi bir indikatördür (18).

Sonuç olarak çalışmamızda ele alınan hasta sayısı az olmakla birlikte, bazı parametrelerde tedavi öncesine göre düzelmeye izlenmiş ancak istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır. MYO 'ün polikistik overli hastalarda oosit kalitesi ve ivf sonuçları üzerine olan olumlu etkilerini incelemek için geniş hasta sayısına sahip randomize prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Referanslar

1. The Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group: Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). Hum Reprod 2004;19:41–7.
2. Rienzi L, Vajta G, Ubaldi F Predictive value of oocytemorphology in human IVF: a systematic review of the literature. Hum Reprod Update 2010; 17:34–45.
3. Genazzani AD, Lanzoni C, Ricchieri F, et al. Metformin administration is more effective when non-obese patients with polycystic ovary syndrome show both hyperandrogenism and hyperinsulinemia. Gynecol Endocrinol 2007;23:146–52.
4. Hasegawa I, Murakawa H, Suzuki M, et al. Effect of troglitazone on endocrine and ovulatory performance in women with insulin resistance related polycystic ovary syndrome. Fertil Steril 1999;71:323–7.
5. Mariangela Treglia, Robert Najjar, Arturo Bevilacqua The combined therapy myo-inositol plus D-chiro-inositol, rather than D-chiro-inositol, is able to improve IVF outcomes: results from a randomized controlled trial Sandra Colazingari. Arch Gynecol Obstet (2013) 288:1405–1411.
6. Papaleo E, Unfer V, Baillargeon JP, Fusi F, Occhi F, De Santis L Myo-inositol may improve oocyte quality in intracytoplasmic sperm injection cycles. A prospective, controlled, randomized trial. Fertil Steril

- 2009;91:1750–1754.
7. Carlomagno G, Unfer V, Roseff S. The D-chiro-inositol paradox in the ovary. *Fertil Steril* 2011;95:2515–2516.
 8. Unfer V, Carlomagno G, Rizzo P, Raffone E, Roseff S. Myo-inositol rather than D-chiro-inositol is able to improve oocyte quality in intracytoplasmic sperm injection cycles. A prospective, controlled, randomized trial. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2011;15:452–457
 9. Kane MT: The effects of water-soluble vitamins on the expansion of rabbit blastocysts in vitro. *J Exp Zool* 1988, 245:220–223.
 10. Berridge MJ: Inositol lipids and cell proliferation. *Biochim Biophys Acta* 1987, 907:33–45.
 11. Downes CP: Twenty-fifth Colworth medal lecture. The cellular functions of myo-inositol. *Biochem Soc Trans* 1989, 17:259–268.
 12. Endocrine and clinical effects of myo-inositol administration in polycystic ovary syndrome. A randomized study P. G. Artini¹, O. M. Di Berardino¹, F. Papini¹, A. D. Genazzani², G. Simi¹, M. Ruggiero¹, and V. Cela¹ *Gynecol Endocrinol*, 2013; 29: 375–379.
 13. Zacche MM, Caputo L, Filippis S, Zacche G, Dindelli M, Ferrari A. Efficacy of myo-inositol in the treatment of cutaneous disorders in young women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2009;25:508–513.
 14. Gerli S, Mignosa M, Di Renzo GC. Effects of inositol on ovarian function and metabolic factors in women with PCOS: a randomized double blind placebo-controlled trial. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2003;7:151–9.
 15. Landay M, Huang A, Azziz R. Degree of hyperinsulinemia, independent of androgen levels, is an important determinant of the severity of hirsutism in PCOS. *Fertil Steril* 2009;92:643–7
 16. Papaleo E, Unfer V, Beillargeon JP, et al. Myoinositol in patients with polycystic ovary syndrome: a novel method for ovulation induction. *Gynecol Endocrinol* 2007;23:700–70.
 17. Raffone E, Rizzo P, Benedetto V. Insulin sensitizer agents alone and in co-treatment with r-FSH for ovulation induction in PCOS women. *Gynecol Endocrinol* 2010; 26:275–280.
 18. Chiu TT, Rogers MS, Briton-Jones C, Haines C. Effects of myo-inositol on the in vitro maturation and subsequent development of mouse oocytes. *Hum Reprod* 2003;18:408–416
 19. Lisi F, Carfagna P, Oliva MM, Rago R, Lisi R, Poverini R et al. Pretreatment with myo-inositol in non polycystic ovary syndrome patients undergoing multiple follicular stimulation for IVF: a pilot study. *Reprod Bio Endoc* 2012, 10:52 <http://www.rbej.com/content/10/1/52>
 20. Ciotta L, Stracquadanio M, Pagano I, Carbonaro A, Palumbo M, Gulino F. Effects of myo-inositol supplementation on oocyte's quality in PCOS patients: a double blind trial. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2011;15:509–514
 21. Goud PT, Goud AP, Oostveldt PV, Dhont M. Presence and dynamic redistribution of type I inositol, 1,4,5-triphosphate receptor in human oocytes and embryos during in-vitro maturation, fertilization and early cleavage division. *Mol Hum Reprod* 1999;5:441–51.