



İVF ve Embriyo Transferi Sikluslarında Folikül Sıvılarında L-Karnitin, Antimüllerian Hormon (AMH) Düzeyleri ile Oosit Matürasyonu, Kalitesi ve Gebelik Sonuçları Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi

Mehmet İncebiyık¹, Mert Ulaş Barut², İsmail Koyuncu³, Sibel Sak², Hacer Uyanıkoğlu², Muhammet Erdal Sak²

¹ Şanlıurfa Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, Şanlıurfa, Turkey

² Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AB, Şanlıurfa, Turkey

³ Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AB, Şanlıurfa, Turkey

Geliş: 18.08.2023; Revizyon: 20.12.2023; Kabul Tarihi: 21.12.2023

Öz

Amaç: Bu çalışmada IVF ve embriyo transferi sikluslarında folikül sıvılarında L-karnitin, antimüllerian hormon düzeyleri ile oosit matürasyonu, kalitesi ve gebelik sonuçları arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: İnfertilite nedeni ile takip edilen, ICSI ve ET için kontrollü overyan hiperstimulasyon yapılması planlanan hastalar çalışmaya dahil edildi. Antagonist protokol kullanılarak ovulasyon induksiyonu yapıldı. Elde edilen oositlerin ve fertilize olan embriyoların gebelik başarı oranı değerlendirildi. L-karnitin ve AMH seviyelerinin embriyo kaliteleri, oosit matürasyonu, fertilizasyon, biyokimyasal gebelik ve klinik gebelik oranları ile korelasyonu değerlendirildi. Verilerin analizi SPSS 22 programı ile yapıldı. Pearson, Spearman's Korelasyon katsayısı Student's t testi ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. Bazı serum parametrelerinin gebelik oluşumunu öngörmede bir tanı testi olarak kullanılabilirliğini belirlemek için ROC eğrisi çizildi.

Bulgular: Gebelik sonucu negatif olanların folikül sıvısı AMH ortalaması 0,95ng/ml iken, gebelik sonucu pozitif olanların ortalaması 0,66ng/ml'dir. Gebelik sonucu negatif olanların folikül sıvısı L-karnitin değeri ortalaması 134,02 µmol/Liken, gebelik sonucu pozitif olanların ortalaması 144,78µmol/L'dir. Her iki değişken ile gebelik sonucu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p>0,05).

Sonuç: Bu çalışmada IVF ve embriyo transferi sikluslarında folikül sıvılarında L-karnitin, antimüllerian hormon düzeyleri ile oosit matürasyonu, kalitesi ve gebelik sonuçları arasındaki anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Anahtar kelimeler: anti-müllerian hormon, embriyo transferi, folikül stimulan hormon, infertilite, L-karnitin, folikül sıvısı

DOI: 10.5798/dicletip.1412116

Correspondence / Yazışma Adresi: Mehmet İncebiyık, Şanlıurfa Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, Şanlıurfa, Turkey e-mail: drmehmetincebiyık@gmail.com

Evaluation of The Relationship Between L-Carnitine, Antimullerian Hormone (AMH) Levels and Oocyte Maturation, Quality and Pregnancy Outcomes in Follicular Fluids in Ivf and Embryo Transfer Cycles

Abstract

Background: In this study, it was aimed to evaluate the relationship between L-carnitine, antimullerian hormone levels in follicle fluids and oocyte maturation, quality and pregnancy outcomes in IVF and embryo transfer cycles.

Methods: Patients who were followed up for infertility and planned for controlled ovarian hyperstimulation for ICSI and ET were included in the study. Ovulation induction was performed using the antagonist protocol. The pregnancy success rate of the obtained oocytes and fertilized embryos was evaluated. Correlation of L-carnitine and AMH levels with embryo quality, oocyte maturation, fertilization, biochemical pregnancy and clinical pregnancy rates were evaluated. Data analysis was done with SPSS 22 program. Pearson, Spearman's Correlation coefficient Student's t test and Mann-Whitney U test were used. The ROC curve was plotted to determine the utility of some serum parameters as a diagnostic test in predicting pregnancy occurrence.

Results: Follicular fluid AMH average of those with negative pregnancy result is 0.95ng/ml, while the average of those with positive pregnancy result is 0.66ng/ml. The average of the follicle fluid L-carnitine value of those with a negative pregnancy result is 134.02 μ mol/Lichen, and the average of those with a positive pregnancy result is 144.78 μ mol/L. No statistically significant relationship was found between both variables and pregnancy outcome ($p>0.05$).

Conclusions: In this study, no significant relationship was found between L-carnitine and antimullerian hormone levels in follicular fluids and oocyte maturation, quality and pregnancy outcomes in IVF and embryo transfer cycles.

Keywords: Anti-mullerian hormone, embryo transfer, follicle stimulating hormone, infertility, L-carnitine, follicle fluid.

GİRİŞ

İnfertilite Ulusal Sağlık ve Klinik Mükemmellik Enstitüsü (National Institute for Health and Clinical Excellence: NICE) tarafından, bireylerde tanımlı üreme fonksiyon bozukluğu olmaksızın 2 yıllık düzenli korunmasız birliktelik sonrasında gebelik oluşmaması şeklinde tanımlanmıştır. Amerikan Üreme Derneği ise 12 ay veya daha fazla süre korunmasız ilişki sonrasında başarılı bir gebelik gerçekleşmemesini infertilite olarak nitelendirmiştir¹.

Antimüllerian hormon (AMH), ayrıca mullerian inhibe edici madde olarak da bilinmektedir ve transforme edici büyüme faktörleri (TGF) süperfamilyasının bir üyesi, doku büyümesine ve farklılaşmasına yol açan dimerik bir glikoproteindir^{2,3}. AMH yetişkin kadınlarda granüloza hücrelerinden ekspresse olmaktadır. Yaşa bağımlı olarak seviyesinde azalma olduğu belirlenmiş olan AMH, over rezervinin önemli bir belirteci gibi düşünülmektedir³.

L-Karnitin

L-karnitin olarak bilinen levokarnitin kimyasal olarak 3-karboksi-2-hidroksi-N, N-trimetil-1-propanaminyumun aktif bir stereoisomeri olduğu bilinmektedir. Kimyasal özellikleri; polar olması ve bileşik yapmadığı durumlarda nötr olan hem pozitif hem de negatif elektriksel yüklenim yapabilmesidir⁴. Mitokondri üzerinden etki gösteren L-karnitin enerji metabolizması ve antioksidan etkisi ile birlikte etkin bir rol oynamaktadır. Ayrıca etkisi oldukça düşüktür⁵. Bu nedenle kadın infertilitesi üzerinde de benzer bir etki gösterebildiğine dair kanıtlar mevcuttur.

Foliküler sıvı yumurta kalitesi için uygun bir ortam oluşturmaktadır⁶. Foliküler sıvıda yer alan Antimüllerian hormon (AMH) granüloza hücreleri tarafından salgılanmaktadır. Şimdiye kadar tanımlanmış olan birçok fonksiyonu olan AMH'nin en önemli özelliklerinden biri oosit gelişimi üzerindeki etkinliğidir. Küçük foliküller için büyüme özelliği göstermektedir, bunun

yanı sıra Folikül stimüle edici hormon aracılığıyla seçim, folikül artışı, folikülogenezis aktivasyonu, aromatoz madde salınımının inhibisyonu ve regülasyon gibi bir dizi mekanizmada rol aldığına dair araştırmalar gerçekleşmiştir. Ayrıca AMH ve AMH reseptör genlerinde meydana gelen mutasyonların infertilitede etkili olduğu bildirilmiştir⁷. L-karnitin hidrojen peroksid ve lipid peroksid ürünlerinin temizlenmesinde aktif rol alan bir maddedir. Bunun yanı sıra antioksidant olarak birçok oksidasyon mekanizmasında etkin olduğuna dair kanıtlar mevcuttur. Bu nedenle oosit kalitesinde oksidasyon temelli problemlerin ortadan kaldırılabilmesi için potansiyel bir madde olarak görülmektedir⁸.

Foliküler sıvı oosit kalitesinin belirlenmesi açısından da büyük bir öneme sahiptir. Yapılan çalışmalarla birlikte foliküler sıvıda gelişen bazı bozukluklarda enzimatik içeriğin değişikliğe uğrayabileceği bildirilmiştir⁹. Ayrıca foliküler sıvının içeriği metabolik mekanizmalar üzerinde de etkilidir ve içeriğindeki hormonal dengenin yapısında meydana gelen değişimin yumurta kalitesine etki ettiği belirlenmiştir¹⁰.

Oosit kalitesine etki eden birçok mekanizmanın, farklı aşamalarda gebelik sonuçlarına etki ettiği görülmektedir. Özellikle endometriozis ve polikistik over sendromu için yayınlanan çalışmalarda gebelik sonuçlarının her iki durumda da oldukça düştüğü vurgulanmaktadır^{11,12}. Bunun önlenmesi için bazı materyallerin kullanılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. AMH bunlardan biridir ve aynı zamanda tedavi sürecinde kullanılabileceği düşünülmektedir^{13,14}. Hastalıkların etki mekanizmaları genel olarak oksidasyon seviyesinde ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle L-karnitin de potansiyel bir tedavi protokolü için uygun olduğu düşünülmektedir¹⁵.

Bu çalışmanın amacı, IVF ve embriyo transferi sikluslarında folikül sıvılarında L-karnitin ve antimüllerian hormon (AMH) düzeyleri ile oosit

matürasyonu, kalitesi ve gebelik sonuçları arasındaki ilişkinin değerlendirilmesidir.

YÖNTEMLER

Bu çalışma, Ekim 2021- Ekim 2022 tarihleri arasında ovulasyon indüksiyonu yapılan, ICSI ve ET (intra-sitoplazmik sperm enjeksiyonu ve embriyo transferi) planlanan hastalardan gönüllülerin folikül sıvıları ve serum örneklerini içeren prospektif bir çalışmadır.

ICSI ve embriyo transferi endikasyonları: erkek faktör infertilitesi, tubal bozukluklar, ovulasyon bozuklukları, düşük ovaryen rezerv, endometriozis, açıklanamayan infertilite gibi durumlardır. 18-45 yaşlar arasında olan infertil çiftler çalışmaya dahil edildi. Hastaların infertilite süreleri, önceden tedavi uygulanmış olması ya da olmaması, çalışmaya dahil edilme koşulu olarak kabul edilmemiştir.

Menstrüel siklusun 2-3'ünde yapılan temel ultrason muayenesinde teşhis edilen endometriomalar, mevcut büyüklük ve kliniğe göre cerrahi tedaviye ihtiyaç duyanlar veya medikal tedaviye ihtiyaç duyan hastalara uygun yönlendirmeler yapıldı.

Başvuru anında over rezerv testleri düşükse ve/veya ultrasonografide overlerdeki toplam antral folikül sayısı düşükse zaman kaybetmemek için hastalar doğrudan IVF grubuna alındı. Açıklanamayan infertilite grubunda, yapılan üç IUI denemesinden sonra gebe kalamayan çiftler tüp bebek tedavisine yönlendirildi. Bir yıl kontrasepsiyonsuz çocuk talep eden ve düzenli ilişkiye rağmen gebe kalmayan çiftlerden erkek faktörünü ekarte etmek için spermiyogram istendi.

Çalışmamız, 04.10.2021, Karar no: HRU/21.17.05 ile Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Hastalardan yazılı ve sözlü onam alındıktan sonra çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya katılan hastalarda mensin 2. veya 3. Günü bazal hormonlarına bakıldı. Siklus planlanacak olan hastalara daha önceden AMH bakıldı. IVF sonuçlarını

değerlendirirken hastalarda biyokimyasal ve klinik gebeliğin doğrulanması için embriyo transferi sonrası 14. Günde kanda HCG değerinin 50 mIU/ml üzerinde olması, tetkikten 48 saat sonra HCG kontrolünde değer ikiye katlamaması, kendiliğinden değer düşmesi ile biyokimyasal gebelik (kimyasal gebelik veya erken düşük) olarak adlandırıldı. Klinik gebelik ise embriyo transferi sonrası 6. haftada intrauterin yerleşimli gebelik kesesi içinde embrioda kalp atımlarının saptanması olarak adlandırıldı.

Çalışmada kullanılan araçlar ve gereçler Biyokimya AR-GE Laboratuvarı'nda bulunmaktadır. Bu araçlar arasında santrifüj, spektrofotometre, derin dondurucu, vorteks, otomatik biyokimya analizörü, mikroplate washer, mikrosantrifüj, etüv, pipet makinesi ve LC-MS/MS cihazı bulunmaktadır.

L-Karnitin formlarının ölçümü için, infertil bireylerin oosit toplama anında alınan folikül sıvıları kullanılmıştır. Bu örnekler, granuloza hücreleri ve debris uzaklaştırmak için santrifüj edilmiş ve guatre kağıdına damlatılmıştır. Daha sonra örnekler LC-MS/MS ile analiz edilmek üzere hazırlanmıştır.

AMH formlarının ölçümü için ise alınan folikül sıvıları ependorf tüplerine alınmış ve -80 °C'de saklanmıştır. Örnekler daha sonra analiz için hazırlanmış ve ölçülmüştür.

İstatiksel Analiz

Verilerin analizinde SPSS 24.0 paket programı kullanılmıştır. Sürekli verilerin analizinde değişkenlerin normal dağılıp dağılmadığı önce Shapiro Wilk testi ile analiz edilmiş, daha sonra sürekli değişkenlerin normal dağılması halinde istatistiki karşılaştırmalar Student T testi ile yapılmıştır. Normal dağılmadığı durumlarda ise analizler Mann Whitney U testi ile gerçekleştirilmiştir. Değişkenler arasındaki korelasyon değerlendirilirken, normal dağılıma uymayan veriler bulunması nedeniyle Spearman korelasyon analizinden

yararlanılmıştır. ROC analizi uygulandığında analizin anlamlı çıkması durumunda eğri altında kalan alan hesaplanmış ve cut off değerleri belirlenmiştir. İstatistiksel analizler sonucunda $p < 0,05$ olması anlamlı olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

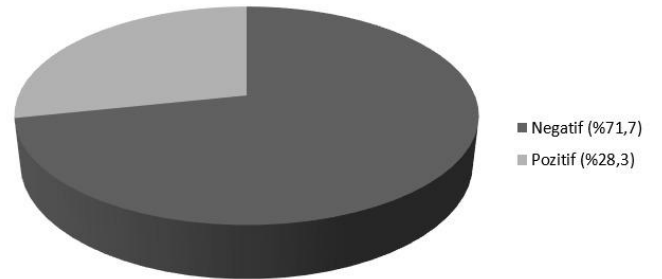
IVF ve embriyo transferi sikluslarında folikül sıvılarında L-karnitin, antimüllerian hormon (AMH) düzeyleri ile oosit matürasyonu, kalitesi ve gebelik sonuçları arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinin amaçlandığı bu çalışmaya toplamda 60 kişi dahil edilmiştir. Katılımcıların demografik özelliklerinin ortalama, standart sapma, en düşük ve en yüksek değerlerine Tablo-1'de yer verilmiştir.

Tablo 1: Katılımcıların Demografik Özellikleri

| Değişkenler | Ortalama | Standart Sapma (SS) | En düşük-En yüksek |
|--------------|----------|---------------------|--------------------|
| Yaş | 30,27 | 4,71 | 22-41 |
| Ağırlık (kg) | 71,40 | 10,49 | 48-91 |
| Boy (cm) | 160,33 | 6,13 | 151-173 |
| BKİ | 27,90 | 5,03 | 18-39 |

Tablo-1.'de görüldüğü üzere katılımcıların yaş ortalaması 30,27'dir. Ağırlık ortalaması 71,40, boy ortalaması ise 160,33'tür. Katılımcıların beden kitle indeksi (BKİ) değeri ağırlık (kg)/boy (m)² formülü ile hesaplanmış ve ortalamasının 27,90 olduğu bulunmuştur.

Gebelik sonucu



Şekil 1: Çalışma Grubunun Gebelik Sonucuna Göre Dağılımı

Şekil-1'de görüldüğü üzere katılımcıların %28,3'ünün gebelik sonucu pozitif, %71,7'sinin ise gebelik sonucu negatif sonuçlanmıştır.

Tablo-2'de katılımcıların folikül sıvısında ölçülen AMH ve L-karnitin değerleri ortalaması ile gebelik sonucu arasındaki ilişkinin değerlendirilmesine yer verilmiştir. Folikül sıvısındaki AMH ve L-karnitin değerleri için öncelikle Shapiro Wilk testi uygulanmış ve bu iki değişkenin de normal dağılım göstermediği anlaşılmıştır. Bu nedenle analiz için Mann Whitney U testinden yararlanılmıştır.

Tablo II: Katılımcıların Folikül Sıvısı AMH ve L-Karnitin Değerleri ile Gebelik Sonuçları Arasındaki İlişki

| | Gebelik sonucu negatif olanlar Ort ± SS | Gebelik sonucu pozitif olanlar Ort ± SS | Ort p |
|------------|--|--|-------|
| AMH | 0,95±1,97 | 0,66±1,46 | 0,623 |
| L-karnitin | 134,02±33,94 | 144,78±29,69 | 0,321 |

SS: Standart sapma, Ort: Ortalama

Tablo-2'den de anlaşıldığı gibi gebelik sonucu negatif olanların folikül sıvısı AMH ortalaması 0,95ng/ml iken, gebelik sonucu pozitif olanların ortalaması 0,66ng/ml'dir. Gebelik sonucu negatif olanların folikül sıvısı L-karnitin değeri ortalaması 134,02 µmol/Liken, gebelik sonucu pozitif olanların ortalaması 144,78µmol/L'dir. Her iki değişken ile gebelik sonucu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo-3'de katılımcıların folikül sıvısı AMH ve L-karnitin değeri ortalamaları ile toplanan oosit sayısı arasındaki ilişkinin değerlendirilmesine yer verilmiştir. Değişkenlerinin normal dağılıma uymadıkları daha önce gösterilmiş

Tablo IV: MII Sayısı, MI Sayısı, Germinal Vezikül Sayısı, Toplanan Oosit Sayısı, Antral Folikül Sayısı, Fertilize Oosit Sayısı İle Folikül Sıvısı AMH ve L-Karnitin Değerlerinin Korelasyonunu

| | L-karnitin (foliküler sıvı) | AMH (foliküler sıvı) |
|-----------------------------|--|--|
| MIİ Sayısı | Spearman korelasyon değeri:-0,134 p: 0,306 | Spearman korelasyon değeri: -0,065 p: 0,621 |
| MI Sayısı | Spearman korelasyon değeri: -0,015 p: 0,909 | Spearman korelasyon değeri: 0,139 p: 0,288 |
| Germinal Vezikül Sayısı | Spearman korelasyon değeri: -0,031 p: 0,817 | Spearman korelasyon değeri: -0,066 p: 0,614 |
| Toplanan Oosit Sayısı | Spearman korelasyon değeri: -0,137 p: 0,298 | Spearman korelasyon değeri: 0,015 p: 0,907 |
| Antral Folikül Sayısı (AFC) | Spearman korelasyon değeri: -0,016 p: 0,919 | Spearman korelasyon değeri: 0,149 p: 0,388 |
| Fertilize Oosit Sayısı | Spearman korelasyon değeri: -0,147 p: 0,262 | Spearman korelasyon değeri: -0,053 p: 0,687 |

MI: Mayoz I, MIİ: Mayoz II

olduğundan, bu analiz Mann Whitney U testi ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo III: Katılımcıların Folikül Sıvısı AMH ve L-Karnitin Değerlerinin Toplanan Oosit Sayısı İle İlişkisi

| | Toplanan oosit sayısı≤5 Ort ± SS | Toplanan oosit sayısı>5 Ort ± SS | p |
|------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------|
| AMH | 0,71±1,20 | 0,97±2,17 | 0,880 |
| L-Karnitin | 145,11±36,13 | 131,70±29,90 | 0,277 |

SS: Standart sapma, Ort: Ortalama

Tablo-3'deki sonuçlara bakarak toplanan oosit sayısı≤5olanların folikül sıvısı AMH ortalamasının 0,71ng/ml iken toplanan oosit sayısı>5 olanların ortalamasının ise 0,97ng/ml olduğu söylenebilir. Ayrıca toplanan oosit sayısı≤5olan katılımcıların folikül sıvısı L-karnitin değeri ortalamaları 145,11 µmol/Liken, toplanan oosit sayısı>5olan katılımcıların ortalamaları 131,70 µmol/L'dir. Her iki değişken ile toplanan oosit sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo-4'da MII Sayısı, MI Sayısı, Germinal Vezikül Sayısı, Toplanan Oosit Sayısı, Antral Folikül Sayısı, Fertilize Oosit Sayısı İle Folikül Sıvısı AMH ve L-Karnitin değerlerinin korelasyonunun incelenmesine yer verilmiştir. Folikül sıvısındaki değerlerin daha önce normal dağılıma uymadığı gösterilmiş olması nedeniyle bu analiz Spearman korelasyon analizi ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo-4'deki sonuçlara bakarak folikül sıvısı AMH ve L-karnitin değerleri ortalamaları ile MII Sayısı, MI Sayısı, Germinal Vezikül Sayısı, Toplanan Oosit Sayısı, Antral Folikül Sayısı, Fertilize Oosit Sayısı arasında anlamlı bir korelasyon olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$).

Tablo V: Toplanan Oosit Sayısı İle Serum Hormon Değerleri ve Folikül Sıvısı Değerlerinin Korelasyonu

| | Spearman korelasyon değeri | p |
|-----------------------------|-------------------------------|------------------|
| AMH (serum) | 0,500 | <0,001 |
| LH | 0,021 | 0,872 |
| Prolaktin | 0,112 | 0,392 |
| Progesteron | 0,039 | 0,767 |
| TSH | 0,155 | 0,238 |
| FSH | -0,420 | 0,001 |
| E2 | -0,035 | 0,790 |
| L-karnitin (foliküler sıvı) | -0,137 | 0,298 |
| AMH (foliküler sıvı) | 0,015 | 0,907 |

Tablo-5'den de anlaşılacağı gibi; Toplanan oosit sayısı ile serum AMH değeri ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif yönde bir korelasyon vardır ($p<0,001$). Yani serum AMH değeri arttıkça toplanan oosit sayısının da arttığı söylenebilir. Toplanan oosit sayısı ile serum FSH değeri ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif yönde bir korelasyon vardır ($p=0,001$). Yani FSH değeri arttıkça toplanan oosit sayısının azaldığı söylenebilir. Serum LH, prolaktin, progesteron, TSH ve östradiol değerleri ortalamaları ile toplanan oosit sayısı arasında anlamlı bir korelasyon yoktur ($p>0,05$). Folikül sıvısı AMH ve L-karnitin değerleri ortalamaları ile toplanan oosit sayısı arasında anlamlı bir korelasyon yoktur ($p>0,05$).

TARTIŞMA

Bu çalışmada IVF ve embriyo transferi sikluslarında folikül sıvılarında L-karnitin ve antimüllerian hormon (AMH) düzeyleri ile oosit matürasyonu, kalitesi ve gebelik sonuçları arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi

amaçlanmıştır. Toplamda 60 kişi dahil edilmiştir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre, gebelik sonucu negatif olanların yaş ortalaması, vücut ağırlık ortalaması, boy ortalaması ve vücut kitle indeksi ortalaması gebelik sonucu pozitif olanlardan daha yüksektir. Ancak aradaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı görülmüştür. Toplanan oosit sayısı düşük olan katılımcıların yaş ortalaması 31,75 iken, toplanan oosit sayısı iyi olan katılımcıların yaş ortalaması 29,28'dir. Toplanan oosit sayısı iyi olan katılımcıların anlamlı farkla yaşının daha küçük olduğu görülmüştür. Yaşın infertilite tedavisi başarısında bağımsız bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Hansen ve arkadaşları (2016)¹⁶, ovulasyon indüksiyonuyla intrauterin inseminasyon tedavisi sonrasında gebelik sonucunun pozitif olup olmama durumunu inceledikleri çalışmalarında, gebelik sonucu pozitif olan hastaların, gebelik sonucu negatif olan hastalara göre yaş ortalamalarının anlamlı farkla düşük olduğunu bulmuşlardır.

Çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında hem gebelik sonucuna göre hem de toplanan oosit sayısına göre, folikül sıvısı AMH ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Korelasyon analizi sonuçlarına göre, folikül sıvısı AMH ortalamaları ile metafaz I aşamasındaki oosit sayısı, metafaz II aşamasındaki oosit sayısı, germinal vezikül (GV) sayısı, toplanan oosit sayısı, fertilize oosit sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır.

Folikül sıvısı AMH düzeyi ile oosit verimi, embriyo kalitesi ve gebelik sonuçları arasındaki korelasyona ilişkin literatür seyrek ve çelişkilidir. Mashiach ve arkadaşları(2010) PCOS'lu 11 kadında bir baskın folikülden alınan folikül sıvısı AMH seviyeleri ile embriyo kalitesi arasında anlamlı olmayan bir ilişki bildirmiştir, ancak folikül sıvısı AMH'ın bu kadınlarda matür oosit verimi veya fertilizasyon oranını öngörmediğini bulmuşlardır¹⁷. Buna karşılık,

Kim ve arkadaşları (2014)¹⁸, normal olarak yumurtlayan kadınlarda baskın bir yumurtlama öncesi foliküldeki folikül sıvısı AMH düzeylerinin embriyo kalitesinin artmasıyla pozitif olarak ilişkili olduğunu ve düşük folikül sıvısı AMH'nin daha düşük fertilizasyon oranı ile ilişkili olabileceğini bildirmiştir, bu da folikül sıvısı AMH'nin oosit kalitesini yansıtabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında hem gebelik sonucuna göre hem de toplanan oosit sayısına göre, folikül sıvısı L-karnitin ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Korelasyon analizi sonuçlarına göre, folikül sıvısı L-karnitin ortalamaları ile metafaz I aşamasındaki oosit sayısı, metafaz II aşamasındaki oosit sayısı, germinal vezikül (GV) sayısı, toplanan oosit sayısı, fertilize oosit sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır.

Levokarnitin veya L-karnitin infertilite yönetiminde faydaları olduğu bildirilmektedir. L-karnitin erkek kısırlığı üzerindeki etkisi artık iyi belgelenmiştir. Spermatozoanın epididimal olgunlaşması ile ilgili olduğu bildirilmiştir¹⁹. L-karnitin, asil-CoA formundaki oksidasyon süreci için bir substrat görevi görerek, sperm solunumu ve motilitesi için enerji üreten asil grubu için mitokondri içi bir araç görevi görmektedir. L-karnitin çok daha az yan etkiye sahip güçlü bir antioksidan olarak hareket ettiği bildirildiğinden, araştırmacılar şimdi bunun kadın infertilitesi için bir tedavi olarak uygulanmasını düşünmeye başlamıştır²⁰. Oksidatif stresin dışı üremesini, oositlerin lipid peroksidasyonu, hayvanlarda döllenme ve embriyo gelişimi dahil olmak üzere çeşitli şekillerde etkilediği iyi bilinmektedir²¹.

L-karnitinin hücrel enerjiyi koruduğu, oksidatif stresi azalttığı ve uygun oosit büyümesi ve blastosistin olgunlaşması için gerekli olan apoptoz yoluyla hücre ölümünü en aza indirdiği bildirilmiştir^{20,21}. IVF prosedürleri sırasında, apoptoza bağlı embriyo parçalanması

sık görülen bir durumdur. Bununla birlikte, kültür ortamının L-karnitin ile desteklenmesi, gelişmekte olan olgunlaşmamış hücrelere koruma sağlayabilmektedir. Pillich ve arkadaşları (2005)²², fare fibroblast kültür ortamında asetil L-karnitin takviyesinin (5 saat ve 24 saat için 0.3, 0.6 ve 1.2 mM) mitokondriyal membranı stabilize ettiğini, organel enerji beslemesini arttırdığını ve gelişen hücreyi mitokondriyal yol yoluyla apoptozdan koruduğunu göstermiştir. Başka bir laboratuvarında, Abdelrazik ve meslektaşları (2009)²³, fare embriyolarının blastosist gelişimi için gerekli olan optimal L-karnitin dozunu araştırmışlardır. 0,3 ve 0,6 mg/mL L-karnitin antiapoptotik etkilere sahip olduğunu ve ayrıca blastosist gelişim hızını artırdığını göstermişlerdir.

Mansour ve arkadaşları (2009)²⁴ ise endometriozisli kadınlarda periton sıvısının toksik etkilerine karşı L-karnitin oositler ve embriyolar üzerindeki koruyucu etkilerini göstermek için aynı dozda (0.6 mg/mL) L-karnitin kullanmıştır. L-karnitin ile desteklenmiş endometriozisli hastaların periton sıvısının embriyolarda apoptoz düzeylerini azalttığını ve oosit mikrotübül ve kromozom yapısını iyileştirdiğini göstermişlerdir. Görüldüğü gibi L-karnitin desteği üzerine çeşitli çalışmalar yürütülmüş ve L-karnitin oosit kalitesi ve gebelik gelişimi üzerindeki olumlu etkilerinden söz edilmiştir. Ancak folikül sıvısındaki mevcut L-karnitin düzeyinin etkilerinin araştırılması konusunda literatürün sınırlı olduğu görülmektedir.

Çalışmaya dahil edilen hasta sayısının ve pozitif gebelik sonucunun sayıca az olması çalışmanın kısıtlılığını oluşturmaktadır. İleriki araştırmalarda daha geniş çalışma evrenlerinde folikül sıvılarında AMH ve L-karnitin düzeylerinin incelenmesi faydalı olacaktır. Çalışmanın prospektif olarak yürütülmüş olması ise, araştırmanın güçlü yanlarından biridir. AMH ve L-karnitin düzeyleri ile oosit,

embriyo kalitesi ve gebelik sonuçları arasında ilişkinin araştırılacağı ileriki çalışmalara ışık tutacak önemli sonuçlar elde edilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda elde edilen sonuçlar literatüre katkı sağlayıcı niteliktedir.

SONUÇ

Son yıllarda IVF sonucunu tahmin etmek için folikül sıvısındaki potansiyel biyobelirteçleri belirlemek için önemli çabalar sarf edilmiştir. Foliküler sıvı, olgunlaşan oositlerin ve embriyoların dinamik, fizyolojik ortamı olarak hizmet etmekte, bu nedenle olgunlaşma sırasında meydana gelen metabolik değişiklikleri yansıttığı varsayılmaktadır. Çalışmamızda folikül sıvısındaki AMH ve L-karnitin düzeyleri incelenmiş ve gebelik sonuçları üzerine olan etkisi açıklanmıştır. Literatürde de Folikül sıvısı AMH ve L-karnitin düzeylerinin oosit kalitesi ve gebelik oluşumu üzerine olan etkileri ve cut off değerleri için çok çeşitli bilgiler bulunmaktadır. Bunlardan bazıları çalışmamızın sonuçları ile uyumlu iken, bazıları ise uyumsuz olarak saptanmıştır. Sonuç olarak in vitro fertilizasyon ve embriyo transferi yapılan hastalarda oosit kalitesi ve gebelik oluşumu üzerine daha fazla çalışmanın çok daha büyük hasta popülasyonları ile gerçekleştirilmesi gerektiği anlaşılmaktadır.

Etik Kurul Onayı: Çalışmamız, 04.10.2021, Karar no: HRU/21.17.05 ile Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

Finansal destek: Bu çalışma, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 24.03.2022 tarih ve 22051 proje numarası ile desteklenmiştir.

Declaration of Conflicting Interests: The authors declare that they have no conflict of interest.

Financial Disclosure: This study was supported by Harran University Scientific Research Projects Unit with the date 24.03.2022 and project number 22051.

KAYNAKLAR

1. Szamatowicz M, Szamatowicz J. Proven and unproven methods for diagnosis and treatment of infertility. *Adv Med Sci.* 2020; 65(1): 93-6.
2. Yılmaz, T. İn-vitro fertilizasyon ve embriyo transferi sikluslarında folikül sıvılarında anti-müllerian hormon (AMH) düzeyleri ile oosit, embriyo kalitesi ve gebelik sonuçları arasındaki ilişki (Master's thesis, Sağlık Bilimleri Enstitüsü) 2016.
3. Tal R, Tal O, Seifer BJ, et al. Antimüllerian hormone as predictor of implantation and clinical pregnancy after assisted conception: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2015; 103(1): 119-30.
4. Binienda Z, Virmani A. The mitochondriotropic effects of L-carnitine and its esters in the central nervous system. *Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents,* 2003;3(4): 275-82.
5. Aliabadi E, Mehranjani MS, Borzoei Z, et al. Effects of L-carnitine and L-acetyl-carnitine on testicular sperm motility and chromatin quality. *Iran J Reprod Med.,* 2012;10(2): 77-8.
6. Da Broi MG, Giorgi VSI, Wang F, et al. Influence of follicular fluid and cumulus cells on oocyte quality: clinical implications. *J Assist Reprod Genet.,* 2018; 35(5): 735-51.
7. Mamsen LS, Bøtkjær JA, Kristensen SG, et al. High variability of molecular isoforms of AMH in follicular fluid and granulosa cells from human small antral follicles. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12: 617523.
8. Giorgi VSI, Ferriani RA, Navarro PA. Follicular Fluid from Infertile Women with Mild Endometriosis Impairs In Vitro Bovine Embryo Development: Potential Role of Oxidative Stress. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2021; 43: 119-25.
9. Değer U, Çavuş Y, Okutucu G, et al. hCG Günü Serum Estradiol ve Progesteron Değerleri, Antagonist Protokollü IVF-ICSI Sikluslarında Tedavi Başarısını Etkiler mi? *Dicle Med J.* 2022; 49 (1): 249-255.
10. Costermans NG, Soede NM, van Tricht F, et al. Follicular fluid steroid profile in sows: Relationship to follicle size and oocyte quality. *Biol Reprod.,* 2020;102(3): 740-9.

11. Daraï E, Cohen J, Ballester M. Colorectal endometriosis and fertility. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2017;209: 86-94.
12. Ooney LG, Dokras A. Beyond fertility: polycystic ovary syndrome and longterm health. *Fertil Steril*. 2018; 110(5): 794-809.
13. Umarsingh S, Adam JK, Krishna SBN. The relationship between antimüllerian hormone (AMH) levels and pregnancy outcomes in patients undergoing assisted reproductive techniques (ART). *PeerJ*, 2020; 8: 10390-1.
14. Gomez R, Schorsch M, Hahn T, et al. The influence of AMH on IVF success. *Arch Gynecol Obstet*. 2016;293(3): 667-73.
15. Li J, Liu L, Weng J, et al. Biological roles of l-carnitine in oocyte and early embryo development. *Mol Reprod Dev*. 2021;88(10): 673-85.
16. Hansen KR, He AL, Styer AK, et al. Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Reproductive Medicine Network. Predictors of pregnancy and live-birth in couples with unexplained infertility after ovarian stimulationintrauterine insemination. *Fertil Steril*, 2016;105(6):1575- 83.
17. Mashiach R, Amit A, Hasson J, et al. Follicular fluid levels of anti-Müllerian hormone as a predictor of oocyte maturation, fertilization rate, and embryonic development in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2010;93(7):2299-302.
18. Kim JH, Lee JR, Chang HJ, et al. Anti-Müllerian hormone levels in the follicular fluid of the preovulatory follicle: a predictor for oocyte fertilization and quality of embryo. *J Korean Med Sci*. 2014;29(9):1266-70.
19. Dunning KR, Robker RL. Promoting lipid utilization with l-carnitine to improve oocyte quality. *Anim Reprod Sci*. 2012;134:69-75.
20. La Marca G, Malvagia S, Pasquini E, et al. The inclusion of succinylacetone as marker for tyrosinemia type I in expanded newborn screening programs. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2008; 22:812- 818.
21. Dunning KR, Russell DL, Robker RL. Lipids and oocyte developmental competence: the role of fatty acids and beta-oxidation. *Reproduction*. 2014; 148:15- 27.
22. Pillich RT, Scarsella G, Risuleo G. Reduction of apoptosis through the mitochondrial pathway by the administration of acetyl-L-carnitine to mouse fibroblasts in culture. *Exp Cell Res*. 2005;306(1): 1- 8.
23. Abdelrazik H, Sharma R, Mahfouz R, et al. L-carnitine decreases DNA damage and improves the in vitro blastocyst development rate in mouse embryos. *Fertil Steril*. 2009;91(2): 589-96
24. Mansour G, Abdelrazik H, Sharma RK, et al. L-carnitine supplementation reduces oocyte cytoskeleton damage and embryo apoptosis induced by incubation in peritoneal fluid from patients with endometriosis. *Fertil Steril*. 2009; 91(5): 2079-86.