

Histolojik Olarak Tanımlanmış Folikül Havuzunu Belirlemede Over Rezerv Testlerinin Değeri

THE VALUE OF OVARIAN RESERVE TESTS IN THE PREDICTION OF HISTOLOGICALLY-DEFINED FOLLICLE POOL

Dr. Filiz KAYA,^a Dr. Şakir KÜÇÜKKÖMÜRÇÜ,^a Dr. Sibel GÜRÜN,^b
Dr. Afşin ÖZTAŞ,^a Dr. Demet ALARSLAN,^a Dr. Osman H. DEVELİOĞLU^a

^aKadın Hastalıkları ve Doğum AD, ^bFarmakoloji AD, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, BURSA

Özet

Amaç: Ooforektomi uygulanması planlanan hastalardan elde edilecek spesimenlerde histolojik olarak tanımlanacak folikül sayıları ile over rezervi tayininde kullanılmakta olan çeşitli belirteçlerin korelasyonlarını saptamak.

Gereç ve Yöntemler: Histerektomi ve bilateral salpingo-ooforektomi planlanan 51 premenopozal kadın cerrahi öncesi adetlerinin 3. gününde görülerek pelvik ultrasonografi ile over hacimleri ve antral folikül sayıları değerlendirildi. Aynı gün bazal hormon değerleri ve inhibin-B için kan örnekleri alındı. Cerrahi sonrası over hacimleri ölçüldü ve histolojik kesitlerde ortalama pre-antral folikül sayıları belirlendi.

Bulgular: Korelasyon analizlerinde yaş ile inhibin-B'nin ve ultrasonografik olarak tanımlanan antral ve histolojik olarak tanımlanan pre-antral folikül sayılarının anlamlı olarak azaldığı; ortalama antral folikül sayısının luteinizan hormondaki artışla anlamlı, folikül-stimulan hormondaki artışla ise anlamlı olmayan azalma gösterdiği; inhibin-B düzeyi yüksek olan hastalarda histolojik olarak tanımlanan ortalama pre-antral folikül sayısının da anlamlı olarak yüksek olduğu belirlendi. Gerek over hacimleri ile antral folikül sayıları arasında, gerekse ultrasonografik olarak belirlenen over hacimleri ve antral folikül sayıları ile histolojik olarak tanımlanan pre-antral folikül sayıları arasında anlamlı ilişkiler mevcuttu. Histolojik olarak tanımlanan pre-antral folikül sayıları ile korele oldukları gösterilen tüm değişken ve ko-faktörlerin dahil edildiği çoklu regresyon analizinde, histolojik olarak tanımlanan over folikül havuzunun istatistiksel anlamlı iki bağımsız belirleyicisinin inhibin-B ve ultrasonografik olarak tanımlanan antral folikül sayısı olduğu belirlendi.

Sonuç: Antral folikül sayısı ve inhibin-B, morfolojik olarak tanımlanmış folikül havuzunun bağımsız belirleyicileridir.

Anahtar Kelimeler: Folikül; over rezerv testleri, inhibin-B

Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst 2007, 17:110-116

Abstract

Objective: To assess the correlations between various clinical predictors of ovarian reserve and histologically-defined follicle numbers in surgical specimens obtained from women undergoing oophorectomies.

Material and Methods: Ovarian volume and antral follicle numbers were assessed by vaginal ultrasonography on cycle day 3 in 51 premenopausal women prior to planned hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy. Blood samples were drawn on the same day for measurement of basal hormone and inhibin-B levels. Ovarian volumes were calculated post-operatively and mean pre-antral follicle numbers were histologically assessed.

Results: Correlation analyses revealed that inhibin-B and ultrasonographically-defined antral and histologically-defined pre-antral follicle numbers decreased significantly by increasing age. Antral follicle numbers decreased significantly by increases in luteinizing hormone, yet insignificantly by increases in follicle-stimulating hormone. Patients with higher inhibin-B levels had also significantly higher histologically-defined pre-antral follicle numbers. There were also significant correlations between ovarian volumes and antral follicle numbers, and between both histologically-defined pre-antral follicle numbers and ultrasonographically-defined ovarian volumes and antral follicle numbers. Multiple regression analyses including all variables and co-factors that were shown to be correlated with histologically-defined pre-antral follicle numbers revealed inhibin-B and ultrasonographically-defined antral follicle numbers to be the only significant independent predictors of the histologically-defined ovarian follicle pool.

Conclusion: Antral follicle number and inhibin-B are independent predictors of the histologically-defined follicle pool.

Key Words: Follicular fluid; ultrasonography; inhibin B

Geliş Tarihi/Received: 17.08.2006 Kabul Tarihi/Accepted: 02.12.2006

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr. Osman H. DEVELİOĞLU
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,
16059, BURSA
develi@uludag.edu.tr

Copyright © 2007 by Türkiye Klinikleri

Kadın üreme sisteminin fizyolojik işlevi, ovaryan foliküllerin sayıca giderek azalmasına bağlı olarak, yaşla beraber kademeli bir gerileme gösterir. Atreziye bağlı olarak daha fetal hayattan itibaren azalmaya başlayan

primordial foliküllerin kayıp hızı 37 yaş civarında (veya 25.000 folikül kaldığında), diğer bir deyişle menopozdan 10-12 yıl öncesinde artmaya başlar.^{1,2} Folikül sayısı, adetlerin devamlılığının sağlanabilmesi için kritik rakam olarak kabul edilen 1000 dolaylarına indiğinde, over işlevinin pratikte durmasıyla birlikte adetlerin kalıcı olarak kesilmesi menopoz olarak adlandırılır.³

Overdeki primordial foliküllerin havuzu veya over rezervi, kalan oosit kalitesi ve sayısı ile bağlantılı olarak bir kadının üreme potansiyelini tanımlar.⁴ Fertilitedeki doğal gerileme menopozdan belli bir dönem önce ortaya çıkar ve ancak menopoz yaşı kadar öngörülebilir. Öte yandan ovaryan yaşlanma ve genel yaşlanma arasındaki bir ilişkiye işaret eder şekilde, erken menopoz beklenen yaşam süresinde azalma ile de ilişkilidir.⁵

Over rezervinin değerlendirilmesi bu nedenlerle büyük önem taşısa da, ultrasonografi (US) ile görüntülenemeyen ve metabolik aktiviteleri çok düşük olan primordial folikülleri sayısal olarak tanımlamak mümkün olmadığından, bugün klinikte kullanılan tüm belirteçler primordial folikül havuzu ile daha uzaktan alakalı olan antral foliküllerin (AF) görüntülenmesi veya metabolik aktivitelerinin değerlendirilmesi esasına dayanır.⁶ Primordial folikül sayısının en önemli belirleyicisi olan yaşla beraber,^{7,8} over rezervini değerlendirmek amacıyla klinik kullanım alanı bulan belirteçler arasında; ultrasonografik olarak belirlenen over hacmi⁹ ve AF sayısı;¹⁰ adet 3.-5. günlerinde ölçülen bazal folikül-stimulan hormon (FSH),^{11,12} estradiol (E₂),^{11,13} inhibin-B,¹⁴ anti-müllerian hormon (AMH)⁶ düzeyleri ile klomifen sitrat tarama testi (clomiphene citrate challenge test= CCCT),¹⁵ gonadotropin-releasing hormon agonist stimülasyon testi (GAST)¹⁶ ve ekzojen FSH ovaryan rezerv testi (EFORT)¹⁷ gibi dinamik testler yer alır.

Çoğunluğu ovulasyon indüksiyonu uygulanan infertil hasta popülasyonlarında, tedaviye over cevabının öngörülmesi amacıyla kullanılmakta olan bu testlerin etkinliği konusunda süregelen şüpheler bir yana,^{18,19} kullanılan belirteçlerle ovaryan folikül havuzu arasındaki ilişkileri ortaya koymayı hedefleyen histolojik çalışmalar sayıca çok yetersiz görünmektedir.

Bu çalışmanın amacı, histerektomi ile eşzamanlı bilateral ooforektomi uygulanması planlanan hastalardan elde edilecek spesimenlerde histolojik olarak tanımlanacak folikül sayıları ile over rezervi tayininde halen klinik kullanım alanı bulmakta olan çeşitli belirteçlerin korelasyonlarını saptamaktır.

Gereç ve Yöntemler

Bu çalışma, Kasım 2003-Kasım 2004 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD'de gerçekleştirildi. Çalışma Fakülte Etik Kurulu tarafından onaylandı ve tüm hastalar bilgilendirilerek onayları sağlandı.

Çalışma grubunu, uterin patolojiler nedeniyle abdominal histerektomi ve bilateral salpingo-ooforektomi planlanan 40-54 yaşlarında 51 premenopozal kadın oluşturdu. Operasyon endikasyonları, hastaların 35'inde myoma uteri, beşinde endometrial hiperplazi, dokuzunda adenomyozis ve ikisinde serviks kanseriydi.

Çalışmaya onay veren tüm hastalardan, demografik özellikleriyle adet düzeni, son gebelik yaşı, geçmişte oral kontraseptif kullanımı ve süresi, infertilite öyküsü, sigara ve alkol tüketimi gibi noktaları kapsayan bilgiler edinildi.

Hastaların operasyonlarının planlandığı tarihten önceki son adetlerinin 3. gününde pelvik US ile overleri değerlendirildi. US Kadın Hastalıkları ve Doğum AD Polikliniği'nde, 6.5 MHz'lik transvajinal proba donatılmış bir Toshiba SSH-140A cihazı kullanılarak yapıldı. US ile tanımlanabilecek over patolojileri ekarte edildikten sonra, her iki overin en geniş uzunlamasına (D₁), enlemesine (D₂) ve derinlemesine (D₃) çapları ölçülerek, 'prolate' elipsoid formülü (Vol= D₁ x D₂ x D₃ x 0.523) kullanılarak hacimleri hesaplandı.²⁰ Overlerin içerisinde gözlenen, yuvarlak veya oval anekoik yapılar folikül olarak kabul edildi. 2-10 mm arasındaki tüm AF sayılarak her iki over için ayrı ayrı kaydedildi. İki taraf over hacimleri (z= -1.412; p= 0.16) ve AF sayıları (z= -0.979; p= 0.33) birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği için değerlendirmelerde toplam over hacimleri ve AF sayılarının kullanılması uygun görüldü.

Aynı günde tüm hastalardan bazal FSH, luteinizan hormon (LH), E₂ ve inhibin-B ölçümü

için antekubital venöz kan örneği alındı. Soğutmalı santrifüjde (+4°C; 2800 rpm; 15 dk.) serumları ayrılan örnekler, ölçüm gününe kadar -80°C'da saklandı. Serum FSH, LH ve E₂ düzeyleri, Uludağ Üniversitesi Tıbbi Tahliller, Eğitim ve Araştırma Merkez Laboratuvarında, Kemoluminesens İmmünoassay (CELIA) metodu ile ve ADVIA-Centaur FSH, LH ve Estradiol-6 kitleri (Bayer Corp., NY, USA; Biobak, İstanbul, Türkiye) kullanılarak otomatik olarak (ADVIA-Centaur Immunoassay Systems, NY, USA) ölçüldü. Yöntemin sensitivitesi, FSH için 0.3 mIU/mL, LH için 0.07 mIU/mL ve E₂ için 10 pg/mL idi. Serum inhibin-B düzeyleri Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD'da, spesifik ölçüm kiti (Serotec Ltd, Oxford, UK) kullanılarak enzim immünoassay analizöründe (CERES 900 C, BIO-TEK Instruments Inc., Winooski, ABD) ELISA metodu ile ölçüldü. Yöntemin inhibin-B için sensitivitesi 15 pg/mL idi.

Histerektomi ve bilateral salpingo-ooforektomi operasyonları, tüm hastalarda değerlendirmeyi takibeden bir hafta içerisinde gerçekleştirildi. Her iki overin hacmi, operasyonun hemen bitiminde su taşıma yöntemi ile ölçüldü. İki taraf over hacimleri birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği için (z= -1.435; p= 0.15) değerlendirmede toplam over hacimlerinin kullanılması uygun görüldü.

Tüm histolojik spesimenler, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD'da, tek bir patoloğ tarafından değerlendirildi. Araştırmaya katılan patoloğun, demografik özellikleri de dahil olmak üzere, hastalar hakkında bilgisi yoktu. Overlerden, %10'luk tamponlanmış formaldehid içerisinde 24 saat süreyle fiksasyonu takiben, büyüklüklerine göre, uzun akslarına paralel 2 ya da 3 kesit alındı. Her bir longitudinal kesitin kortikal alanından enine olarak elde edilen ikişer adet kesit folikül sayımı için ayrıldı. Sayım yapılacak kesitler 18 saat süreyle ototeknikomda (Leica TP 1050, Vision Ltd, Germany) hazırlandıktan sonra parafine gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom ile elde edilen 0.5 mikron'luk kesitler lam üzerine alınıp hematoksil-eozin ile boyandı ve ksilene daldırılıp, Kanada balsamı ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Olympus CH 30RF200 mikroskopta (Olympus Ltd, Japan)

x10 büyütmede değerlendirilerek 10 grid alandaki ortalama pre-antral folikül (PAF) sayısı belirlendi. İki taraf overden elde edilen PAF sayıları birbirlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği için (z= -0.681; p= 0.50) değerlendirmelerde toplam PAF sayılarının kullanılması uygun görüldü.

İstatistiksel değerlendirmeler Statistics Package for Social Sciences (SPSS, Version 10.0) kullanılarak yapıldı. Sürekli değişkenlerin birbirleriyle ilişkilerinin değerlendirilmesinde normal dağılım gösteren parametreler için Pearson, normal dışı dağılım gösterenler için Spearman korelasyonları; gruplar arası karşılaştırmalarda bağımsız değişkenler için t-testi, bağımlı değişkenler için ise Wilcoxon testi kullanıldı. Histolojik kesitlerde tanımlanan folikül sayıları ile bire bir anlamlı istatistiksel korelasyon gösteren çeşitli değişkenlerin, over rezervinin öngörülmesi için kullanılabilecek çeşitli kombinasyonları regresyon analizi ile değerlendirildi. p< 0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Olguların demografik ve fiziksel özellikleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Hastaların %52.9'u (n= 27) hayatlarının herhangi bir dönemi boyunca ortalama 30.7 ± 20.0 ay süreyle oral kontraseptif kullanmıştı ve %15.7'si (n= 8) sigara içiyordu. Ortalama ilk adet ve son gebelik yaşı, sırasıyla 12.4 ± 0.9 ve 30.3 ± 3.6 olan olguların 3. gün bazal hormon değerleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Aynı gün US ile belirlenen ortalama toplam over hacmi 7.9 ± 4.3 cm³, AF sayısı ise 7.1 ± 4.3 idi.

Operasyon sonrası su taşıma yöntemi ile ölçülen over hacmi ortalama 10.3 ± 3.7 cm³, histolo-

Tablo 1. Olguların demografik ve fiziksel özellikleri.

	Ortalama (± SD)
Yaş (yıl)	47 ± 2.7
Gravida	4.4 ± 2.6
Parite	2.9 ± 1.3
Ağırlık (kg)	71.9 ± 11.3
Boy (m)	1.59 ± 5.0
VKİ (kg/m ²)*	28.3± 4.5

*VKİ = Vücut kütle indeksi

Tablo 2. Olguların bazal hormon değerleri.

	Ortalama (\pm SD)
FSH (mIU/mL)	13.9 \pm 15.4
LH (mIU/mL)	9.2 \pm 10.2
E ₂ (pg/mL)	73.4 \pm 125.3
İnhibin-B (pg/mL)	43.7 \pm 46.6

Tablo 3. Yaş ile çeşitli parametrelerin korelasyonları.

	r	p
VKİ	0.342	0.038
FSH	0.389	0.072
LH	0.319	0.052
İnhibin-B	-0.194	0.013
AF sayısı	-0.332	0.045
Preantral folikül sayısı	-0.324	0.001

jik kesitlerden tanımlanan ortalama PAF sayısı ise 1.7 ± 2.6 olarak bulundu.

Korelasyon analizlerinde yaş ile vücut kitle indeksinin (VKİ) istatistiksel anlamlı olarak arttığı, FSH ve LH'nin anlamlı olmayan artışlar gösterdiği, inhibin-B ve US ile tanımlanan AF sayısı ile histolojik olarak tanımlanan PAF sayısının ise anlamlı olarak azaldığı saptandı (Tablo 3). Toplam gebelik ve doğum sayısı ile hiçbir değişken arasında korelasyon belirlenemedi. Benzer şekilde ilk adet ve son gebelik yaşları ile herhangi bir değişken arasında da anlamlı bir ilişki bulunamadı.

VKİ arttıkça inhibin-B anlamlı bir şekilde azalıyor (r= -0.273; p= 0.028). Oral kontraseptif kullanımı ile herhangi bir değişken arasında ilişki belirlenemezken, US ile tanımlanan ortalama AF sayısı sigara içenlerde (4.6 ± 2.4) sigara içmeyenlere (9.2 ± 7.6) göre anlamlı olarak daha azdı (p= 0.042).

LH arttıkça US ile tanımlanan ortalama AF sayısı anlamlı olarak azalırken (r= -0.260; p= 0.020), E₂ ile hiçbir değişken arasında anlamlı bir korelasyon saptanamadı. FSH artışı ile ise gerek US ile tanımlanan ortalama AF sayısında (r= -0.254; p= 0.050), gerekse histolojik olarak tanımlanan PAF'da (r= -0.235, p= 0.057) anlamlı olma-

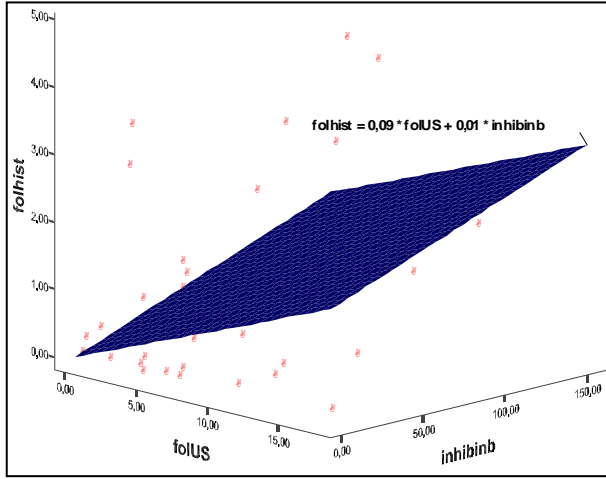
yan azalmalar mevcuttu. İnhibin-B düzeyi yüksek olan hastalarda histolojik olarak tanımlanan ortalama PAF sayısı da anlamlı olarak yüksekti (r= 0.191; p= 0.017).

US ile ölçülen toplam over hacmi ile operasyon sonrası su taşıma yöntemi ile ölçülen over hacmi arasında ileri derecede anlamlı bir korelasyon saptandı (r= 0.742, p< 0.001). Gerek US ile (r= 0.628; p= 0.020), gerekse su taşıma yöntemi (r= 0.583; p= 0.006) ile belirlenen toplam over hacmi ile US'de tanımlanan ortalama AF sayısı arasında anlamlı korelasyonlar mevcutken, US'de belirlenen ortalama over hacmi (r= 0.164; p< 0.001) ve AF sayısı (r= 0.371; p= 0.047) histolojik olarak tanımlanan PAF folikül sayıları ile anlamlı derecede bağlantılıydı.

Histolojik olarak tanımlanan ortalama PAF sayısı ile korele oldukları gösterilmiş değişkenler olan yaş, FSH, inhibin-B ve US ile belirlenen ortalama over hacmi ve AF sayısının temel değişkenler, bu değişkenler ile korele oldukları saptanmış olan VKİ, sigara kullanımı, LH ve su taşıma yöntemi ile ölçülen ortalama over hacminin kofaktörler olarak girildiği çoklu regresyon analizinde, histolojik olarak tanımlanan PAF sayılarının istatistiksel anlamlı iki bağımsız belirleyicisinin inhibin-B (B= 0.0131; p= 0.003) ve US ile tanımlanan AF sayıları (B= 0.0871; p= 0.008) olduğu saptandı. Bu modelin [histolojik PAF sayısı= US ile tanımlanan AF sayısı x 0.09 + inhibin-B x 0.01] histolojik olarak tanımlanan PAF sayılarını belirlemedeki değeri (R²= 0.542) istatistiksel olarak ileri derecede anlamlıydı (F= 21.907, p< 0.001) (Şekil 1).

Tartışma

Bu çalışma, over rezervi tayininde halen kullanılmakta olan çeşitli ultrasonografik ve endokrinolojik değişkenler ile histolojik over kesitlerinde tanımlanan folikül sayıları arasındaki ilişkiyi belirlemeye yöneliktir. Aynı konuda daha önceden yapılmış çoğu çalışmadan temel farkı, birbirleriyle de ilişkili olan çok sayıda değişkeni aynı anda ele alarak, uygun istatistiksel yöntemler yardımıyla over rezervinin bağımsız belirteçlerini ortaya koymayı hedeflemesidir. Birden çok bağımsız belirte-



folhist = histolojik olarak tanımlanmış pre-antral foliküller.
folUS = ultrasonografik olarak tanımlanmış antral foliküller.

Şekil 1. Histolojik olarak tanımlanmış pre-antral folikülleri belirlemede prediktif belirteçlerin regresyonu.

cin bir arada kullanılması ise, over rezervini doğru olarak belirlemeye tek bir belirteçten daha çok yaklaşabilir.

Overdeki primordial folikül sayıları ile anlamlı korelasyon gösterdiği tanımlanmış olan ilk faktör yaştır. Richardson ve ark.²¹ perimenopozal kadınlarda ooforektomi spesimenlerinde, Lass ve ark.²² ise infertil kadınlarda laparoskopik over biyopsisi örneklerinde yaşla birlikte folikül yoğunluğunda belirgin bir azalma meydana geldiğini ortaya koymuşlardır. Aynı ilişki bizim çalışmamız tarafından da doğrulanmıştır.

Yaş, bu çalışmada over rezervinin diğer belirteçleri ile de korelasyon göstermektedir. Bu belirteçler arasında yer alan AF sayısının sağlıklı genç kadınlarda dahi yaşa bağlı olarak azaldığı Reuss ve ark. tarafından da ortaya konulmuştur.²³ Morris ve ark. ise ooforektomi öncesi sayılan AF'lerin operasyon sonrası sayılan primordial folikülleri doğru olarak yansıttığını göstermişlerdir.²⁴

Yaşla inhibin-B arasındaki, bu çalışmada da belirlenmiş olan ters ilişki ise, daha önceleri çeşitli araştırmacılar tarafından da tanımlanmış olan kesin bir bulgudur.^{25,26} Erken perimenopozal dönemde gözlenen ilk değişikliğin inhibin-B'deki azalma olduğu gösterilmişken, azalan negatif feedback nedeniyle FSH'nin ancak daha sonraları yükselmeye

başladığı, artan FSH nedeniyle ise E₂ düzeylerinde belirgin bir azalma olmayabileceği vurgulanmıştır. Diğer taraftan nispeten yüksek E₂ düzeylerinin FSH'da yanıtıcı bir baskılanmaya da neden olabileceği akıldan çıkarılmamalıdır.²⁶ Bu nedenlerle, gerek bizim çalışmamızda, gerekse önceki çalışmalarda FSH veya E₂ ile ne yaş ne de over rezervi arasında dolaysız korelasyonlar tarif edilememiştir.^{22,27}

Over rezervini belirlemedeki önemi ortada olan yaş, AF sayısı ve inhibin-B de dikkate alındığında prediktif değerini kaybetmektedir. Regresyon analizinin bu sonucu yaşın önemini yadsılamakta, sadece diğer iki değişkenin bir arada ele alınmasının yaştan daha fazla bilgi verebileceğine işaret etmektedir. Öte yandan çalışmamızın sadece 40-54 yaşlarındaki kadınları kapsadığı dikkate alınmalı; daha geniş bir yaş yelpazesi söz konusu olduğunda, yaşın da bu denklem içerisinde yerini alabileceği akla getirilmelidir. Klinik açıdan bakıldığında ise over rezervini belirlemede kullanılacak bir denklemin yaşı dışlaması ancak olumlu olarak değerlendirilebilir. Söz konusu klinik soru, hayatının beşinci dekadında olan bir kadında muhtemel menopoz yaşının öngörülmesi veya over rezervi yaşından beklenmeyecek derecede kötü olan genç bir infertil kadında ovaryan stimülasyona cevabın belirlenmesi ise yaştan bağımsız klinik belirteçlerin potansiyel değeri açıktır.

Bu çalışmada US ile ölçülen over hacmi ile over rezervi arasında da anlamlı bir ilişki belirlenmişken, bu belirteç de regresyon analizinde önemini kaybetmektedir. AF sayısı da dikkate alındığında, over hacminin tek başına taşıdığı tanısal değeri kaybettiği daha önceki çalışmalar tarafından da vurgulanmıştır.^{28,29}

Oluşturulan regresyon modelinde over rezervinin bağımsız belirleyicileri oldukları belirlenen ortalama AF sayısı ve inhibin-B ile korele oldukları gösterilmiş olan diğer iki parametre ise VKİ ve sigara kullanımınıdır. Artan VKİ ile inhibin-B'nin azaldığı daha önceleri de ortaya konulmuş olan bir bulgudur.^{30,31} Bu ilişkinin önemi bilinmemekle beraber, VKİ'nin regresyon analizi sonucunda istatistiksel anlamlılığını kaybetmesi, inhibin-B'den bağımsız bir değer taşımadığı şeklinde yorumlanabilir. Sigara kullanımının folikül havuzunda anlamlı bir daral-

maya neden olduğu ise Westhoff ve ark. tarafından morfolojik olarak ortaya konulmuştur.³² Bu bulgulara paralel olarak, bizim çalışmamızda da sigara kullanan kadınlarda AF sayılarında anlamlı bir azalma gözlenmiş, ancak muhtemelen sigara kullanan hastalarımızın sayıca azlığı nedeniyle sigara kullanımı regresyon modelinde bağımsız bir belirteç olarak yer bulamamıştır.

Bu çalışmanın sonuçları over rezervinin tayininde birden çok belirteci birarada ele alan tanısal modellerin, belirteçlerin tek tek kullanımından daha değerli olabileceğine işaret etmekte ve bu bulguyu PAF'ın histolojik incelemesine dayandırmaktadır. Çoklu modellerin klinik alanda da değer taşıyabileceği gösterilmiş; örneğin Bancsi ve ark. in-vitro fertilizasyon sikluslarında kötü over cevabının öngörülmesinde en değerli belirtecin AF sayısı olduğunu saptarken, FSH ve inhibin-B'nin de modele eklenmesinin tanıda doğruluk payını arttırabileceğini vurgulamıştır.¹¹ Oluşturulabilecek çeşitli tanısal modellere halen klinik kullanım alanı bulan başka değişkenlerin dahil edilmesi de düşünülebilir. Benzer bir yaklaşım sergileyen Gülekli ve ark. da, bazal FSH düzeyleriyle CCCT ve GAST'ın değerini araştırmışlar, ancak ooforektomi spesimenlerinde tanımladıkları folikül sayıları ile bu testlerin hiçbirisi arasında anlamlı bir korelasyon belirleyememişlerdir.³³ Mutlaka değerlendirmeye alınması gerektiğini düşündüğümüz, ancak çalışma imkanı bulamadığımız –ve bu nedenle araştırmamızın da eksik bir tarafını oluşturan– bir diğer değişken ise son yıllarda önemi giderek daha fazla ortaya konulmaya başlanmış olan anti-Müllerian hormondur.⁶

Çalışmamızın eleştiriye açık bir diğer yönü ise yöntemsel olup PAF'ın tanımlanmasıyla ilgilidir. Overle ilgili ilk morfolojik çalışmaları gerçekleştiren Block, tüm organdan seri kesitler alınması ve tüm hesaplamaların düzenli aralıklarla alınan bu kesitlere göre yapılması gerektiğini ifade etmiş,³⁴ Richardson ve ark. ise folikül sayılarının her 100 kesitte 10 ardışık kesitin değerlendirilmesi ile doğru olarak belirlenebileceğini göstermişlerdir.²¹ Ancak overlerden elde edilecek tüm kesitlerin incelenmesinin, gerektirdiği emek yoğunluğu nedeniyle pratikte mümkün olmadığını

savunan Westhoff ve ark. folikülleri, seri olmayan altı kesitte saymışlar ve her hasta için elde edilen toplam preparat sayısı farklı olduğundan, toplam folikül sayısı yerine preparat başına ortalama folikül sayısını kullanmaya karar vermişlerdir.³² Ooforektomi spesimenleri yerine laparoskopik over biopsisi örneklerini kullanan Lass ve ark. da toplam folikül sayısı yerine folikül yoğunluğunu esas almışlardır.²² Folikül yoğunluğunu esas alan bu yaklaşım, over hacmini –ve sonuç olarak toplam folikül sayısını– dışlasa da, over hacminin US ile kolaylıkla ölçülebilirliği bir tarafa, çalışmalar asıl tanısal değer taşıyan belirtecin over hacminden çok ortalama folikül sayısı olduğunu vurgulamaktadır.^{28,29}

Sonuç

Sonuç olarak bu çalışma, over rezervin öngörmekte klinik kullanım alanı bulan AF sayısı ve inhibin-B'nin, morfolojik olarak tanımlanmış follikül havuzunu belirlemede bağımsız değişkenler olarak kullanılacaklarını göstermekte ve daha büyük hasta gruplarında, daha çok değişkenin değerlendirmeye alınacağı morfolojik çalışmalara kapı açmaktadır. İleride planlanacak çalışmalarda yeni geliştirilen morfometrik analiz tekniğinin kullanılması ise folikül sayılarının daha kısa bir sürede ve daha kesin olarak tanımlanmasını sağlayabilir.²⁴ Folikül sayıları ile bağımsız olarak korele oldukları morfolojik olarak ortaya konulacak çeşitli belirteçlerin birlikte kullanımının, over rezervinin klinikte öngörülmesine olası katkısının belirlenmesi için ise prospektif çalışmalar gerekecektir.

KAYNAKLAR

1. Menken J, Trussell J, Larsen V. Age and infertility. *Science* 1986;233:1389-94.
2. Faddy MJ and Gosden RG. A mathematical model of follicle dynamics in the human ovary. *Hum Reprod* 1995;10:770-5.
3. Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, et al. Accelerated disappearance of ovarian follicles in midlife: Implications for forecasting menopause. *Hum Reprod* 1992;7:1342-4.
4. Seifer DB, Lambert-Masserlian G, Hogan JW, et al. Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome. *Fertil Steril* 1997;67:110-4.
5. Cooper GS, Baird DD, Weinberg CR, Ephross SA, Sandler DP. Age and menopause and childbearing patterns in relation to mortality. *Am J Epidemiol* 2000;151:620-3.

6. de Vet A, Laven SEJ, de Jong HF, Themmen PNA, et al. Antimüllerian hormone serum levels: A putative marker for ovarian ageing. *Fertil Steril* 2002;77:357-62.
7. Marcus SF and Brindsen PR. In-vitro fertilization and embryo transfer in women aged 40 years and over. *Hum Reprod Update* 1996;2:459-68.
8. Lass A, Croucher C, Duffy S, et al. 1000 initiated cycles of in-vitro fertilization in women 40 years old or more. *Fertil Steril* 1998;70:1030-4.
9. Lass A, Skull J, McVeigh E, et al. Measurement of ovarian volume by transvaginal sonography before human menopausal gonadotrophin superovulation for in-vitro fertilisation can predict poor response. *Hum Reprod* 1997;12:294-7.
10. Chang MY, Chiang CH, Hsieh TT, et al. Use of the antral follicle count to predict the outcome of assisted reproductive technologies. *Fertil Steril* 1998;69:505-10.
11. Bancsi LF, Broekmans FM, Eijkemans MC, de Jong HF, Habbema JF, de Velde ER. Predictors of poor ovarian response in in-vitro fertilization: A prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertil Steril* 2002;77:328-37.
12. Scott RT and Hoffmann GE. Prognostic assessment of ovarian reserve. *Fertil Steril* 1995;63:1-11.
13. Buyalos RP, Daneshmand S, Brzechffa PR. Basal estradiol and follicle-stimulating hormone predict fecundity in women of advanced reproductive age undergoing ovulation induction therapy. *Fertil Steril* 1997;68:272-7.
14. Groome NP, Illingworth PJ, O'Brien M, et al. Measurement of dimeric inhibin-B throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:1401-5.
15. Navot D, Rosenwaks Z, Margalioth EJ. Prognostic assessment of female fecundity. *Lancet* 1987;i:654-7.
16. Winslow KL, Toner JP, Brzyski RG, et al. 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.
17. Fanchin R, De Ziegler D, Olivennes F, et al. Exogenous follicle stimulating hormone ovarian reserve test (EFORT): A simple and reliable screening test for detecting poor responders in in-vitro fertilisation. *Hum Reprod* 1994;9:1607-11.
18. Broekmans FJ, Scheffer GJ, Bancsi LF, et al. Ovarian reserve tests in infertility practice and normal fertile women. *Maturitas* 1998;30:205-14.
19. Sharara FI, Scott RT, Seifer DB. The detection of diminished ovarian reserve in infertile women. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:804-12.
20. Pavlik EJ, de Priest PD, Gallion HH, et al. Ovarian volume related to age. *Gynecol Oncol* 2001;80:333-4.
21. Richardson JS, Senikas V, Nelson FJ. Follicular depletion during the menopausal transition: Evidence for accelerated loss and ultimate exhaustion. *Clin Endocrinol* 1987;635:1231-5.
22. Lass A, Silye R, Abrams DC, Krausz T, Hovatta O, Winston MLR. Follicular density in ovarian biopsy of infertile women: A novel method to assess ovarian reserve. *Hum Reprod* 1997;12:1028-31.
23. Reuss ML, Kline J, Santos R, Levin B, Timor-Tritsch I. Age and the ovarian follicle pool assessed with transvaginal ultrasonography. *Obstet Gynecol* 1996;174:624-8.
24. Morris JL, Thyer AC, Soules MR, Klein AN. Antral follicle count by transvaginal ultrasound is reflective of the actual primordial follicle pool. *Hum Reprod* 2002;17:3-4.
25. Klein NA, Illingworth PJ, Groome NP, Mc Nelly AS, Battaglia DE, Soules MR. Decreased inhibin-B secretion is associated with the monotropic 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.
26. Burger HG, Cahir N, Robertson DM, et al. Serum inhibin-A and B fall differentially as FSH rises in perimenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1998;48:809-13.
27. Battistini M, Freeman WE, Grisso AJ, Sammel M, Hollander L, Espana CB. Pilot study of racial differences and longitudinal changes in inhibin-B in the late reproductive years. *Fertil Steril* 2002;77:193-5.
28. Flaws JA, Langenberg P, Babus JK, Hirshfield AN, Sharara FI. Ovarian volume and antral follicle counts as indicators of menopausal status. *Menopause* 2001;8:175-80.
29. Frattarelli JL, Lauria-Costab DF, Miller BT, Bergh PA, Scott RT. Basal antral follicle number and mean ovarian diameter predict cycle cancellation and ovarian responsiveness in assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril* 2000;74:512-7.
30. Rudelli CC, Pigny P, Decanter C, et al. Obesity and serum luteinizing hormone level have an independent and opposite effect on the serum inhibin-B level in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2002;77:281-7.
31. Pigny P, Rudelli CC, Decanter C, et al. Serum levels of inhibins are differentially altered in patients with polycystic ovary syndrome: effects of being overweight and relevance to hyperandrogenism. *Fertil Steril* 2000;73:972-7.
32. Westhoff C, Murphy P, Heler D. Predictors of ovarian follicle number. *Fertil Steril* 2000;74:624-8.
33. Gülekli B, Bülbül Y, Önvural A, et al. Accuracy of ovarian reserve tests. *Hum Reprod* 1999;11:2822-6.
34. Block E. Quantitative morphological investigations of the follicles in women. Variation at different ages. *Acta Anat* 1952;14:108-23.