T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ZEYNEP KAMİL KADIN VE ÇOCUK HASTALIKLARI
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

DÜŞÜK OVER REZERVİ NEDENİ İLE İN VİTRO FERTİLİZASYON (IVF) YAPILAN HASTALARDA ZONA PELLUSİDA KALINLIĞININ YAŞA BAĞLI DEĞİŞİMİ ve IVF SONUÇLARINA ETKİSİ

Dr. Elif Yelda Bayar

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL – 2025

T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ZEYNEP KAMİL KADIN VE ÇOCUK HASTALIKLARI
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

DÜŞÜK OVER REZERVİ NEDENİ İLE İN VİTRO FERTİLİZASYON (IVF) YAPILAN HASTALARDA ZONA PELLUSİDA KALINLIĞININ YAŞA BAĞLI DEĞİŞİMİ ve IVF SONUÇLARINA ETKİSİ

Dr. Elif Yelda Bayar
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Belgin Devranoğlu
Yardımcı Tez Tanışmanı: Op. Dr. Özgür Uzun

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL – 2025

TEŞEKKÜR

"Hayatta en hakiki mürşit ilimdir." sözleriyle bizlere bilimin yolunu gösteren Ulu Önder GAZİ MUSTAFA KEMAL ATATÜRK'e şükranlarımı sunarak başlamak istiyorum.

Uzmanlık eğitimim süresince, engin bilgi ve deneyimlerini bizlerle yılmadan paylaşan, yol göstericiliği ve destekleriyle eğitimimize büyük katkı sağlayan çok kıymetli hocam başhekimimiz DOÇ. DR. RESUL KARAKUŞ'a,

Tez çalışmamın her aşamasında değerli bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, sabrı, desteği ve katkılarıyla çalışmamın şekillenmesine büyük emek veren tez danışmanım PROF. DR. BELGİN DEVRANOĞLUNA'na,

Asistanlık sürecim boyunca bilgilerini ve cerrahi tecrübelerini sabır ile aktaran jinekoloji klinik şefleri değerli hocalarım PROF. DR. SADIK ŞAHİN VE PROF. DR. TURHAN ARAN'a

Uzmanlık eğitimim süresince şefkati ve bilgisi ile her problemimi büyük bir sabır ile çözmeye çalışan, kadın hastalıkları ve doğum bilgisi nosyonumu oluşturan eğitim sorumlumuz PROF. DR. PINAR KUMRU'ya,

Klinik uygulamalarımızın en güçlü dayanağının bilim olduğunu bana aşılayan, hasta yaklaşımlarıyla benim için değerli eğitmenlerden biri olan değerli hocam DOÇ. DR. HABİBE AYVACI TAŞAN'a,

Çalışmamın başlangıç aşamasından yazım aşamasına kadar her noktada bana cesaret veren, tüm bildiklerini benimle paylaşan ve araştırma yapmayı layığı ile öğreten yardımcı tez danışmanım OP. DR. ÖZGÜR UZUN'a,

Veri toplama aşamasında en az benim kadar emek veren, tüm sorularımı sabırla yanıtlayan UZM. DR. HATİCE ŞİYZEN ÇOBAN'a,

Asistanlık dönemi boyunca birlikte gülüp, birlikte ağladığım, tüm zorlukların üstesinden beraber geldiğim sevgili eşkıdemlerime,

Beni bugünlere getiren, öğrencilik ve asistanlık sürecimde en az benim kadar emek veren, beni koşulsuz şartsız seven biricik aileme,

Aynı hastanede çalışmasak da benimle deneyimlerini paylaşmaktan asla çekinmeyen meslektaşlarım, dostlarım DR. SENA YAVUZ, DR. SENA BAYAZITLI, DR. DİLA DEMİRÇİNLİ, DR. İREM TEKBUDAK'a

Sabrını, şefkatini, desteğini benden bir an bile esirgemeyen; düştüğümde kaldıran, sevgi ve saygısıyla güç veren müstakbel eşim DR. İBRAHİM BATUHAN GÜL'e

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Elif Yelda Bayar
İstanbul – 2025

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR i
KISALTMALAR vi
TABLO LİSTESİ vii
ŞEKİL LİSTESİ ix
ÖZET x
ABSTRACT xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
1.1. Araştırmanın Amacı ve Hipotezler 2
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. GAMETOGENEZİS 3
2.1.1. Gametogenezisin Tanımı ve Önemi 3
2.1.2. Primordial Germ Hücrelerinin Oluşumu ve Göçü 3
2.2. OOGENEZİS 3
2.2.2. Prenatal Matürasyon Evresi 4
2.2.3. Primordial Folliküllerin Aktivasyonu 4
2.2.4. Primordial Folliküllerin Dormant Fazda Tutulması 5
2.2.5. Primordialden Primer Folliküle Geçişte Rol Oynayan Faktörler 5
2.2.6. Primer Follikül Aşaması 6
2.2.7. Sekonder Follikül Aşaması 6
2.2.8. Tersiyer (Antral) Follikül Aşaması 7
2.3. KADIN ÜREME DÖNGÜSÜNDE ROL OYNAYAN ORGANLAR VE HORMONLAR 9
2.3.1. Folikül Gelişimi ve Ovulasyon 10
2.3.2. Hormonal Regülasyon ve Ovulasyon Mekanizması 11
2.3.3. Ovulasyon Sonrası Süreçler 11
2.4. FERTILIZASYON VE İMPLANTASYON 12
2.4.1. Fertilizasyonun Tanımı ve Süreci 12
2.4.2. Sperm ve Oosit Etkileşimi 12
2.4.3. Fertilizasyonun Moleküler Mekanizmaları 13
2.4.4. Kortikal Reaksiyon ve Polispermiyi Önleme 14

2.4.5. Oosit Aktivasyonu ve Zigot Oluşumu 14
2.4.6. Erken Embriyonik Gelişim 15
2.4.7. Morula ve Blastosist Oluşumu 15
2.4.8. İmplantasyon Süreci 16
2.4.9. İmplantasyon Mekanizması 16
2.5. İNFERTILITE 17
2.5.1. İnfertilitenin Tanımı ve Epidemiyolojisi 17
2.5.2. İnfertilitenin Nedenleri 17
2.5.2.1. Ovulatuar Disfonksiyon ve Anovülasyon 18
2.5.2.2. Tubal Faktör 19
2.5.2.3. Endometriozis 20
2.5.2.4. Azalmış Over Rezervi 21
2.5.2.4.1. Over Rezervi Üzerindeki Hormonal Etkiler: 22
2.5.2.5. Uterin ve Servikal Faktörler 24
2.4.2.6. Erkek Faktörü 26
2.5.3. İnfertilite Tedavisi 26
2.5.3.1. İnfertilite için Tedavi Seçimi 26
2.5.3.2. Ovulasyon İndüksiyonu ve Over Stimülasyonu 27
2.5.3.3. Intrauterin İnseminasyon (IUI) 28
2.5.3.4. In-vitro Fertilizasyon (IVF) ve İleri Teknikler 28
2.5.3.5. Tedavi Seçenekleri ve İlaçlar 29
2.5.3.6. Ovulasyon İndüksiyonu için Oral Ajanlar 31
2.5.3.7. Over Stimülasyonu 31
2.5.3.8. Obezitenin ve Kilo Kaybının Rolü 32
2.5.3.9. Fertilite İlaçları ve Doğum Defektleri 32
2.5.4. İnfertilite ve Kanser Riski 33
2.5.5. İnfertilite ile İlişkili Diğer Sağlık Riskleri 34
2.6. IN-VITRO FERTILIZASYON 35
2.6.1. Konvansiyonel teknik 35
2.6.2. İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI) 35
2.6.2.1. ICSI'nin Gelişimi ve Kullanımı 35
2.6.2.2. ICSI Varyantları 36

2.6.2.3. ICSI ve IVF'nin Fertilizasyon Mekanizmaları 36
2.6.2.4. ICSI'nin Avantajları ve Klinik Etkinliği 37
2.6.2.5. Embriyo Gelişimi ve Morfokinetik Analiz 37
2.7. ZONA PELLUCIDA 37
2.7.1. Tarihçe ve Tanım 38
2.7.2. Yapı ve Özellikler 38
2.7.2.1 Genel Yapı 38
2.7.2.2. Glikoprotein Bileşenleri 39
2.7.2.3. Ultrastrüktür ve Gözeneklilik 40
2.7.3. Biyolojik İşlevler 40
2.7.3.1. Oogenez ve Oosit Desteği 40
2.7.3.2. Polispermi Önleme ve Embriyo Koruması 40
2.7.3.3. Fertilizasyon Süreci 41
2.7.3.3.1 İnsan ZP genleri ve kadın fertilitesi: 41
2.7.3.3.2 Blastokist Hatching: 41
2.7.3.3.3. Hatching mekanizması ve hatching başarısızlığı 42
2.7.4. Zona Pellusida Kalınlığını Etkileyen Faktörler 44
3. GEREÇ VE YÖNTEM 45
3.1. ÇALIŞMA TASARIMI 45
3.2. ÇALIŞMA YERI VE ZAMANI 45
3.3. ÇALIŞMA POPÜLASYONU 45
3.4. VERI TOPLAMA 46
3.4.1. Oosit Toplama ve Hazırlık 47
3.4.2. Zona Pellusida Kalınlığı Ölçümü 47
3.4.3. ICSI ve Embriyo Kültürü 48
3.4.4. IVF Başarı Kriterleri 48
3.5. İSTATISTIKSEL ANALIZ 48
4. BULGULAR 50
5. TARTIŞMA 69
5.1. ANA MESAJ VE ÖZET SONUÇ 69
5.2. BULGULARIN ANLAMI VE KLİNİK BAĞLAM 69
5.3. LİTERATÜRLE KARŞILAŞTIRMA 70

5.4. ÇALIŞMANIN GÜÇLÜ YÖNLERİ 73
5.5. ÇALIŞMANIN KISITLI YÖNLERİ 74
5.6. KLİNİK ÇIKARIMLAR 75
5.7. GELECEK ARAŞTIRMALAR İÇİN ÖNERİLER 76
5.8. KAPANIŞ 78
6. SONUÇLAR 79
7. KAYNAKÇA 80

KISALTMALAR

AFC : Antral Folikül Sayısı

AMH : Anti-Müllerian Hormon

ART : Assisted Reproductive Technology (Yardımcı Üreme Teknolojileri)

BMI : Body Mass Index (Vücut Kitle İndeksi)

COS : Controlled Ovarian Stimulation (Kontrollü Over Stimülasyonu)

E2 : Estradiol

ESHRE : European Society of Human Reproduction and Embryology (Avrupa İnsan Üremesi ve Embriyoloji Derneği)

FSH : Follicle Stimulating Hormone (Folikül Stimüle Edici Hormon)

GnRH : Gonadotropin Releasing Hormone (Gonadotropin Salgılatıcı Hormon)

hCG / HCG : Human Chorionic Gonadotropin (İnsan Koryonik Gonadotropini)

ICSI : Intracytoplasmic Sperm Injection (İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu)

IMSI : Intracytoplasmic Morphologically Selected Sperm Injection (Morfolojik Olarak Seçilmiş Sperm ile ICSI)

IVF : In Vitro Fertilization (Tüp Bebek / Laboratuvar Ortamında Döllenme)

LH : Luteinizing Hormone (Luteinize Edici Hormon)

MII : Metafaz II (Olgun Oosit Evresi)

OHSS : Ovarian Hyperstimulation Syndrome (Overyan Hiperstimülasyon Sendromu)

PCOS : Polikistik Over Sendromu

PGT : Preimplantation Genetic Testing (Preimplantasyon Genetik Testi)

r-FSH : Recombinant Follicle Stimulating Hormone (Rekombinant FSH)

SPSS : Statistical Package for the Social Sciences

TSH : Thyroid Stimulating Hormone (Tiroid Stimüle Edici Hormon)

ZP : Zona Pellucida

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Oogenezde rol oynayan genler 8
Tablo 2: İnfertilite etiyolojisi..... 18
Tablo 3: İnfertilite tedavisinde kullanılan ajanlar..... 29
Tablo 4: Hastaların medikal ve sosyodemografik özelliklerinin sıklık ve yüzde değerleri..... 50
Tablo 5: Hastaların medikal ve sosyodemografik özelliklerinin ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum değerleri 54
Tablo 6: 35 yaş altı ve üstü düşük over rezerve sahip hastalar arasında bazı parametrelerin sıklık ve yüzdesinin karşılaştırılması 55
Tablo 7: 35 yaş altı ve üstü düşük over rezerve sahip hastalar arasında bazı parametrelerin ortalama, standart sapma, medyan, minumum ve maksimum değerlerinin karşılaştırılması. 58
Tablo 8: 35 yaş altı düşük over rezerve sahip hastalarda beta-hcg pozitif ve negatif hastaların, gestasyonel kese izlenmeyen ve izlenen hastaların, ilk trimester abort yok ve var hastaların ZP kalınlığı karşılaştırılması.....60
Tablo 9: 35 yaş üstü düşük over rezerve sahip hastalarda beta-hcg pozitif ve negatif hastaların, gestasyonel kese izlenmeyen ve izlenen hastaların, ilk trimester abort yok ve var hastaların ZP kalınlığı karşılaştırılması.....61
Tablo 10: Bütün hastalarda ZP kalınlığı ile amh değeri ve fertilizasyon oranı arasındaki ilişkinin incelenmesi..... 62
Tablo 11: 35 yaş altı grupta zona pellusida kalınlığının AMH değeri ≤0.5 ve >0.5 olan hastalarda karşılaştırılması..... 63
Tablo 12: 35 yaş üstü grupta zona pellusida kalınlığının AMH değeri ≤0.5 ve >0.5 olan hastalarda karşılaştırılması..... 64
Tablo 13: 35 yaş altı düşük over rezerve sahip hastalarda ZP kalınlığı ile gebelik oranlarının karşılaştırılması 65
Tablo 14: 35 yaş üstü düşük over rezerve sahip hastalar arasında bazı parametrelerin sıklık ve yüzdesinin karşılaştırılması 65

Tablo 15: 35 yaş altı düşük over rezerve sahip hastalarda Gestasyonel kese + beta-hCG birlikte pozitif olanlar ile olmayanların ZP kalınlığı karşılaştırılması 66

Tablo 16: 35 yaş üstü düşük over rezerve sahip hastalarda Gestasyonel kese + beta-hCG birlikte pozitif olanlar ile olmayanların ZP kalınlığı karşılaştırılması 67

Tablo 17: 35 yaş altı düşük over rezerve sahip hastalarda ve abort olan hastalarda prekonsepsiyonel hormon düzeyleri (AMH, FSH) ile ZP kalınlığı arasındaki ilişkinin incelenmesi (N=14) 67

Tablo 18: 35 yaş üstü düşük over rezerve sahip hastalarda ve abort olan hastalarda prekonsepsiyonel hormon düzeyleri (AMH, FSH) ile ZP kalınlığı arasındaki ilişkinin incelenmesi (N=25)..... 78

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Overde farklı gelişim evrelerindeki foliküller..... 8
Şekil 2: Hipotalamohipofiziyer aks ve kadın internal genital sistem ilişkisi..... 10
Şekil 3: Mikroskop altında zona pellusida kalınlık ölçümü 46

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, in vitro fertilizasyon (IVF) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) uygulanan 35 yaş altı ve 35 yaş üstü kadınlarda zona pellusida (ZP) kalınlığının karşılaştırılması, yaşa bağlı değişimin belirlenmesi ve bu farklılığın fertilizasyon ve gebelik sonuçlarına etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: 2024–2025 yılları arasında SBÜ Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde yürütülen bu prospektif gözlemsel çalışmaya, düşük over rezervi tanısı almış ve ICSI uygulanan 21–46 yaş aralığındaki 255 kadın dahil edildi. Katılımcılar 35 yaş altı (n=117) ve 35 yaş üstü (n=138) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Oositlerin ZP kalınlığı mikroskop altında üç farklı noktadan ölçüldü. Fertilizasyon oranı, blastosist gelişimi, beta-hCG düzeyleri, klinik gebelik ve abortus oranları kaydedildi. Veriler SPSS 25.0 ile analiz edildi.

Bulgular: Çalışmaya katılanların yaş ortalaması 35,5±5,4 yıl idi. 35 yaş altı grupta beta-hCG pozitifliği (%31,4) 35 yaş üstüne (%14,7) kıyasla anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0,007$). İnfertilite süresi, folikül sayısı, toplanan oosit ve metafaz II oosit sayıları genç grupta ileri yaş grubuna göre anlamlı derecede yüksekti ($p<0,001$). Her iki grup arasında ZP kalınlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

Sonuç: Zona pellusida kalınlığı, yaş grupları arasında anlamlı farklılık göstermemekle birlikte, genç kadınlarda fertilizasyon başarısı ve gebelik oranları daha yüksek bulunmuştur. IVF sonuçlarını öngörmede yaşın ve over rezervinin belirleyici rolü devam etmektedir. Bu bulgular, ileri yaş grubunda tedavi planlamasında kişiselleştirilmiş yaklaşımların önemini vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: In vitro fertilizasyon, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu, zona pellusida kalınlığı, infertilite, düşük over rezervi

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to compare zona pellucida (ZP) thickness in women under and over 35 years of age undergoing in vitro fertilization (IVF) with intracytoplasmic sperm injection (ICSI), to evaluate age-related changes, and to investigate the effect of these differences on fertilization and pregnancy outcomes.

Materials and Methods: This prospective observational study was conducted between 2024 and 2025 at the University of Health Sciences Zeynep Kamil Women and Children's Health Training and Research Hospital. A total of 255 women aged 21–46 years with diminished ovarian reserve who underwent ICSI were included. Participants were divided into two groups: under 35 years (n=117) and over 35 years (n=138). ZP thickness was measured microscopically at three different points for each oocyte. Fertilization rates, blastocyst formation, beta-hCG levels, clinical pregnancy, and abortion rates were recorded. Data were analyzed using SPSS 25.0.

Results: The mean age of participants was 35.5±5.4 years. The rate of beta-hCG positivity was significantly higher in women under 35 years (31.4%) compared to those over 35 years (14.7%) ($p=0.007$). Infertility duration, follicle count, number of retrieved oocytes, and number of metaphase II oocytes were significantly higher in the younger group ($p<0.001$). However, no statistically significant difference was found in ZP thickness between the two groups ($p>0.05$).

Conclusion: Although zona pellucida thickness did not differ significantly between age groups, younger women demonstrated higher fertilization and pregnancy success rates. These findings highlight the continued importance of age and ovarian reserve in predicting IVF outcomes and emphasize the need for individualized treatment approaches in older patients.

Keywords: In vitro fertilization, intracytoplasmic sperm injection, zona pellucida thickness, infertility, diminished ovarian reserve

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnfertilite, dünya genelinde giderek artan bir sıklıkla karşılaşılan ve bireylerin yaşam kalitesini doğrudan etkileyen ciddi bir halk sağlığı sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre, infertiliteye bağlı tedavi arayışında olan birey ve çiftlerin sayısı her geçen yıl artmaktadır. İnfertilite, sadece bireysel değil aynı zamanda sosyal ve ekonomik boyutlarıyla da sağlık sistemlerini zorlayan bir durum haline gelmiştir. Yardımcı üreme teknolojileri (ART) bu bağlamda infertilite ile mücadelede önemli bir rol üstlenmiş; özellikle in vitro fertilizasyon (IVF) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) gibi yöntemler, infertil bireylerin çocuk sahibi olabilmeleri için umut verici çözümler sunmuştur.

Ancak ART uygulamalarındaki başarı oranları, birçok değişkenin etkisi altındadır. Bu değişkenlerden biri olan oosit kalitesi, fertilizasyon ve embriyo gelişimi süreçlerinde kritik bir rol oynamaktadır. Oositin morfolojik yapısının değerlendirilmesinde zona pellusida (ZP) adı verilen glikoprotein tabaka, son yıllarda dikkat çeken bir unsur haline gelmiştir. Zona pellusida, oositin etrafını saran koruyucu bir yapı olup, sperm penetrasyonu, embriyo bütünlüğü ve implantasyon süreçlerinde işlevsel bir rol üstlenmektedir. Literatürde, ZP kalınlığındaki değişikliklerin fertilizasyon oranlarını, embriyo kalitesini ve dolayısıyla klinik gebelik oranlarını etkileyebileceği bildirilmiştir.

Yaş faktörü, ART başarısını etkileyen en önemli parametrelerden biridir. 35 yaş üzeri kadınlarda over rezervinin azalması ile birlikte, oosit verimi ve kalitesinde belirgin düşüşler gözlemlenmektedir. Nitekim, Revelli ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptığı çalışmada, 35 yaş altı kadınların daha düşük AMH seviyelerine rağmen, daha yüksek oosit verimi gösterdiği, buna karşın 35 yaş üzeri kadınlarda oosit veriminin anlamlı derecede düşük olduğu rapor edilmiştir. Bu bulgular, yaşla birlikte değişen over rezervinin yanı sıra, oosit morfolojisinde de farklılıklar olabileceğin düşündürmektedir. Bu noktada, zona pellusida kalınlığının yaşla ilişkili olarak değişip değişmediğinin belirlenmesi önem arz etmektedir.

1.1. ARAŞTIRMANIN AMACI VE HIPOTEZLER

Bu çalışmanın temel amacı, kliniğimizde in vitro fertilizasyon (IVF) uygulanan 35 yaş altı ve 35 yaş üstü kadınlarda zona pellusida kalınlığını karşılaştırmak; bu kalınlığın yaşla birlikte anlamlı bir değişim gösterip göstermediğini ve IVF başarısı üzerindeki etkilerini değerlendirmektir. Zona pellusida kalınlığının klinik gebelik oranlarına olan etkisinin belirlenmesi, IVF alanında daha etkili bir hasta yönetimi sağlanmasına katkı sunabilir.

Bu kapsamda araştırmada şu sorulara yanıt aranacaktır:

1. **35 yaş üzeri kadınlarda zona pellusida kalınlığı, 35 yaş altı kadınlara kıyasla anlamlı bir farklılık göstermekte midir?**
2. **Zona pellusida kalınlığındaki bu farklılık, klinik gebelik oranlarını etkilemekte midir?**
3. **Zona pellusida kalınlığı, IVF başarısını öngörmede kullanılabilecek bir biyobelirteç olabilir mi?**

Bu doğrultuda çalışma kapsamında aşağıdaki hipotezler test edilecektir:

H1: 35 yaş üzerindeki kadınlarda düşük over rezervi olan bireylerde zona pellusida kalınlığı, 35 yaş altındaki kadınlara kıyasla anlamlı bir farklılık göstermektedir ve bu farklılık IVF başarısını etkilemektedir.

H0: 35 yaş üzerindeki kadınlarda düşük over rezervi olan bireyler ile 35 yaş altındaki kadınlar arasında zona pellusida kalınlığı açısından anlamlı bir fark bulunmamaktadır ve zona pellusida kalınlığı IVF başarısını etkilememektedir.

Araştırmadan elde edilecek bulgular, IVF tedavisinde yaşa göre hasta sınıflandırmasında zona pellusida kalınlığının dikkate alınıp alınmaması gerektiği konusunda bilimsel kanıt sağlayacaktır. Aynı zamanda tedavi protokollerinin kişiselleştirilmesinde ve IVF başarı oranlarının artırılmasında zona pellusida kalınlığına dayalı stratejilerin geliştirilmesine katkıda bulunacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. GAMETOGENEZİS

2.1.1. Gametogenezisin Tanımı ve Önemi

Gametogenezis, matür germ hücrelerinin oluşum ve gelişme sürecidir. Bireyin ve türün devamlılığının ayrılmaz bir parçasıdır. Somatik hücrelerin aksine, germ hücreleri bir dizi mitoz ve mayoz bölünmeden geçerek sperm veya yumurta oluşumunu sağlayan bir diferansiyasyon programına tabi olur. Bu iki olgun gamet, fertilizasyon sürecinde birleşerek tüm somatik soyların ve bir sonraki nesil gametlerin türeyeceği totipotent zigotu üretir (1).

2.1.2. Primordial Germ Hücrelerinin Oluşumu ve Göçü

Primordial germ hücreleri 15-20 nm çapında yuvarlak şekilli, eksantrik yerleşimli ince granüler kromatin içerikli nükleusa sahip hücrelerdir. İlk olarak fetal hayatta 2. Haftada epiblastın içinde oluşurlar. 3. Haftanın sonunda yolk kesesi duvarının allantoise yakın kısmında görülür. Üçüncü ve dördüncü haftalar arasında primordial germ hücreleri gelişmekte olan ilkel gonadlara göç ederler. Beşinci altıncı haftalarda bu geçiş tamamlanır (2). Transforme edici büyüme faktörü (TGF) ailesinden olan kemik morfogenetik proteinleri (BMP), sinir büyüme faktörü, Daz 1 a isimli sitoplazmik protein, SPO11 isimli (sporulasyon protein homoloji) mayotik bir protein ve DMC1 primordial hücre oluşumunda rol almakta iken primordial germ hücre proliferasyonunda lösemi inhibitör faktör (LIF) isimli sitokin görev alır (1,3–5).

2.2. OOGENEZİS

2.2.1. Oogoniaların Oluşumu ve Gelişimi

Premayotik germ hücreleri gonadlara ulaştığında oogonia adını alırlar. Gonadlara ulaşamayan primordial germ hücreleri dejenere olur (1,2,6,7). Gonadlara ulaştıklarında fertilizasyona hazırlanmak için kromozom sayılarının azaldığı mayoz bölünme ve hücre olgunlaşması anlamına gelen sitodiferansiyonu içeren gametogenez sürecine girerler. Oogoniuma farklanırlar; bu hücrelerin sayısı 6-8. Haftalarda bir dizi

mitoz bölünme ile hızla artarak 8. Haftada 600.000'e ulaşır (2,7) . Aynı zamanda hücre ölümü de başlar. Çok sayıda oogonium ve primer oosit atreziye uğrar. 16-20. Haftadaki maksimum seviyesinden sonra (6-7milyon) oosit sayısı giderek azalır. Oogonial mitoz bölünme gebeliğin 28. Haftasından sonra görülmez. Oogonia sayısı doğumdan önce 2-3 milyon civarında izlenir, pubertede sayısı 300.000e düşer. Bunların yaklaşık 400 tanesi üreme çağı süresince ovule olma şansına sahiptir (8).

2.2.2. Prenatal Matürasyon Evresi

Oogenezisin prenatal maturasyon evresinde oogoniumların çoğu mitozla bölünmeyi sürdürürken bir kısmı bölünmesini birinci mayoz bölünmenin profaz aşamasında durdurarak ovulasyon zamanına kadar bu şekilde kalırlar. Primer oositler yüzeyel germinal epitelinin proliferasyonu ve invajinasyonu sonucu oluşan, overin yüzeyini kaplayan yassı epitel hücrelerinden köken alan follikül hücreleri olarak bilinen hücreler tarafından sarılırlar. Intrauterin yedinci ayda tüm primer oositler follikül hücreleri ile sarılmış olur, bu yapı primordiyal follikül olarak adlandırılır (1,6,7). Oogoniada mitozun başlayıp granuloza hücreleri ile çevrilip folikül oluşması, oogoniayı atreziden korumaktadır. 28 haftadan sonra overde mayoza girmemiş hücre bulunmaz. Yenidoğan overinde oogonia izlenmemektedir (9).

2.2.3. Primordial Folliküllerin Aktivasyonu

Primordial foliküller dormant fazdan büyümenin başlaması ile primer folikül aşamasına geçerler. Bu farklılaşma bir aktivasyondur, inutero hayatta başlayıp menopoza kadar devam eder. Çapları 0,1mm'ye kadardır. Son yıllarda yapılan transjenik hayvan çalışmaları bize bu geçişin tek bir hormon veya sinyal yolağı ile değil, over içindeki oosit, granuloza hücreleri, teka hücreleri ve stromadan kaynaklanan sinyallerin otokrin ve parakrin etkileşimi ile gerçekleştirğini göstermiştir (10,11). Primordial foliküllerin aktivasyonu ile oosit büyür, yassı granüloza hüreleri küboidal görünüm alırlar (12). Primordial foliküller FSH reseptörü bulundurmadıkları için aktivasyonları FSH bağımsız iken primer folikülde görülen başlıca olay FSH reseptör ekspresyonudur (11,12).

2.2.4. Primordial Folliküllerin Dormant Fazda Tutulması

Yakın bir geçmişte yapılan genetik olarak modifiye edilmiş fare çalışmaları primordiyal folikülleri dormant (sessiz) fazda tutan bazı inhibitör sinyallerin olduğunu göstermiştir. Bu moleküllerin fonksiyon kaybına uğraması primordial folikül aktivasyonuna neden olmaktadır. Tsc-1 (tumor supressor tuberous sclerosis complex1), PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10), Foxo3a, p27 ve Fox12 inhibitör sinyallerden sorumludur. Delesyonları durumunda prematür ve geri dönüşümsüz primordial folikül aktivasyonu oluşarak folikül havuzunun erkenden tükenmesine ve prematür ovaryan yetmezlik gelişmesine neden olur. İnsanda ise sadece Fox12 mutasyonu prematür ovaryan yetmezlik ile ilişkilendirilmiştir (13–15).

2.2.5. Primordialden Primer Folliküle Geçişte Rol Oynayan Faktörler

Primordial folikülden primer folikül gelişimini tetikleyen diğer faktörlerden biri de stem cell factor olarak bilinen ve granuloza hücrelerinde bulunan Kit-liganddır (16).

C-kit protoonkogen reseptörü için ligand olan c-kit ligand granüloza hücrelerinde ve teka hücrelerinde eksprese olmaktadır. Oosit kökenli basit fibroblast büyüme faktörünün granüloza hücrelerindeki kit ligand üretimini arttırdığı ve bu yolla primordial folikülleri aktive ettiği ileri sürülmüştür (17).

Primordial foliküllerin aktive olarak büyümeye başlamasında rol alan sinyallerden diğerleri transforming growth factor beta (TGF-β) ailesinin bazı üyeleridir. Bu durum gonadotropinlerden bağımsızdır. Bone morphogenetic proteinleri BMP-4 ve BMP-7; büyüme farklılaşma faktörü-9un bu olayda rol oynadığı gösterilmiştir (18,19).

Transforming growth factor-beta ailesinin üyelerinden biri olan dimerik yapıdaki anti-mullerian hormon (AMH) büyümekte olan preantral ve antral foliküllerin granuloza hücrelerinden salınmaktadır. Neonatal fare overleri in vitro ortamda AMH ile karşılaştırıldığında büyüyen foliküllerin sayısı neredeyse yarıya düşmüştür. AMH geni olmayan farede primordial foliküllerden primer foliküllerin oluşumunun hızlanması AMHnın primordial primer geçişini inhibe ettiği görüşünü desteklemektedir (20–22). AMH dişi fetüste ilk kez intrauterin hayatın 36. Haftasında

tespit edilmekte olup, pik değerine pubertede ulaşır ve menopoz sonrasında kanda düzeyi ölçülemeyecek seviyelere kadar düşer. İlerleyen yaş ve azalan over rezervi ile birlikte AMH düzeylerinin düşüşü daha fazla folikül büyümesini sağlamaya yöneliktir (23–25). AMH son zamanlarda siklusun gününden bağımsız olarak over rezervinin iyi bir belirteci olarak kabul edilmektedir. Antral folikül sayısı ve artifisyal üreme tekniklerinde elde edilen oosit sayısı ile kan AMH düzeyi korelasyon göstermektedir (26,27).

2.2.6. Primer Follikül Aşaması

Granüloza hücre kompartmanı avasküler olduğundan, oosit ile arasında besleyici maddelerin, iyonların ve düzenleyici moleküllerin aktarımı için küçük köprüleşmeler bulunur. Granüloza hücrelerinin gelişimi oositten köken alan faktörlerden etkilenir. Oosit zona pellusida adında glikoprotein yapılı bir madde salgılar. Zona pellusida oositin etrafını sarar ve granüloza hücrelerini oositten ayırır. Bu yapı primer foliküldür. Zona pellusida fertilizasyon sırasında spermle oositin birbirini tanımasında, spermlerin aktivasyonu için gereken akrozom reaksiyonunun tamamlanmasında, fertilizasyondan sonra başka spermlere karşı blok oluşturulmasında görevlidir. İmplantasyondan hemen önce embriyo yüzeyinden ayrılarak implantasyonu sağlar (28).

2.2.7. Sekonder Follikül Aşaması

Granüloza hücrelerinin mitoz bölünmesi ile tek katlı primer foliküller çok katlı hale gelirler. Bu dönemde oosit çapındaki artma devam eder, oosit çapı yaklaşık 120 mikron çapa ulaşırken; teka hücreleri, granuloza hücrelerini teka hücrelerinden ayıracak bazal lamina görülür ve primer oosit aşamasının sonlarına doğru gelişen zona pellusida yapısı nettir (29). Bu aşama sekonder folikül aşamasıdır. Her granüloza hücresinde yaklaşık 1500 FSH reseptörü bulunmaktadır.

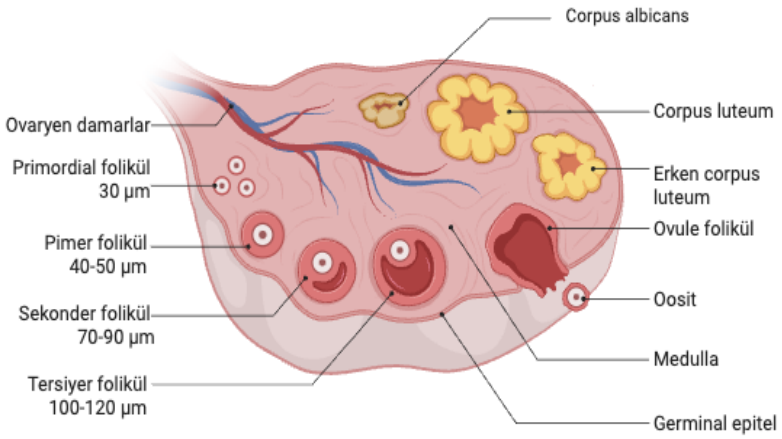
Granüloza hücreleri çok katlı proliferasyona uğrarken, tekal tabaka çevre stromadan organize olmaya devam eder. Bu gonadotropin bağlı bir büyümedir (30).

2.2.8. Tersiyer (Antral) Follikül Aşaması

Foliküller primerden tersiyere doğru geliştikçe FSH ve östrojenin sinerjistik etkisi ile foliküler sıvı artar, granüloza hücreleri arasında boşluklar oluşur ve bu boşluklar birleşerek antrum adı verilen tek kaviteyi oluşturur (7). Bu yapıya tersiyer (antral) folikül adı verilir.

Primordial, primer, sekonder ve antral foliküllerdeki granüloza hücrelerinin birbirlerine N-kadherin aracılığı ile tutundukları belirtilmiştir. Geç luteal fazda hücrelerin N-kadherin ile boyanmalarının zayıfladığı gösterilmiştir. Androjenik ortam varlığında seçilmiş dominant folikül dışındaki diğer foliküllerin dejenere olmasının yanında, dejenerasyon sürecinde N-kadherinin ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. Makrigiannakis ve arkadaşlarının N-kadherin antikorları kullanarak yaptıkları bir çalışmada ajanın granüloza hücrelerinin bağlantılarını bozmasının yanı sıra bu hücrelerde apoptozisi de arttırdığı gösterilmiştir (31).

Folikülün en gelişmiş hali ortada geniş bir antrum, antrumun bir kenarında ortada primer oosit, primer oositi çevreleyen zona pellusida ve etrafındaki granuloza hücreleri tarafından oluşturulmuş korona radiyata hücrelerinden oluşan (kümülüs ooforus kompleksi) 20 mm çapındaki Graaf ismi verilen foliküldür. Ovulasyon aşamasına kadar gelebilen dominant foliküldür. Bu folikülde nispeten daha fazla FSH reseptörü bulunur, atreziye gidecek foliküllere göre daha yüksek konsantrasyonlarda östrojen üretir. Östrojen dominant folikülde FSH etkisini pozitif yönde etkilerken hipotalamo-hipofizier seviyede negatif feedback etkisiyle daha az gelişmiş olan foliküllerden gonadotropin desteğini çeker. Östrojendeki midfoliküler yükseliş LH üzerinde pozitif feedback etki yaratır. Bu ani LH artışı ovulasyonu başlatarak progesteron üretimini uyararak sekretuar (luteal) faza girilmesini sağlar. Mayotik arrestten sorumlu tutulan granüloza hücre kökenli oosit maturasyon inhibitörü (OMI), oosit ile çevresindeki kumulus arasında sıkı bağlantılar oluşturur. Midsiklustaki LH piki ile sıkı bağlantılar parçalanır ve mayoz 1 bölünme kaldığı yerden devam eder. Ovulasyondan sonra korpus luteum oluşur. Teka interna hücreleri teka lutein hücrelerini oluşturur. Ovulasyona kadar gelişemeyen dejenere olan folişküller bağ doku yapısındaki korpus atretikumu oluşturur. Gebelik oluşmadığı durumda korpus luteum geriler ve korpus albicansı oluşturur (1,2,6,7).



Şekil 1: Overde farklı gelişim evrelerindeki foliküller

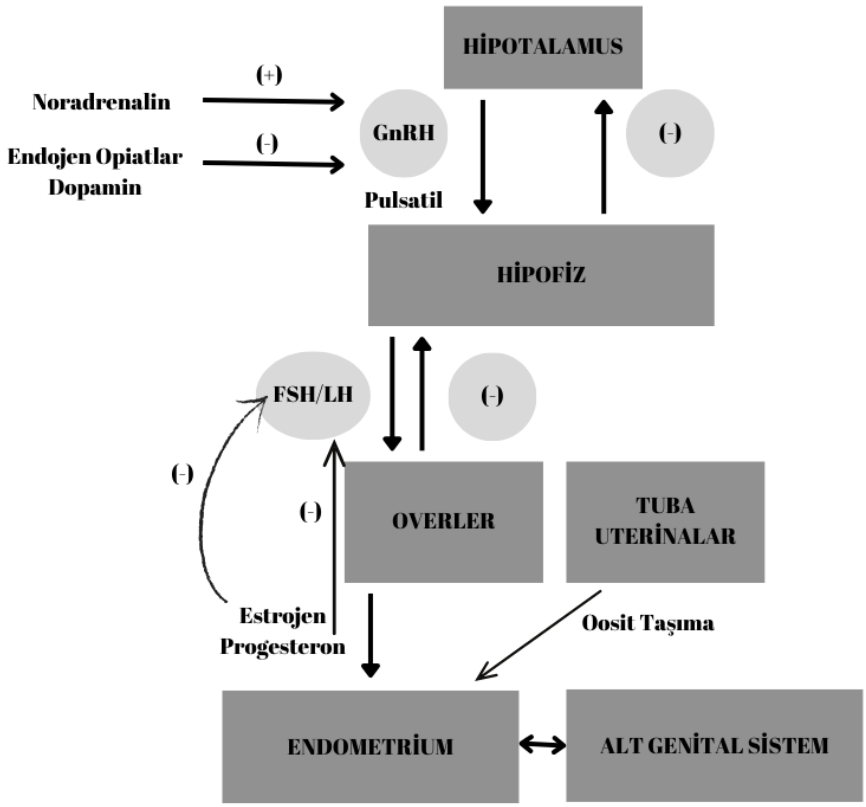
Tablo 1: Oogenezde rol oynayan genler

Gen/Protein	Rolü	Açıklama
Tsc-1	Primordial foliküllerin dorman fazda tutulması	Tsc-1 geninin fonksiyon kaybı, primordial foliküllerin erken aktivasyonuna yol açar. Bu durum, erken folikül havuzunun tükenmesine ve prematür over yetmezliğine neden olabilir.
PTEN	Primordial foliküllerin dorman fazda tutulması	PTEN'in delesi, primordial foliküllerin erken aktivasyonuna neden olur. Prematür ovaryan yetmezlik ile ilişkilidir.
Foxo3a	Primordial foliküllerin dorman fazda tutulması	Foxo3a inhibitör geninin fonksiyon kaybı, primordial foliküllerin erken aktivasyonuna neden olur ve prematür ovaryan yetmezlik ile ilişkilidir.
p27	Primordial foliküllerin dorman fazda tutulması	p27'nin fonksiyon kaybı, primordial foliküllerin erken aktivasyonunu tetikler.
Foxl2	Primordial foliküllerin gelişiminde rol	Foxl2'nin, folikül gelişimi ve oogenezin düzenlenmesinde önemli bir rolü vardır.
C-kit ve Kit-ligand	Primordial foliküllerin aktivasyonu	C-kit reseptörü ve Kit-ligand, granüloza hücrelerinde eksprese olur ve oosit kökenli faktörler aracılığıyla primordial foliküllerin aktivasyonunu sağlar.
AMH	Primordial foliküllerin geçişini inhibe etme	AMH, primordial foliküllerden primer foliküllere geçişi inhibe eder. AMH'nin seviyeleri, over rezervini ve folikül gelişimini belirler.
BMP-4 ve BMP-7	Primordial foliküllerin aktivasyonu	Bone morphogenetic proteinleri (BMP-4 ve BMP-7), primordial foliküllerin aktivasyonunda ve büyümesinde rol oynar. Gonadotropinlerden bağımsız olarak çalışır.

TGF-β ailesi	Primordial foliküllerin aktivasyonu	Transforming growth factor beta (TGF-β) ailesinin üyeleri, primordial foliküllerin büyümesini teşvik eder.
N-kadherin	Granüloza hücrelerinin bağlantısını sağlayarak folikül gelişimi	N-kadherin, granüloza hücrelerinin birbirlerine tutunmasını sağlar. Androjenik ortamda bu bağlantıların kaybolması ve folikül dejenerasyonunu tetikler.
Oosit Maturasyon İnhibitörü (OMI)	Oositin mayotik duraklamasını sağlar	Granüloza hücrelerinden köken alan oosit maturasyon inhibitörü (OMI), oositin mayotik bölünmesinin duraklamasını sağlayarak oositin ovulasyon için hazır hale gelmesini engeller.

2.3. KADIN ÜREME DÖNGÜSÜNDE ROL OYNAYAN ORGANLAR VE HORMONLAR

Hipotalamus, hipofiz, overler, tuba uterinalar, endometrium ve alt genital sistem kadın üreme döngüsünde görev alan yapılardır. Hipotalamusun arkuat çekirdeğinde sentezlenen gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) etkisi ile ön hipofiz bezinden folikül stimülan hormon (FSH) ve lutelinizan hormon (LH) isminde iki önemli gonadotropin salgılanır (32). FSH overdeki foliküllerin gelişimini ve bu foliküllerden estrojen salgılanmasını uyarırken, LH ise FSH etkisi ile gelişmiş folikülden ovülasyonu tetikler ve ovülasyon sonrası geride kalan korpus luteumdan progesteron salınımını uyarır. Overlerin bu hipofizer hormonlar ile stimülasyonu sonucunda salgılanan estrojen ve progesteron endometriyumu yaklaşmakta olan blastokistin implantasyonu için hazırlayacaktır (33).



Şekil 2: Hipotalamohipofiziyer aks ve kadın internal genital sistem ilişkisi

2.3.1. Folikül Gelişimi ve Ovulasyon

Her siklusta FSH etkisi ile uyarılan yaklaşık 15-20 primer folikülden (preantral follikül) sadece bir tanesi tam olgunluğa erişip dominant folikül olacakken diğerleri dejenere olup atrezik folikül durumuna gelecektir. Primer folikülü takiben gelişen sekonder folikül, granüloza hücreleri arasında oluşan sıvı dolu boşlukların birleşerek meydana getirdiği antrumu barındırır (34). Zona pellusida ile sarılı primer oosit etrafında folikül hücreleri çoğalarak çok katlı bir tabaka oluşturur. Oluşan çok katlı hücre tabakasındaki hücreler artık granüloza hücresi ismini alır. Granüloza hücrelerine komşu stromal yapıdan teka tabakası gelişir. Ardından teka tabakası içte vasküler yapılardan zengin teka interna ve dışta teka eksterna olarak iki ayrı tabaka halinde görülür. FSH etkisi ile prolifere olan granüloza hücreleri primer oositin etrafını sararak kumulus ooforus adındaki hücre kitlesini oluşturur (35). Ovule olacak olgun foliküle Graaf folikül adı verilir.

2.3.2. Hormonal Regülasyon ve Ovulasyon Mekanizması

Endometrium proliferasyonu ve LH pikinin oluşmasında temel rolü oynayan estrojen hormonunun esas kaynağı teka tabakasında üretilen androjenlerin, granüloza hücrelerinde estrojene dönüşümüdür. Ayrıca az miktarda estrojen, overin stromal sekretuar hücrelerinde ve teka interna hücrelerinde de üretilir (36). Büyümekte olan folikül FSH etkisiyle daha yüksek miktarlarda estrojen salgılar. Serum seviyesi artmakta olan estrojen, menstrüel siklus sonunda artan estrojenin LH üzerindeki negatif geri bildirim etkisinden farklı olarak, ilk önce pozitif geri bildirim etkisi ile LH salınımını uyarır. LH ovulasyon ve ovulasyondan sonra oluşan korpus luteumdan progesteron salgılanmasında kilit rol oynar. LH ve progesteron etkisiyle proteolitik enzimler aktive olur, folikül duvarındaki kollajen yıkılır. LH pikinden yaklaşık 10-12 saat sonra ovulasyon meydana gelir. LH bu etkilerini granüloza hücrelerinde G-protein üzerinden adenilat siklazı aktive ederek gerçekleştirir (37). Adenilat siklaz aktivasyonu sonucunda cAMP artar. Granüloza hücrelerinde artan cAMP, gap junctionlar aracılığı ile oosit içine de girer. Artan cAMP, oositte bulunan mitojen aktive edici protein kinazı (MAPK) aktive eder. Mayoz bölünmede ilerleme başlar (38,39). Midsiklusta salınan LH etkisi ile granüloza hücreleri ve oosit arasındaki gap junctionlar azalır. cAMP'nin oosit içine girişi engellenmiş olur (38,40). cAMP mayoz bölünmenin tekrar ilerlemesini önleyen bir faktördür. Fosfodiesteraz'lar (PDE) cAMP yıkımı yaparak inhibisyonun ortadan kalkmasını sağlar ve mayoz bölünme ilerlemesine katkıda bulunur. Eş zamanlı olarak granüloza hücrelerindeki cGMP artışı MAPK'ı inaktive ederek immatür ovulasyonun önüne geçer (38,39,41).

2.3.3. Ovulasyon Sonrası Süreçler

Ovulasyon ile atılan oosit, metafaz 2 aşamasında durmuş olan sekonder oosittir (2,7). Zona pellusida ile sarılı sekonder oosit ve oositi çevreleyen granulosa hücreleri kumulus ooforus kompleksi olarak isimlendirilir. Ovulasyon esnasında kumulus ooforus kompleksi ve bir miktar folikül sıvısı batın boşluğuna atılır. Sonrasında tuba uterinaya ait fimbria adı verilen yapılar kumulus ooforus kompleksini yakalar ve tuba uterinaya iletilir (32,34–36). Folikül duvarında arta kalan granüloza hücreleri ve teka interna hücrelerinden korpus luteumu oluşturur. Korpus luteumdan LH etkisi ile progesteron salgılanır. Üretilen progesteronun etkisi

ile endometrium sekretuar faza girer, sekretuar endometrium prostaglandin ve sitokinler gibi vazoaktif maddeleri salgılar. Endometium blastokist implantasyonuna hazır hale getirilir. Fertilizasyon ile birlikte metafaz 2'de duraklamış olan mayoz 2 tamamlanır. Aynı zamanda implantasyon sonrasında trofoblastlardan salgılanan insan koryonik gonadotropini (hCG) etkisi ile korpus luteum gebelik korpus luteumu haline gelir ve progesteron üretimi artar. hCG, korpus luteumun devamlılığını sağlar. Gebeliğin ilk trimesterinde başlıca hCG kaynağı korpus luteum iken, ilk trimester sonrasında başlıca üretim yeri plasental trofoblastlardır ve 4. aydan sonra gebeliğin devamına yetecek miktarda progesteron plasentadan salgılanır. Fertilizasyon gerçekleşmez ise metafaz 2de duraklayan oosit ve progesteron etkisi ile oluşan korpus luteum dejenere olur, overde geride fibrotik skar dokusu olan korpus albikans kalır (7,32,34,36).

2.4. FERTILIZASYON VE İMPLANTASYON

2.4.1. Fertilizasyonun Tanımı ve Süreci

İnsan üremesinin sorunsuz bir şekilde gerçekleşmesi için gametogenezis, folikülogenezis, ovülasyon, fertilizasyon ve implantasyon süreçlerinin muazzam bir düzende olması gerekir. Erkek gamet spermin, dişi gamet oosit ile birleşmesi fertilizasyon olarak adlandırılır (32). Bu süreç sonunda kromozomların yarısı anneden yarısı babadan gelen özgün bir genetik yapıda zigot oluşur (42).

2.4.2. Sperm ve Oosit Etkileşimi

Tubal fimbrialar ovulasyon ile atılan sekonder oositi yakalar. Tubanın ritmik kontraksiyonlarıyla oluşan peristaltik hareketlerle ampullaya taşınan sekonder oosit, burada yaklaşık 12 saat içerisinde kendisini fertilize edecek sperm ile bir araya gelmek zorundadır (32,35). Semen ejekülasyon ile posterior vajinal fornikse bırakılır. Semen spermatoza, vesikuloseminalis kaynaklı fruktoz, prostat kaynaklı asit fosfataz ve bulboüretral glandlardan gelen sekresyonlar içerir (43). Spermin oositi fertilize edebilmesi için geçirmesi gereken aşamalar sırası ile; motilite kazanma, kapasitasyon, akrozom reaksiyonu, zona pellusidaya penetrasyon, oolemmaya bağlanma ve hücre membran füzyonudur. Epididimiste bir miktar motilite

kazanmalarına rağmen tam motilite kapasitasyon işleminden sonra kazanılır. Kapasitasyon yokluğunda spermler oositi fertilize edemezler (43,44). Kapasitasyon, siklik adenozin monofosfat (CAMP), protein kinaz A (PKA), reseptör ve non-reseptör tirozin kinaz ile ilişkili hücre içi sinyal yolağı ile düzenlenir ve kalsiyum iyonu kapasitasyon için esansiyeldir. Overler, tuba ve uterusta düşük molekül ağırlıklı motilite faktörü bulunur. Bu faktör sperm içerisindeki adenozin trifosfatı (ATP) azaltarak, cAMP seviyesini arttırarak sperm metabolizmasını ve motilitesini uyarır (44,45).

2.4.3. Fertilizasyonun Moleküler Mekanizmaları

Fertilizasyon tuba uterinanın ampullasında gerçekleşir. Fertilizasyon sahasına ulaşmış spermlerin bir tanesi tarafından akrozomda üretilen hyaluronidaz enzimi ve kuyruk hareketlerinin yarattığı mekanik güç ile oositin korona radiatası aşılır. Sperm zona pellusidaya ulaşır. Sonrasında spermin zona pellusida ile etkileşimi başlar ve zona pellusidayı penetre eder. Zona pellusida, oositi ve gelişmekte olan embriyoyu koruyan glikoprotein tabakadır. Zona pellusida 4 glikoprotein içerir; ZP-1, ZP-2, ZP-3 ve ZP-4 (46). Zona pellusidanın en önemli glikoproteini olan ZP-3 kapasite olmuş spermatazoanın reseptörlerini bağlar ve akrozom reaksiyonuna yol açan olaylar dizisini başlatır (47). ZP-3 için spermdeki reseptör kompleksinin 1,4 galaktoziltransferaz-1 (GalT-1) olduğu düşünülmektedir, GalT-1 ile bağlanma akrozom reaksiyonunu tetikler. Akrozom reaksiyonu sonrası sperm ZP-3'e afinitesini kaybederken ZP-2 spermi zonaya bağlar (48). Akrozom reaksiyonu, fertilizasyon sürecinin kritik bir aşaması olup, spermatozoanın oositin zona pellusidasını geçebilmesi için gerçekleştirdiği bir olaydır. Sperm plazma membranının geçirgenliği değişir. Bir çok iyonun hücre içi konsantrasyonunda değişim izlenir. Fosfolipaz C (PLC) tarafından üretilen inositol 1,4,5-trifosfat (IP3) akrozomdaki reseptörlere bağlanır, depolanmış kalsiyum salınır (49). Akrozom granülleri kırılır ve lizinler salınır, böylece zona pellusida dar bir bölgede incelir. Enzimatik hidroliz ve sperm hücresinin itici gücü sayesinde zona pellusida tabakası aşılır (43,50). Sperm ve oositin membranlarının füzyonu gerçekleşir. Sperm nükleusu kondenzasyonunu kaybeder ve pronükleus oluşturur. Erkek ve dişi pronükleusları oosit merkezine göç eder (51).

2.4.4. Kortikal Reaksiyon ve Polispermiyi Önleme

Spermin başı ve kuyruğu oosit sitoplazmasına girerken, plazma zarı geride ,oosit yüzeyinde kalır (52). Spermin oosite girmesini takiben kortikal granüller oosit plazma membranı ile birleşirler ve içeriklerini eksositoz ile perivitellin boşluğa bırakırlar. Bu olay oosit aktivasyonunun ilk morfolojik bulgusu olan kortikal reaksiyondur. Kortikal reaksiyon, zona reaksiyonuna neden olur. Oosit membranının diğer spermatazoalara geçirgen olmayacak şekilde farklılaşmasına zona reaksiyonu denir. Zona reaksiyonu sayesinde polispermiyi engellenmiş olur. Bu olaylar neticesinde zona yüzeyindeki spermler için türe spesifik reseptör alanları inaktif hale gelir. Zona pellusida embriyo için koruyucu bir tabaka görevi üstlenir ve embriyoyu mikrobiyal invazyonlardan korur. Sonraki günlerde blastomerleri sıkı temas halinde tutar. Embriyo bu koruyucu tabakadan implantasyondan hemen önce çıkacaktır (46).

2.4.5. Oosit Aktivasyonu ve Zigot Oluşumu

Sperm kapasitasyonu ile eş zamanlı olarak oositin intraselüler kalsiyum iyonunun hızlı artışı ile oosit membran potansiyeli değişir. İkinci mayoz bölünmenin metafazında duraklamış olan sekonder oosit, fertilizasyon ile birlikte önce anafaza sonra telofaza ilerler ve bölünmesini tamamlayarak her ikisi de maternal DNA'nın yarısını içeren olgun bir oosit ve ikinci polar cisimciği oluşturur (53). Fertilizasyon sonucunda bir oosit ve bir spermatozoa birleşerek tek hücreli zigotu oluşturur. Spermden gelen paternal genomda, kompakt kromatin yapısını oluşturan protamin çıkarılır ve nükleozomları oluşturmak için maternal olarak sağlanan histonlarla değiştirilir. Paternal ve maternal genomlar, nükleus membranı ile sınırlı olmayan iki ayrı pronükleus (22Y/22X) oluşturur. Pronükleusların büyümesi sırasında DNA replike olarak haploid sayıda iki adet kromatid oluşturur. Mikrotübüller sentriolden yıldızvari uzantılar oluşturarak sperm pronükleusunun oosit merkezine göçünü sağlarlar. Erkek ve dişi pronükleuslar oosit merkezinde temas ederler. 23 çift maternal ve 23 çift paternal kromozom sentromerde longitudinal olarak dizilirler ve kromatidler farklı kutuplara doğru çekilirler. Diploid kromozom sayısına ulaşan embriyonun cinsiyeti paternal cinsiyet kromozomuna göre belirlenir. Genetik yapı yarısı anneden ve yarısı babadan gelen kromozomlar ile eşsiz bir hal alır.

Bu aşamadan sonra zigot mitoz bölünmeye devam eder. Bu aşama hücre yarıklanması (klivaj) olarak isimlendirilir (54).

2.4.6. Erken Embriyonik Gelişim

Zigotta fertilizasyondan yaklaşık 30 saat sonra mitoz bölünmeler başlar. Her bir bölünmede blastomer adı verilen hücreler oluşur. Bölünme zigotun sitoplazmik hacminin giderek azalmasıyla hücrelerin standart boyutunu geri getiren blastomerlerin üretimiyle sonuçlanır. Zigot önce ikiye bölünür. Oluşan her bir hücre mitoz bölünmeler ile yaklaşık 40 saatte önce dörde, sonra sekize bölünür. Fertilizasyondan yaklaşık 3 gün sonra embriyo 12-16 hücre evresine erişmiş olur (55). Bölünme sırasında hücre sayısındaki hızlı artışa rağmen, hücrelerin sıkışması nedeniyle konseptus aynı boyut ve formda kalır (56).

2.4.7. Morula ve Blastosist Oluşumu

Morula fertilizasyondan yaklaşık dört gün sonra oluşur. Zona pellusida ile çevrilidir. 16 ila 32 hücreli bir kütle olarak görünür. Blastula oluşumundan önce gelen, blastosel boşluğu adı verilen sıvı dolu bir boşluğun oluşmasından önceki son aşamadır. Son zamanlarda yapılan mikroskopik gözlemlerde, kromozomal olarak anormal blastomerlerin embriyo tarafından algılanıp elimine edildiğinin izlenmesi, kompaksiyonun embriyonun devamlılığı için önemli bir kontrol noktasını temsil edebileceğini göstermektedir. Kompaksiyon kritiktir çünkü iç ve dış hücre kütlesi arasındaki anatomik farklılıkları belirler. Morulanın merkezinde bulunan hücre grubu, iç hücre kütlesini ve embriyoyu oluşturacaktır. Çevrede bulunan dış hücre kütlesi, morulanın blastosiste dönüşürken meydana gelen kavitasyonunda kritik öneme sahiptir (56).

Fertilizasyondan yaklaşık beş gün sonra embriyo 50-150 hücreye ulaşır. Zona pellusida sınırlarında gerilme başlar. Bu aşama blastosist aşaması olarak adlandırılır. Zona pellusidadaki gerilimin nedeni hücre bölünmesi ve dış hücre kütlesi tarafından oluşturulan blastosel boşluğunun blastosistin iç boşluğuna doğru aktif olarak sıvı üretimi olmasıdır. Bu boşluğun sıvı ile dolması blastosisti genişletir. Genişlemenin amacı blastosistin zona pellusidadan çıkmasını sağlamak için zona pellusidayı inceltmek ve sonunda yırtmaktır.

Boşluğa giren büyük miktarda sıvı bir grup hücreyi iç kısmın bir tarafına kaydırır. Bu hücresel kütle, blastosist içindeki iç hücre kütlesi (ICM) olarak adlandırılan, sınırsız gelişim potansiyeline sahip bir grup embriyonik kök hücredir. ICM, gerçek fetal hücreleri oluşturacak hücrelere sahiptir. ICM'yi çevreleyen ve zona pellusidanın iç tarafını kaplayan diğer hücreler, plasentanın fetal kısmını oluşturan trofoektoderm hücreleridir. Bu nedenle başarılı blastosist oluşumunun ayırt edici özellikleri sıvı dolu blastosel, ICM ve tamamen farklılaşmış trofoektodermden türetilen trofoblasttır (57).

2.4.8. İmplantasyon Süreci

Zigotun blastokist evresinde uterus kavitesine ulaşıp ve endometriyum lüminal epiteli ile karşı karşıya gelmesi, adheze olması ve desidualize endometriyum stromasını invaze ederek maternal vasküler sisteme ulaşarak yerleşmesi süreci ise implantasyon olarak adlandırılır (42).

2.4.9. İmplantasyon Mekanizması

İmplantasyon, blastosistin uterusun endometriumuna gömülmesi sürecidir ve bu genellikle gelişimin 2. haftasında gerçekleşir. İmplantasyonun gerçekleşmesi için, konseptus uterus boşluğuna girdiğinde blastosistin zona pellusidadan tamamen çıkması gerekir. Zona pellusidanın erken kaybolması tubal gebeliklere yol açabilir. Genellikle insan blastosisti, uterusun ön veya arka duvarı boyunca fundus yakınındaki endometriuma implante olur (58,59). Uterus desidualizasyonu ile implantasyon için embriyoya uygun ortam sağlanmış olur. Yüksek estrojen ve progesteron seviyelerinin neden olduğu endometrial arterlerde ve glanlarda yoğunlaşma, kıvrılma uterusun sekretuar fazı olarak nitelendirilir. Bu faz implantasyon için en uygun koşulların olduğu fazdır (60). Erken implantasyon, blastosistin hücre adezyon faktörleri ve hücre sinyalizasyonu yoluyla uterus duvarına yaklaşmasıyla başlar. Blastosist, ICM ile birlikte endometriuma yerleşmek için yönlenir. İmplantasyondan hemen önce, dış trofoblast hücreleri, gelişimin 2. haftasına kadar implantasyonun tamamlanmasına izin vermek için farklılaşmaya başlar (56).

2.5. İNFERTILITE

2.5.1. İnfertilitenin Tanımı ve Epidemiyolojisi

İnfertilite, 12 ay veya daha uzun süren düzenli, korunmasız cinsel ilişkiden sonra gebelik elde edilememesi veya 35 yaşından büyük kadınlarda 6 ay içinde gebeliğin elde edilememesi olarak tanımlanır. İnfertilite, işlev bozukluğuna yol açan bir üreme sistemi hastalığıdır. İnfertilite global bir sorun olarak kabul edilir ve dünya çapında üreme çağındaki çiftlerin %8 ila %12'sini etkiler. ABD'de çiftlerin %15'ini ve Türkiye'de çiftlerin %10-20'sini etkilediği belirtilmektedir (61,62).

1990'dan 2010'a kadar 190 ülkede gerçekleştirilen infertilite oranları üzerine bir çalışma, 48,5 milyon infertil çiftin olduğunu ortaya koydu; bunlardan 19,2 milyonu primer infertil iken, 29,3 milyonu sekonder infertildi. Araştırma sonuçları, gelişmiş ülkelerdeki çiftlerin daha sık primer infertiliteden muzdarip olduğunu, gelişmekte olan ülkelerde ise sekonder infertilitenin daha yaygın olduğunu gösterdi (63).

2.5.2. İnfertilitenin Nedenleri

İnfertilitenin yaklaşık %85'inin tanımlanabilir bir nedeni vardır. İnfertil çiftlerde en yaygın görülen sorunlar ovulasyon bozukluğu, erkek faktörü ve tubal patolojilerdir. İnfertil çiftlerin kalan %15'i diğer nedenler dışlandıktan sonra "açıklanamayan infertilite" tanısı alır. Sigara kullanımı ve obezite gibi yaşam tarzı ile ilişkili faktörler ve çevresel faktörler fertiliteyi olumsuz etkileyebilir. Ovulasyon bozuklukları infertilite nedenlerinin yaklaşık %25'ini oluşturur; anovülasyonu olan kadınların %70'inde polikistik over sendromu vardır. İnfertilite ayrıca infertilite ile ilişkili altta yatan kronik bir hastalığın da belirteci olabilir. Klomifen sitrat (selektif estrojen reseptör modülatörü), letrozol (bir aromataz inhibitörü) ve gonadotropinler, in vitro fertilizasyon (IVF) döngülerinde ovulasyonu indüklemek veya kontrollü over stimülasyonu amacıyla kullanılır. Anovülasyon ile gelen bireyler için, zamanlanmış cinsel ilişki ile ovülasyon indüksiyonu genellikle uygun ilk tedavi seçeneğidir. Açıklanamayan infertilite, endometriozis veya hafif erkek faktörlü infertilitesi olan çiftler için, başlangıçta 3 ila 4 over stimülasyon döngüsü uygulanabilir; bu

yaklaşımlar gebelikle sonuçlanmazsa IVF düşünülmelidir. Kadınların fertilitesi yaşla birlikte azaldığından, bu faktör karar vermede yol gösterici olmalıdır. 38 ila 40 yaşından büyük kadınlarda acil IVF birinci basamak tedavi stratejisi olarak düşünülebilir. IVF ayrıca şiddetli erkek faktörlü infertilite veya tedavi edilmemiş bilateral tubal faktör vakalarında da endikedir (64).

15 ila 49 yaş arasındaki her 8 kadından yaklaşık 1'i yardımcı üreme tekniklerine başvurmaktadır. Başarı oranları yaşa ve tanıya göre değişse de, doğru tanı ve etkili tedavi, paylaşılan karar alma ile birlikte infertilite nedeniyle tedavi gören birçok çiftte fertilite hedeflerine ulaşılmasını kolaylaştırabilir (64).

Tablo 2: İnfertilite etiyolojisi.

İnfertilite Nedeni	Yüzde (%)
Ovulasyon bozukluğu	25–30
Erkek faktörü	20–30
Tubal faktör (ör. PID, endometriozis)	15–20
Açıklanamayan infertilite	20–30
Endometriozis	5–10
Kombine faktör (erkek ve kadın)	5–10

Kaynak: Rani et al., *Prevalence and distribution of causes of infertility according to women's age – a cross-sectional study in a tertiary healthcare hospital setup*, 2021. [PubMed ID: 34187113].

2.5.2.1. Ovulatuar Disfonksiyon ve Anovülasyon

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, ovulasyon bozuklukları infertilite teşhislerinin yaklaşık %25'ini oluşturur. Menstruasyon döngüleri düzensiz olduğunda, 21 günden kısa veya 35 günden uzun döngülerde (çoğu kadında döngü uzunluğu >25 gündür) veya hasta anormal uterin kanama veya amenore bildirdiğinde anovülasyondan şüphelenilmelidir (65). Ovulasyon tipik olarak menstruasyon kanamasının başlangıcından 14 gün önce gerçekleşir. Menstruasyon öyküsü belirsiz veya yetersiz olduğunda, ovulasyon beklenen kanamadan yaklaşık 1 hafta önce beklenen mid-luteal fazda elde edilen postovulatuar serum progesteron düzeyi ile belgelenebilir. Progesteron düzeyi <3ng/ml ise ovulasyon yok, >3ng/ml izlenir ise ovulasyon var kabul edilir. Anovülasyonun en yaygın nedeni, anovülasyonu olan kadınların %70'ini etkileyen polikistik over sendromudur (PCOS) (66). Obezitenin kendisi

PCOS dışında anovülasyonla ilişkilidir; vücut kitle indeksi (VKİ, kilogram cinsinden ağırlığın metre cinsinden boyun karesine bölünmesiyle hesaplanır) 27'den büyük olan kadınlar, normal aralıkta VKİ'si olan kadınlara kıyasla anovulatuar infertilite açısından daha yüksek riske sahiptir (göreceli risk, 3,1 [95% CI, 2,2-4,4]; Amerikan Üreme Tıbbı Derneği kılavuzunda mutlak oranlar verilmemiştir) (67). Diğer nedenler arasında tiroid hastalığı (%2-3), hipofiz hastalığı (örn. prolaktinoma, %13), adrenal hiperplazi veya adrenal tümöründen kaynaklanan yükselmiş androjenler (%2), idiyopatik kronik anovülasyon (%7-8) ve fonksiyonel hipotalamik amenore (örn. düşük kilo, yeme bozuklukları ve aşırı egzersiz nedeniyle) yer alır. Yeme bozukluğu olan hastalarda, yeme bozukluğu olmayan kadınlara göre daha sık anovulatuar infertilite görülür (%16,2'ye karşı %5,6; n = 271) (68).

2.5.2.2. Tubal Faktör

İnfertilitede tubal faktör, herhangi bir nedenden dolayı fallop tüplerinin oklüzyonu veya pelvik adezyonlar nedeniyle tubaların overden oosit alamaması olarak tanımlanır. İncelenen popülasyona bağlı olarak infertilite teşhislerinin %11 ila %67'sini oluşturur. Cinsel yolla bulaşan enfeksiyon (tubal defektlerin en yaygın nedeni), servikal displazi, abdominal cerrahi veya daha önce intraabdominal enfeksiyon öyküsü olan kadınlarda tubal infertiliteden şüphelenilmelidir (68–70).

Tubal anormalliklerin şiddeti en etkili tedaviyi belirlemeye yardımcı olur. Radyoopak boyanın (yağda veya suda çözünür) servikal ostan uterus kavitesine enjekte edildiği ve floroskopi ile fallop tüplerinden takip edildiği bir işlem olan histerosalpingografi (HSG), sırasıyla %65 ve %83'lük bir duyarlılığa ve özgüllüğe sahiptir (71). Tubal faktörlü infertilite için birinci basamak tanı aracıdır. Son zamanlarda yapılan sistematik bir inceleme ve 6 RCT'nin meta-analizleri, yağda çözünen kontrast madde (OSCM) kullanımının, suda çözünen kontrast madde (WSCM) ile karşılaştırıldığında HSG'den sonra önemli ölçüde daha yüksek gebelik oranlarıyla (12 haftalık gebelikten sonra ultrasonografik muayenede pozitif fetal kalp atışı olarak tanımlanır) ilişkili olduğunu belirlemiştir (yağ kontrastı için oranlar %32,1 iken su kontrastı için %23,6 idi). OSCM veya WSCM ile HSG'ye rastgele atanan 1119 kadından oluşan bir çalışmada, OSCM grubunda 379 devam eden gebelik, WSCM grubunda ise 326 devam eden gebelik gözlemlenmiştir (olasılık

oranı, 1,47 [95% CI, 1,12-1,93]). Yağ kontrastının doğurganlığı nasıl artırabileceğine dair altta yatan mekanizmalar belirsizdir (72). Sonohisterografi işlemi fallop tüplerindeki kontrast maddenin uterin kaviteye geçişinin ultrasonografi eşliğinde değerlendirildiği; sırasıyla %76 ve %67'lik bir duyarlılık ve özgüllükle tubal açıklığı değerlendiren bir görüntüleme aracıdır (73). İndigo karminin transservikal olarak uterusa yerleştirildiği ve laparoskopik görüntüleme ile tubal geçişin doğrudan değerlendirildiği kromopertubasyon, tubal oklüzyonun değerlendirilmesinde altın standart olarak kabul edilir (64).

Bilateral tüp açıklığı olan infertilite hastalarıyla karşılaştırıldığında, tek taraflı proksimal tubal oklüzyonu olanlarda over stimülasyonu sonrası intrauterin inseminasyonla benzer gebelik oranları vardır (74). Ancak, iki taraflı tubal oklüzyon varsa, tüp açıklığını geri kazandırmak için cerrahi müdahale ve IVF düşünülebilir. Tubal infertilite için cerrahi müdahale ile IVF'yi karşılaştıran yüksek kaliteli RCT'ler bulunmamaktadır. Tuba cerrahisi veya IVF seçimi, kadının yaşı, infertilite süresi ve diğer teşhislerin varlığı (erkek faktörü gibi), önceki gebelik başarısı ve istenen gebelik sayısı, tubal patolojinin derecesi ve finansal kaynaklara göre yapılmalıdır. Örneğin, 35 yaşından küçük, başka infertilite faktörü olmayan ve birden fazla çocuk isteyen bir kadın, özellikle IVF'yi destekleyecek finansal kaynaklara sahip değilse, tuba cerrahisini tercih edebilir. Laparoskopik tüp ligasyonu veya salpenjektomi, hidrosalpinkse (genellikle fallop tüplerini içeren uzun süreli tedavi edilmemiş bir enfeksiyondan kaynaklanan sıvı dolu fallop tüpleri) sahip kadınlarda IVF'den önce düşünülmelidir. Bu yaklaşım klinik gebelik oranını artırır (cerrahi tedavi grubunda 1000 hastada 396 klinik gebelik, cerrahi olmayan grupta 1000 hastada 123 klinik gebelik; risk oranı, 3,21 [95% CI, 1,72–5,99]; 2 RCT) (75).

2.5.2.3. Endometriozis

Endometriozis, endometrial dokunun uterus boşluğunun dışında bulunmasıdır ve infertil kadınların %25 ila %40'ını etkiler. Fallop tüplerini oklüze eden veya tubal açıklığı bozan adezyonların varlığı veya spesifik yerlerdeki over kitleleri gibi anatomik bozukluklar, tubal açıklığı, oosit kalitesini ve oositlerin tubal fimbria ile toplanmasını bozabilir (76). Endometriozisin endometrial reseptiviteyi etkileyip etkilemediği konusunda veriler çelişkilidir. Endometriozis için

laparoskopik cerrahi kendiliğinden gebelik oranlarını iyileştirse de endometriozis semptomları olmayan kadınlarda rutin fertilite değerlendirmesinin bir parçası olarak önerilmemektedir (77).

2.5.2.4. Azalmış Over Rezervi

Over rezervi, ovulasyona uygun olan ve pre-antral ve antral evrelere geçebilecek primordial foliküller ile foliküllerin miktarını ifade eder. Kadınlarda, üreme yılları boyunca azalan ve sonunda kötü üreme sonuçlarına yol açan doğuştan ve sınırlı sayıda over folikülü bulunur. Over foliküllerinin büyümesi, kadın üremesinin temelini oluşturur ve granüloza hücrelerinin çoğalması, normal foliküler gelişimin sağlanması için gerekli temel bir süreçtir (78). Klinisyenler, folikül uyarıcı hormon (FSH), luteinizan hormon (LH), östradiol (E2), inhibin B ve antimüllerian hormon (AMH) gibi biyokimyasal testler ile antral folikül sayısı (AFC) gibi ultrasonla ovaryum görüntülemesi de dahil olmak üzere çeşitli ovaryen rezerv testlerini dikkate alırlar (79). Ovaryen rezerv yaş, çevre, primordial folikül havuzu, hastalıklar ve ilaçlar gibi birçok faktörden ve bazı bilinmeyen unsurlardan etkilenebilir. Benzer yaştaki normal grupla karşılaştırıldığında, düşük over rezervli (DOR) kadınlarda mevcut folikül veya oosit sayısı çok düşük seviyelere iner (80). Modern toplumun gelişimi ve gebeliğin ertelenmesiyle birlikte, DOR, çocuk sahibi olmak isteyen kadınlar ve gelecek nesillerin sosyal ortamı için çözülemeyen bir sorun haline gelmiştir (81).

Yaş ilerledikçe fertilitede bir azalma meydana gelir. Bu düşüş kısmen folikül ve oositlerin ilerleyici kaybı ve yaşla birlikte gamet kalitesinin bozulması nedeniyle olur. Dondurulmuş donör spermiyle inseminasyon uygulanan kadınlarda fekundite üzerine yapılan bir çalışmada, 12 siklus boyunca kümülatif başarı oranları 26 ila 30 yaş grubunda %74,1, 31 ila 35 yaş grubunda %61,5 ve 35 yaşından büyük grupta %53,6 olarak bulunmuştur (64). Azalmış over rezervi için diğer risk faktörleri arasında ovaryen cerrahi öyküsü, kemoterapi, over maruziyetiyle birlikte radyasyon tedavisi, erken menopoz aile öyküsü veya Frajil-X geninde 55 ila 200 CGG tekrarı olarak tanımlanan FMR1 ön mutasyonu bulunur. Over rezervi, antimüllerian hormon veya ultrason ile değerlendirilebilir (82). Büyüyen over folikülleri tarafından üretilen ve yaşla birlikte azalan antimüllerian hormon, foliküler havuzun boyutunu ve

kalitesini yansıtır. Over stimülasyonundan sonra toplanan oosit sayısıyla korelasyon gösterir. AMH'nin yorumlanması laboratuvar testine bağlıdır. AMH değeri siklus boyunca minimal değişiklik gösterir. Düşük over rezervini düşündüren eşik değeri <1.66 ng/mL'dir (83).

FSH ön hipofiz tarafından salgılanır. Siklus süresince değişkenliği yüksektir. Dolayısıyla, oldukça anormal bir FSH (örneğin, >15 mIU/mL) DOR için spesifiktir ancak AMH'den daha az hassastır ve over rezervindeki daha ince düşüşleri tespit etmez. Folikül havuzu küçüldükçe, östrojen tarafından hipofiz folikül uyarıcı hormon (FSH) salgılanmasının inhibisyonu kaybolur ve erken foliküler faz serum FSH'si yükselir. Over rezervi daha da azaldıkça, erken foliküler faz östradiol yükselir (>60–80 pg/mL) ve FSH yükselmesini engeller (64).

Antral folikül sayısı ultrason ile değerlendirilir. Her iki overde 2–10 mm ölçülerindeki foliküllerin toplamı olarak tanımlanır. Döngüler arası güvenilirliği yüksektir. Aşırı kilolu veya obez kadınları değerlendirme yeteneği sınırlıdır. Deneyimli merkezlerde yapılmalıdır. Azalmış over rezervi düşündüren eşik değeri <4 (her iki overde 2–10 mm'lik foliküller) 'tür (84).

2.5.2.4.1. Over Rezervi Üzerindeki Hormonal Etkiler:

AMH (Anti-müllerian hormon):

Ovaryen rezervi tahmin etmek için en yaygın kullanılan klinik belirteçlerden biri olan AMH seviyesi, gonadotropin bağımsız fazdaki folikül havuzunu ve over folikül sayısını yansıtan güvenilir bir endekstir (85). AMH, foliküllerin pre-antral evreden antral evreye ilerlemesinde kilit bir rol oynar (86). Antral foliküllerde, AMH salgısı, 8–10 mm folikül çapında zirveden tespit edilemeyen seviyelere kadar kademeli olarak azalır. AMH seviyeleri, büyüyen foliküllerin ve primordial foliküllerin sayısını yansıtır. Bu nedenle, AMH, primordial foliküllerin alımında önemli bir rol oynar. Genç farelerde daha fazla, yaşlı farelerde ise daha az primordial folikül bulunmasına yol açan AMH geninin yokluğu, havuzu tüketerek erken yıllarda düşük AFC'ye (antral follicule count) ve sonunda DOR'a neden olur (78). Ek olarak, GCs'deki AMH ekspresyon geni, AMH seviyeleri ile ve FSH reseptörü (FSHR), androjen reseptörü (AR) ve AMH reseptörü (AMHR) ekspresyonu ile pozitif ilişkili,

buna karşılık foliküler sıvıdaki östradiol (E2) ve progesteron (P) seviyeleri ile negatif ilişkilidir; bu da AMH konsantrasyonunun senkron foliküler büyümede yansıtıcı bir işlevi olduğunu öne sürer (87).

FSH ve LH:

Her folikül gelişim döngüsünün başlangıcında bulunan küçük antral foliküllerin miktarı, ovaryen rezervin bir göstergesidir. Küçük foliküllerin büyümesi için yeterli FSH üretimi gerekmektedir ki bu da folikül alımıyla ilişkilidir (88). FSH'nin varlığı, pre-antral folikül evresinden sonra önemlidir, ancak pre-antral evredeki uygun FSH seviyesi, oosit kalitesi ile ilişkilidir (89). Aromataz enzimlerinin ve östradiol bağımlı foliküler gelişimin etkisi için sürekli ve yeterli FSH uyarımı gerekmektedir. Dolayısıyla, bu durum öncelikle ovulasyon başlangıcındaki büyük antral folikül evresinde geçerlidir (90). In vitro deneyler, FSH ile steroid üretimi, madde değişimi ve metabolizma arasında bir bağlantı olduğunu göstermiş ve bunun da nihayetinde folikül olgunlaşmasını tetiklediğini göstermiştir (91). Foliküllerin, özellikle de preovulatuar foliküllerin ileri olgunlaşması için yeterli LH salgısı gerekmektedir (90). Araştırmalar, uygun LH uyarımının, steroidlerin ovaryum hücreleri üzerindeki etkisini düzenleyerek foliküler büyüme için gerekli olduğunu göstermiştir; ancak, aşırı LH, GCs'lerin farklılaşması ve çoğalmasını inhibe edebilir (90). Ayrıca, ovulasyon için seçilen antral foliküllerin başlangıç sayısı, GCs membranında bulunan FSHR ve LHR'nin dağılım yoğunluğuna ve düzenleyici aktivitesine büyük ölçüde bağımlıdır (92). Bunun yanı sıra, androstenediondan östrojene dönüşümün aktive edilmesi için ileri folikül olgunlaşması amacıyla yeterli FSHR ve LHR gerekmektedir. Düşük FSH yoğunluğu ve yetersiz FSHR ve LHR ekspresyonu, oosit kalitesini zayıflatabilir (93).

İnhibin B:

İnhibin B, büyüyen foliküller tarafından salgılanır; foliküler kompartmanda birikir ve dolaşıma salınır. Primer fonksiyonu, FSH sentezini ve salgılanmasını selektif olarak inhibe etmek ve LH'yi aktive etmektir. Granüloza hücre (GC) spesifik bir hormon olduğundan, intrafoliküler konsantrasyonu folikül büyüklüğü ile ilişkilidir ve serum seviyesi folikül sentezini yansıtabilir (78). Inhibin B, folikül

büyümesi sırasında folikül 8-10 mm çapa ulaştığında en yüksek seviyesine ulaşır (94) ve epizodik inhibin B salgılama paterninde foliküler faz ve ovulasyon sırasında bir pik gösterir (95). Inhibin B, FSH'nin folikül uyarısına yanıt olarak salgılanır ve androgen üretimini teşvik eder. Androjenler daha sonra komşu GCs'lerde birikir ve FSHR ile LHR ekspresyonunu artırır, bu da nihayetinde folikülde gonadotropinlere karşı artan duyarlılığı ve daha fazla foliküler büyümeyi sağlar (96).

Estrojen, Progesteron ve Androjenler:

İnsan oositlerinde E2 bağımlı, kalsiyum aracılı sitoplazmik olgunlaşma mevcuttur (97). Bir çalışma, dominant foliküllerden elde edilen foliküler sıvının (FF), atretik alt foliküllere kıyasla daha yüksek bir östrojen/androjen oranına sahip olduğunu bulmuştur, bu da iyi gelişmiş foliküllerin bol miktarda östrojen gerektirdiğini göstermektedir (92). Estrojen reseptörü (ER), gonadotropin uyarılı folikül gelişimi, oosit olgunlaşması ve GCs ile oosit arasındaki iletişimde yer alan genlerin transkripsiyonel düzeylerini düzenleyerek antral evrenin ötesinde folikül gelişiminde önemli bir rol oynar (98). Ek olarak, progesteron salgısı antral folikül gelişimi sırasında kademeli olarak artar (94), preovulatuar dönemde yükselir ve dominant foliküllerden zirve yapar (99). Hem P hem de E2'nin anormal derecede yüksek seviyeleri, primordial foliküllerden primer evreye geçişi olumsuz yönde etkileyebilir ve GCs'lerin mitozunu bozabilir. Bu da primordial folikül büyümesinin durmasına işaret eder (100). Dolayısıyla, foliküler gelişimin erken evresindeki P ve E2'nin aşırı salgılanması ovaryen rezervi etkiler (100). Androjenler, foliküler gelişim üzerinde karmaşık etkilere sahiptir. GCs'de AR ekspresyonu, foliküllerin pre-antral ve erken antral evrelerinde zenginleşir ve geç preovulatuar foliküllerde kademeli olarak kaybolur (101). AR'nin yokluğu, GCs'lerin apoptozunu tetikler ve sonuç olarak ovaryen rezervi zayıflatır (102).

2.5.2.5. Uterin ve Servikal Faktörler

Uterin kavite anormallikleri abortus ve erken doğum gibi istenmeyen gebelik sonuçlarıyla ilişkilidir. Uterin kaviteyi bozan faktörler arasında endometrial polipler, leiomyomlar, intrauterin sineşiler ve septalı uterus gibi konjenital uterin malformasyonlar bulunur. Sonohisterografi (SHG) polipleri veya leiomyomları

sırasıyla %91 ve %84 duyarlılık ve özgüllükle tespit eder ve bu da SHG'yi uterus boşluğunu değerlendirmede HSG ve transvajinal ultrasondan üstün kılar. Konjenital bir malformasyondan (örneğin, bikornuat uterus) şüpheleniliyorsa, pelvik manyetik rezonans görüntüleme veya 3 boyutlu ultrason ile daha ileri değerlendirme yapılmalıdır (103). Ultrason veya HSG'si olan infertil kadınların genel popülasyonunda infertilite etiyolojisi için tanı testi olarak histeroskopinin rutin kullan ımını destekleyen yüksek kaliteli bir kanıt yoktur (64).Uterin kavite kusurlarını düzeltmek için cerrahi müdahale genellikle üreme sonuçlarını iyileştirmek için yapılır. 309 kadını kapsayan 2 RCT'ye dayanan 2018 Cochrane incelemesi, uterin fibroidler, endometrial polipler, intrauterin yapışıklıklar ve uterin septumu içeren şüpheli uterin boşluğu anormallikleri için operatif histeroskopiyi kontrolle karşılaştırdı. Endometrial poliplerin çıkarılmasının gebelik oranlarını artırabileceği sonucuna varılmıştır, ancak cerrahinin diğer yapısal uterus anormallikleri üzerindeki etkinliğini ölçmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. 2015 yılında Cochrane tarafından yapılan 2 randomize çalışmanın incelemesinde, infertil kadınlarda submukozal miyomların histeroskopik olarak çıkarılmasını destekleyen çok düşük kalitede kanıt bulunmuştur (94 kadında cerrahi sonrası %39 klinik gebelik oranına karşı cerrahi olmadan %21; olasılık oranı, 2,44 [95% CI, 0,97–6,17]; P = ,06). Sınırlı olmasına rağmen bu verilere dayanarak cerrahi, özellikle diğer semptomlar (örneğin anormal uterin kanama) mevcutsa, uterin kaviteyi bozan defektleri olan infertil kadınlarda sıklıkla düşünülmektedir (104).

Servikal faktör infertilitesi, anatomik bir anormallik, cerrahi sonrası oluşan bir skar dokusu veya spermin uterusa doğal ilerlemesini engelleyen azalmış servikal mukus olarak tanımlanır. Doğuştan servikal anomaliler nadirdir (1/80.000); servikal stenoz geçirilmiş cerrahinin bir sonucu olarak ortaya çıkabilir (örneğin, loop elektrocerrahi eksizyon prosedürü veya servikal neoplazi için servikal konizasyon) ancak servikal cerrahinin fertilite üzerindeki etkisiyle ilgili çalışmalar küçük örneklem boyutu, kısa takip ve cerrahinin kapsamı hakkında yetersiz ayrıntı nedeniyle sınırlıdır (105). Tarihsel olarak mukustaki sperm canlılığını değerlendirmek için cinsel ilişkiden sonra yapılan postkoital testin kullanılması önerilmemektedir (64).

2.4.2.6. Erkek Faktörü

Düşük testosteron konsantrasyonları veya düşük sperm sayısı gibi erkek fizyolojisi bozuklukları, infertil çiftlerin %35'inde görülür (106). Bir çiftte infertiliteye katkıda bulunan birden fazla faktör de olabilir; bu nedenle, kadın değerlendirmesiyle eş zamanlı olarak erkek faktörü değerlendirmesi de yapılmalıdır. Üreme geçmişine ek olarak, semen hacmini ve sperm üretimini belirlemek için semen analizi yapılmalıdır (107). Ejakülatta sperm bulunmadığında (azospermi), idrar örneğinde sperm bulunması retrograd ejakülasyonu doğrular. Obstrüktif azospermi, sperm taşınmasında bir tıkanıklık nedeniyle ejakülatta sperm bulunmaması olarak tanımlanır. Obstrüktif azospermisi olan erkeklerde, vas deferenslerin konjenital bilateral yokluğu bulgusu, kistik fibrozlu hastalarda bulunmayan protein olan kistik fibroz transmembran iletkenlik düzenleyicisinde bir mutasyon açısından değerlendirmeyi gerektirir. Obstrüktif olmayan azoosperminin en yaygın nedeni, serum toplam testosteron ve FSH düzeyleri ve ilk sonuçlara dayalı sonraki testler gerektiren bir tanı olan primer testis yetmezliğidir. Azoospermi tedavisi, yardımcı üreme teknolojisi (ART) döngülerinde hemen kullanılmak üzere sperm elde etmek için testislerden cerrahi sperm alınmasını veya daha sonra kullanılmak üzere kriyoprezervasyonu içerir (108).

2.5.3. İnfertilite Tedavisi

İnfertilite tedavisi, çiftlerin fertilite sorunlarını çözmek için geliştirilmiş çeşitli farmakolojik ve teknolojik yaklaşımları içerir. Bu bölümde, yaygın infertilite tedavi yöntemleri, kullanılan ilaçlar, prosedürler ve sonuçları ele alınacaktır.

2.5.3.1. İnfertilite için Tedavi Seçimi

Anovülasyonla gelen bireyler için, ovülasyon indüksiyonu ile birlikte planlı cinsel ilişki genellikle ilk tedavi seçeneğidir. Açıklanamayan infertilitesi olan çiftler için, Amerikan Üreme Tıbbı Derneği, endometriozisi olan kadınlar veya hafif erkek faktörü olan partnerler için de kullanılabilen bir yaklaşım olan intrauterin inseminasyonu önermektedir. 3 ila 4 over stimülasyon döngüsü gebelikle sonuçlanmazsa IVF düşünülmelidir. Açıklanamayan infertiliteye sahip kadınları IVF öncesinde 3 siklus klomifen-IUI ve ardından 3 siklus gonadotropin-IUI veya 3 siklus

klomifen-IUI ve ardından 6 siklus IVF'ye randomize eden Hızlı ve Standart Tedavi Denemesi, klomifen-IVF grubunda gebeliğe ulaşma süresinin önemli ölçüde daha az olduğunu (8'e karşı 11 ay) ve çift başına 2624 dolarlık bir maliyet tasarrufu sağladığını saptamıştır (109). Bu nedenle, gonadotropin-IUI siklusları açıklanamayan infertilite için önerilmemektedir (110).

Yaş, karar alma sürecinde göz önünde bulundurulması gereken bir diğer hususdur. İnfertilite tedavisinde başarı oranları yaşla birlikte azalır: Klomifen ve intrauterin inseminasyon için siklus başına gebelik oranları 35 ila 37 yaşlarındaki kadınlarda %8,2, 38 ila 40 yaşlarındaki kadınlarda %6,5, 41 ila 42 yaşlarındaki kadınlarda %3,6 ve 42 yaşından büyük kadınlarda %0,8'dir (111). Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri'nden alınan IVF siklusları için kayıt verileri de ilerleyen yaşla birlikte azalan başarıyı yansıtmaktadır (<35 yaş kadınlarda embriyo transferi başına %48,5'lik canlı doğum oranından 2017'de >43 yaş kadınlarda %11,0'a). 38 ila 42 yaşlarındaki kadınlarda açıklanamayan infertilite için tedavi stratejilerini değerlendiren bir RCT, klomifen ile over stimülasyonu-IUI geçirenlere kıyasla hemen IVF geçiren çiftlerde daha yüksek canlı doğum oranları bulmuştur (%31,4 2 tedavi siklusu boyunca) (%15,7) veya gonadotropinler (%13,5) (109). Bu nedenle, 38 ila 40 yaşından büyük kadınlarda acil IVF birinci basamak tedavi stratejisi olarak düşünülebilir. Acil IVF ayrıca ciddi erkek faktörlü infertilite, tedavi edilmemiş tubal faktörlü infertilite veya implantasyon öncesi genetik testin kullanılacağı durumlarda da endikedir (64).

2.5.3.2. Ovulasyon İndüksiyonu ve Over Stimülasyonu

Yaygın olarak kullanılan infertilite tedavileri arasında, ovulasyonu başlatmak için farmakolojik tedavilerin kullanımı anlamına gelen ovulasyon indüksiyonu ve birden fazla matür over folikülü oluşturma amacıyla gerçekleştirilen over stimülasyonu yer alır. Ovulasyon sırasında fertilizasyonu sağlamak için zamanlanmış cinsel ilişki veya intrauterin inseminasyon (IUI) kullanılabilir. Alternatif olarak, matür oositler, ultrason kılavuzluğunda bir iğne (IVF) kullanılarak fertilizasyon için doğrudan overden alınabilir (64).

2.5.3.3. Intrauterin İnseminasyon (IUI)

IUI, endojen LH artışından veya ekzojen ovulasyon tetikleyicisinden 24 ila 36 saat sonra spermin uterusa yerleştirilmesiyle gerçekleştirilir. IUI, hafif erkek infertilitesi için tipik olarak birinci basamak tedavi stratejisidir, ancak hafif erkek faktörü infertilitesi için resmi olarak kabul edilmiş bir tanım yoktur. 757 hastayı içeren 10 RCT'nin 2016 Cochrane incelemesi, erkek kısırlığı için IUI ile zamanlı ilişki arasında bir fark olduğuna dair kanıt bulamadı (112). Ancak, kanıt düşük kalitedeydi. Açıklanamayan infertilitesi olan hasta grubunda, IUI ovulasyon indüksiyonu ile birlikte uygulanmalıdır çünkü IUI tek başına bu popülasyonda gebelik oranlarını artırmaz (113).

2.5.3.4 In-vitro Fertilizasyon (IVF) ve İleri Teknikler

İn vitro fertilizasyon (IVF), infertilite tedavi yöntemlerinde önemli değişimlere yol açan ve yardımcı üreme teknolojileri alanında bir dönüm noktası olarak kabul edilmektedir. Bu karmaşık prosedür, bir yumurta ve spermin laboratuvar ortamında vücudun dışında birleştirilmesini içerir ve embriyoların oluşumuyla sonuçlanır (114).

IVF ve/veya ICSI, uzun süreli, çözülememiş fertilite sorunları olan çiftler için önerilen tercih edilen tedavilerdir. Dünya çapında sekiz milyondan fazla kadın IVF ve/veya ICSI ile gebe kalmış olup, bunların çeyrek milyonu İngiltere'dedir (115).

Tipik bir IVF döngüsü, gonadotropin stimülasyonu ile başlar ve ardından birden fazla over folikülünün aspirasyonu ile devam eder. Oositler, spermatozoa ile birleştirilerek (IVF) veya ICSI ile fertilizasyon gerçekleştirilir. Embriyolar, optimum koşullar altında kültürlenir ve ultrason rehberliğinde uterusa transfer edilir (64).

2.5.3.5. Tedavi Seçenekleri ve İlaçlar

Tablo 3: İnfertilite tedavisinde kullanılan ajanlar

İlaç Grubu	İlaç Adı	Doz ve Uygulama Şekli	Yan Etkiler (Görülme Oranı)	Etkinlik
Seçici östrojen reseptör modülatörleri (Ovulasyon İndüksiyonu)	Klomifen sitrat	50 mg/gün, 5 gün (adet 2-5. gün başlanır); ovulasyon yoksa 150 mg/güne kadar artırılabilir	Ateş basması (%33), baş ağrısı (%34), yorgunluk (%14), baş dönmesi (%7), sinirlilik (%21), ince endometrium (%15–50), görme bozuklukları (%2), çoğul gebelik (≤%12.5)	Açıklanamayan infertilitede 3 siklusta %24–31 kümülatif LBR; PCOS'ta 5 siklusta %19.1 LBR
Aromataz inhibitörleri (Ovulasyon İndüksiyonu, off-label)	Letrozol	2.5 mg/gün, 5 gün (adet 2-5. gün başlanır); ovulasyon yoksa 7.5 mg/güne kadar artırılabilir	Ateş basması (%20.3), baş ağrısı (%41), yorgunluk (%21.7), baş dönmesi (%12.3), sinirlilik (%18), çoğul gebelik (≤%14.3); endometrium ve servikal mukus üzerine olumsuz etki göstermez	PCOS'ta 5 siklusta %27.5 kümülatif LBR
Gonadotropinler (Ovaryan Stimülasyon)	FSH (Bravelle, Follistim, Gonal-F)	Zamanlanmış ilişki/IUI için: 37.5–75 IU/gün; IVF için: 150–200 IU/gün	Enjeksiyon bölgesinde reaksiyon (%10), karın şişkinliği/rahatsızlık (%27–34), OHSS (%1–5), çoğul gebelik (≤%36)	IUI ile 4 siklusta %32–33 kümülatif LBR; IVF ile yaşa bağlı olarak siklus başına %65+ LBR
Ovulasyon Tetikleyicileri	Rekombinant hCG (Ovidrel)	250 µg enjeksiyon	Enjeksiyon bölgesinde şişlik, ağrı, kızarıklık (%10–20)	Kullanılan OI veya OS protokolüne bağlı

Ovulasyon Tetikleyicileri	İdrar kaynaklı hCG (Pregnyl, Novarel)	5000–10 000 IU enjeksiyon	Enjeksiyon bölgesinde şişlik, ağrı, kızarıklık (%10–20)	Kullanılan OI veya OS protokolüne bağlı
GnRH agonistleri (Hipofiz Baskılama ve Ovulasyon Tetikleyici)	Leuprolid asetat (Lupron)	0.5–1 mg/gün subkutan enjeksiyon	Menopozal belirtiler: ateş basması, ruh hali değişimi, vajinal kuruluk, baş ağrısı (%70–80)	Kullanılan OI veya OS protokolüne bağlı
GnRH antagonistleri (Hipofiz Baskılama)	Ganireliks, Cetroreliks (Cetrotide)	0.25 mg/gün enjeksiyon	GnRH agonistlerine benzer yan etkiler	Kullanılan OI veya OS protokolüne bağlı
Pulsatil GnRH tedavisi (Hipotalamik Amenore)	GnRH	75 ng/kg doz; ovulasyondan sonra kesilir	Enjeksiyon bölgesi etkileri, çoğul gebelik (%4–8), OHSS (<%1)	6 ay içinde %70–100 gebelik oranı
Dopamin agonistleri (Hiperprolaktinemik Anovulasyon)	Bromokriptin (Parlodel)	1.25 mg/gün oral başlanır	Baş dönmesi (%25), baş ağrısı (%25–30), bulantı/kusma (%30–50)	%52–72 ovulasyonun tekrar başlaması
Dopamin agonistleri	Kabergolin (Dostinex)	0.25 mg haftada 2 kez oral; vajinal uygulama yan etkileri azaltabilir	Baş dönmesi (%25), baş ağrısı (%25–30), bulantı/kusma (%30–50)	52–72 ovulasyonun tekrar başlaması

Kısaltmalar: OI: Ovulasyon İndüksiyonu **OS:** Ovaryan Stimülasyon **IUI:** İntrauterin İnseminasyon **IVF:** İn Vitro Fertilizasyon **PCOS:** Polikistik Over Sendromu **LBR:** Canlı Doğum Oranı **OHSS:** Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu

Kaynak: Carson SA, Kallen AN. Diagnosis and Management of Infertility: A Review. *JAMA.* 2021;326(1):65–76. doi:10.1001/jama.2021.4788

2.5.3.6. Ovulasyon İndüksiyonu için Oral Ajanlar

Ovulasyon indüksiyonu için iki oral ilaç kullanılır. Klomifen sitrat, estradiolün negatif geribildirim etkisini bloke eden ve hipotalamik gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) puls frekansında artışa ve ardından hipofizden FSH ve lüteinize edici hormon (LH) üretimine neden olan seçici bir estrojen reseptör modülatörüdür; foliküler büyümeyi teşvik eder (64). Letrozol aromatazı bloke ederek estradiolün serum konsantrasyonlarını azaltır ve hipofizden gonadotropin salınımını uyarır. Hem klomifen sitrat hem de aromataz inhibitörlerinin çoğunluk ikiz gebelik olmak üzere %10'dan daha az çoğul gebelik oranı vardır. Ovulasyon indüksiyonu geçiren PCOS'lu kadınlarda letrozol, klomifene kıyasla letrozolün daha yüksek canlı doğum oranlarına yol açtığını gösteren Polikistik Overde Gebelik II Çalışması'na dayalı olarak birinci basamak tedavidir (374'te 103 [%27,5 canlı doğum oranı] - 376'da 72 [%19,1 canlı doğum oranı]) (116). Klomifen ile letrozolü karşılaştıran 2954 kadını içeren 13 RCT'nin 2018 Cochrane incelemesi benzer bir sonuca ulaşmıştır (letrozol ile tedavi edilen 1000 kadında 314 gebelik - klomifen ile tedavi edilen 214 gebelik; olasılık oranı, 1,68 [95% CI, 1,42-1,99]), ovaryen hiperstimülasyon oranları, abortus oranları veya çoklu gebelik oranlarında fark yoktur (117).

Oral ajanların, hipogonadotropik hipogonadizmli kadınlarda faydası sınırlıdır. Bu hastalarda, endojen ovulasyon disfonksiyonu, ekzojen bir ovulasyon tetikleyicisinin kullanımını gerektirir (118).

2.5.3.7. Over Stimülasyonu

Over stimülasyonu, ovulasyon indüksiyonunda kullanılanlara benzer dozlar kullanılarak klomifen sitrat, aromataz inhibitörleri, gonadotropinler veya bu ilaçların bir kombinasyonu ile gerçekleştirilebilir. Overlerin uyarımı, açıklanamayan infertiliteyi tedavi etmek için intrauterin inseminasyon ile birleştirilir; canlı doğum oranları tanıya, sperm canlılığına ve overlerin yanıtına bağlıdır. 2019 Cochrane incelemesi, gonadotropinlerin PCOS'lu kadınlarda 6 ovulasyon döngüsünden sonra devam eden klomifen sitrattan daha yüksek bir canlı doğum oranıyla sonuçlandığı sonucuna varmıştır (119); ancak gonadotropinlerin kullanımıyla %36'ya kadar çoğul gebelik oranları bildirilmiştir (118). Asit-baz, elektrolit dengesizliği ve hiperkoagülabilite içerebilen over hiperstimülasyon sendromu (%1-%5), gonadotropin

kullanımının bir diğer ciddi komplikasyonudur. Bu nedenle gonadotropin tedavisinin üreme endokrinoloğu kontrolünde uygulanması gerekir (64).

2.5.3.8. Obezitenin ve Kilo Kaybının Rolü

Sistematik incelemeler ve meta-analizler, kadın obezitesinin (BMI >30) IVF'den sonra canlı doğum oranlarıyla negatif ilişkili olduğunu göstermiştir (120). Obez kadınlar için, gebeliği kilo verene kadar geciktirmek düşünülmelidir. PCOS ve infertilite sorunu olan aşırı kilolu/obez kadınlarda yapılan 2 RCT'nin ikincil analizinde, yaşam tarzı değişikliği ve kilo kaybından sonra klomifen ile gecikmiş tedavi, acil tedaviye kıyasla yumurtlama ve canlı doğum oranlarında iyileşme ile sonuçlanmıştır (121). Ancak, yakın zamanda yapılan 2 RCT, IVF tedavisi gören 962 infertil, obez kadında (VKİ, 30-35), düşük kalorili bir diyetle (12 hafta boyunca 880 kcal/gün; ortalama kilo kaybı 9,44 kg) kilo vermeye randomizasyonun, indeks döngüsünde veya 2 yıllık takip süresinde canlı doğum oranlarını iyileştirmediğini bulmuştur (122). Kilo kaybının obezitenin oosit kalitesi üzerindeki zararlı etkisini tersine çevirip çeviremeyeceği de net değildir (123).

Bazı çalışmalar metforminin gebelik sonuçları açısından plasebodan daha iyi olabileceğini gösterse de, mevcut önerilen kılavuzlar kapsamında PCOS'lu obez olmayan infertil kadınların tedavisinde metforminin değerlendirilmesinden önce yeterince güçlü çalışmalardan elde edilen daha güçlü, daha kesin kanıtlara ihtiyaç vardır (124).

2.5.3.9. Fertilite İlaçları ve Doğum Defektleri

IVF veya ICSI yoluyla gebe kalan 124.468 kadının çocuklarında doğum defekti riskini karşılaştıran 46 çalışmanın 2012 meta-analizi, ART'den sonra önemli ölçüde artmış bir risk buldu (göreceli risk, 1,37 [95% CI, 1,26–1,48]; mutlak oranlar sağlanmadı), ancak ICSI, IVF ile karşılaştırıldığında riski artırmadı (125). Buna karşılık 327,420 doğumun incelendiği bir Avustralya kayıt çalışması, ebeveyn faktörleri ayarlandıktan sonra yardımcı üreme ile doğum defekti riski arasında, ICSI döngüleri hariç (IVF döngülerinden kusurlu 165 doğum, ICSI döngülerinden kusurlu 139 doğumla karşılaştırıldığında; olasılık oranı, 0,68 [95% CI, 0,53–0,87]), ancak erkek faktörlerindeki farklılıklarla ilgili kalan karıştırıcı faktörler dışlanamadı (126).

Letrozol ile klomifeni karşılaştıran retrospektif kohort çalışmaları konjenital anomali oranlarında bir fark bildirmemiştir (127). Daha yakın zamanda, 135.695 çoğul gebelik doğumu içeren 35 kohort çalışmasının meta-analizi, ART'den kaynaklanan çoğul gebeliklerin, kendiliğinden oluşan gebeliklere kıyasla küçük ancak anlamlı derecede daha yüksek bir konjenital malformasyon riskiyle (risk oranı, 1,11 [95% CI, 1,02–1,22]; bu çalışmada mutlak oranlar sağlanmamıştır) ilişkili olduğunu bulmuştur (128).

2.5.4. İnfertilite ve Kanser Riski

İnfertilite; meme, endometrium ve over kanserleri için bir risk faktörüdür. Ancak infertilite tedavisinin kendisinin bu riskleri artırdığı net değildir (129). Nulliparite, ilk doğumda ileri yaşta olmak, geç menopoz ve anovülasyon gibi faktörler infertil popülasyonun özellikleridir. Aynı zamanda over, endometrium ve meme kanseri için artan riskle de ilişkilidir. 4 çalışmada 19,614 katılımcının yer aldığı 2017 Cochrane incelemesi, klomifen sitrat ile tedavi edilen subfertil kadınlarda kontrollerle karşılaştırıldığında endometriyal kanser riskinin arttığını buldu (risk oranı, 1,87 [95% CI, 1,00–3,48]) ancak bu ilişkinin PCOS gibi altta yatan durumlarla mı yoksa klomifenin kendisine maruz kalmayla mı ilişkili olduğu sonucuna varılamadı (130). İnfertilite nedeniyle ilaçlarla over stimülasyonu sağlanan kadınlarda over kanseri risklerini değerlendiren 2019 Cochrane incelemesi (37 çalışma, 4.684.724 kadın), mevcut çalışmaların düşük metodolojik kalitede olduğunu, kısa takip süresi ve karıştırıcı faktörler için ayarlama yapılmadığını ve mevcut kanıtların klinik olarak önemli bir olumsuz ilişki göstermediğini sonucuna vardı (129).

Ovulasyon indüksiyonu ve IVF gibi infertilite tedavi rejimlerini kapsayan hormonal tedavilerin, 30 yıldan uzun süre takip sonucunda meme kanseri riskinin artışı ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır. İnfertilite sorunu yaşayan kadınlar artmış invaziv over, endometrial ve meme kanseri riski taşır. Ancak infertilite tedavisinde kullanılan ilaçların bu riski artırdığına dair kesin bir kanıt yoktur (131). Benzer şekilde, erkek infertilitesi de genel olarak daha yüksek kanser riskiyle ilişkilidir. 76.083 infertilite sorunu yaşayan erkekten alınan ABD talep verilerinin analizi, infertilite değerlendirmesinden sonraki yıllarda tüm kanserlerde artmış bir risk bulmuştur (gözlemlenen 600 vaka, beklenen 333,41 vaka; risk oranı, 1,80 [95% CI, 1,66–1,95]) (132).

2.5.5. İnfertilite ile İlişkili Diğer Sağlık Riskleri

Bazı infertilite nedenleri olumsuz sağlık sonuçlarıyla ilişkilidir. Örneğin, PCOS obezite, metabolik sendrom, diyabet, dislipidemi ve insülin direnciyle ilişkilidir. Anovülasyonun endometrial hiperplazi ve kanser ile ilişkisi iyi bilinmektedir (133). Primer over yetmezliği, osteoporoz, kardiyovasküler hastalık, hipotiroidizm ve adrenal yetmezlik gibi endokrin bozuklukların riskinde artış ilişkilidir (134). İnfertilite ile metabolik sendrom ve kardiyovasküler olaylar arasındaki ilişkiyi inceleyen Ulusal Sağlık ve Beslenme İncelemesi Anketi verilerinin 2019 kesitsel analizinde, infertil kadınların metabolik sendrom (1,79 [95% CI, 1,04-3,08]) ve daha erken yaşta kardiyovasküler olay geçirme olasılıklarının daha yüksek olduğu bulunmuştur (135). Ayrıca, 55 ila 74 yaşları arasındaki 75.784 kadını kapsayan çok merkezli bir kanser tarama RCT'sinin 2020 analizinde, infertilite öyküsü olan kadınların çalışma süresi boyunca %10 artmış mortalite riski olduğu bulunmuştur (136). Erkeklerde de fertilite ile genel sağlık arasında ilişki vardır. 2009 yılında 344 infertilite sorunu yaşayan erkek ile 293 yaşa bağlı infertilite sorunu yaşayan erkeğin karşılaştırıldığı bir vaka-kontrol çalışması, infertil erkeklerin 10 yıllık ölüm oranı için kontrol grubuyla karşılaştırıldığında öngörü endeksinde daha düşük puanlar aldığını bulmuştur (ortalama Charlson Eşlik Eden Hastalık İndeksi puanı, 0,33'e karşı 0,14; P < ,001 [95% CI, 0,08-0,29]) (137). Bu arada Danimarka'da yapılan, infertilite tedavisi görmüş erkekleri içeren büyük bir prospektif kohort çalışmasında, erkek faktörü olan erkeklerde (12.857 erkek arasında 129 vaka) diğer nedenler için infertilite tedavisi gören erkeklerle karşılaştırılmıştır (12.376 kontrol arasında 61 vaka; risk oranı, 1,45 [95% CI, 1,06-1,97]) ve diyabet riskinin erkek faktörü infertilitesi olan bireylerde arttığını bulunmuştur (138). Sonuç olarak 15 ila 49 yaş arasındaki yaklaşık 8 kadından 1'i yardımcı üreme teknikleri hizmetleri almaktadır. Başarı oranları yaşa ve tanıya göre değişse de, doğru tanı ve etkili tedavi birçok çiftte doğurganlık hedeflerine ulaşılmasını kolaylaştırabilir (64).

2.6. IN-VITRO FERTILIZASYON

2.6.1 .Konvansiyonel teknik

Oosit ve sperm, kontrollü bir kültür ortamında birleştirilir. Sperm, oositi çevreleyen alana bırakılır ve fertilizasyon süreci, doğal etkileşimler doğrultusunda birkaç saat içinde gerçekleşir. Bu aşamada, oosit ve sperm arasındaki etkileşime herhangi bir dış müdahale yapılmaksızın fertilizasyon süreci kendi doğal seyrinde devam eder (139).

2.6.2. İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI)

İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) tekniği, değişen sperm parametreleri nedeniyle oluşan ileri seviye erkek infertilitesi sorununu çözmek için icat edilmiştir. Günümüzde, çift infertilitesinin tedavisi için dünya çapında uygulanmaktadır. ICSI, cerrahi müdahaleden veya ejakülat örneklerinden elde edilen herhangi bir spermatozoon ile, sperm hareketliliği, morfolojisi veya miktarı ne olursa olsun gerçekleştirilir (140).

2.6.2.1. ICSI'nin Gelişimi ve Kullanımı

Tarihçe ve Endikasyonlar:

İn vitro fertilizasyon (IVF), esas olarak jinekolojik infertiliteyi çözmek için geliştirilmiş olsa da, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI)'nun birincil endikasyonları erkek faktörlü infertiliteye dayanır. Özellikle değişen semen parametreleri ve toplam fertilizasyon başarısızlığı (TFF) gibi durumlar ICSI'nin temel kullanım alanlarını oluşturur (121). İlk klinik uygulamalar 1992 yılında başlamış olup, geleneksel IVF içindeki ICSI oranı giderek artmıştır. 2013'ten itibaren in vitro döngülerin yaklaşık %70'inde ICSI kullanılmaktadır (122).

ICSI, dondurulmuş-çözülmüş oositler, cerrahi olarak elde edilen spermatozoa ve implantasyon öncesi genetik test (PGT) durumlarında tercih edilen bir yöntemdir (123-125). Ayrıca, dondurulmuş-çözülmüş spermatozoa ve olgunlaşmamış spermatozoa ile uygulanabilirliği, ICSI'yi çok yönlü bir teknik haline getirmiştir.

2.6.2.2. ICSI Varyantları

ICSI'nin farklı varyantları, özel durumlar için geliştirilmiştir. Intrasitoplazmik Morfolojik Olarak Seçilmiş Spermatozoa (IMSI): Spermatozoalar, geleneksel ICSI'de kullanılan 400× büyütmeye kıyasla 6600× büyütmede incelenir ve organel morfolojisine göre seçilir (121). Fizyolojik Intrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (PICSI): Sperm seçimini biyolojik uyumluluğa dayandırır.PIEZO-ICSI: Frajil oositlerde etkili bir inseminasyon yöntemi olarak bildirilmiştir (121).Bu varyantlar, ICSI'nin spesifik hasta gruplarındaki etkinliğini artırmayı amaçlar.

2.6.2.3. ICSI ve IVF'nin Fertilizasyon Mekanizmaları

Geleneksel IVF'de fertilizasyon, insan manipülasyonu olmadan doğal süreçleri taklit eder. Spermatozoon, zona pellucida (ZP)'dan geçerek oositi fertilize eder. Süreç şu şekilde ilerler: Oosit-kümülüs-korona radiata kompleksi, akrozomal reaksiyonla hareket kazanan spermatozoa tarafından çevrelenir. Spermatozoon, hiyalüronidaz enzimleri salgılayarak kümülüs-korona radiata kompleksini deler ve ZP'ye ulaşır. Sperm başı, ZP3 glikoproteinine bağlanır ve perivitellin boşluğa ilerler.

Spermatozoanın ekvatoral bölgesi, metafaz II aşamasındaki oositin mikrovilluslarıyla temas eder. Gamet füzyonuyla plazma membranları birleşir; kalsiyum iyonları (Ca^{2+}) salınımı polispermiyi önler ve oosit metabolizmasını uyarır (125). Spermatozoanın nükleer kromatini dekondense olur, protamin proteinleri histonlarla değiştirilir ve pronükleus oluşur. Metafaz II'deki oosit, ikinci mayoz bölünmesini tamamlar; ikinci polar cisim salınır. Pronükleuslarda DNA replikasyonu gerçekleşir ve tek hücreli embriyo aşamasına ulaşılır (127).

ICSI'de ise fertilizasyon farklıdır: Spermatozoon seçilip hareketsizleştirildikten sonra doğrudan ooplazmaya mikroenjekte edilir; ZP ve kümülüs-korona radiata kompleksine nüfuz etmez. Hareketsizleştirme, sperm membranını geçirgen hale getirir ve sperm sitozolik faktörlerinin salınmasını sağlar. Mikroenjeksiyondan sonra kortikal veziküllerden kalsiyum salınımı, oosit aktivasyonunu tetikler. IVF ve ICSI'de embriyo gelişimi benzerdir (125).

2.6.2.4. ICSI'nin Avantajları ve Klinik Etkinliği

ICSI, fertilizasyonun teknik veya biyolojik olarak imkânsız olduğu durumlarda embriyo oluşumuna olanak tanır. Örnekler:

-Doğuştan bilateral vas deferens yokluğu (CBAVD) nedeniyle azoospermik hastalar

-Globozoospermi gibi ciddi sperm anomalileri

-Dondurulmuş-çözülmüş oosit gibi düşük fertilizasyon gücüne sahip gametler (126).

ICSI, fertilizasyon oranını IVF'ye göre %5 artırır (ICSI'de %80, IVF'de %75) ve klinik kullanım için daha fazla blastosist sağlar (128). KPI (klinik performans göstergeleri) verilerine göre, ICSI'de bir blastosist için gereken oosit sayısı daha düşüktür (ICSI: 2,3 metafaz II oosit; IVF: 2,9 metafaz II oosit). Bu avantaj, oosit stimülasyon protokolleri, infertilite endikasyonları ve kadın yaşı fark etmeksizin geçerlidir (130).

2.6.2.5. Embriyo Gelişimi ve Morfokinetik Analiz

Günümüzde, in vitro fertilizasyon sonrası embriyo gelişimi, zaman aralıklı izleme (time-lapse monitoring) ile birleştirilmiş inkübatörler sayesinde tamamen gözlemlenebilir (131). Morfokinetik parametreler, sperm penetrasyonundan blastosist aşamasına kadar hücresel olayların zamanlamasını ve döngü sürelerini belirler (132). Bodri ve arkadaşlarının çalışmasına göre, ICSI embriyolarında pronükleus kaybolması (1,5 saat) ve 4 hücreli aşamaya geçiş (1,1 saat), IVF embriyolarına göre daha hızlıdır (133). Bunun nedeni, ICSI'de spermatozoanın penetrasyon anının kesin bilinmesi; IVF'de ise sürecin (ZP ve kümülüs penetrasyonu) yaklaşık 1 saat sürmesidir (134).

2.7. ZONA PELLUCIDA

Zona pellucida (ZP), memeli oositlerini ve preimplantasyon embriyolarını çevreleyen ekstraselüler bir matriks olup, üreme döngüsünde önemli roller oynar. Bu bölümde, ZP'nin tarihçesi, yapısı, biyolojik işlevleri, genetik temelleri ve blastokist çıkışı ile ilişkisi detaylıca ele alınacaktır.

2.7.1. Tarihçe ve Tanım

"Zona pellucida" terimi, ilk olarak insan yumurtalarını 1827 yılında tanımlayan Baltık Alman embriyolog Karl Ernst von Baer (1792–1876) tarafından kullanılmıştır. (Yunanca "zone" kelimesi, kemer veya kuşak anlamına gelir; Latince "pellucida" kelimesi ise parlak veya şeffaf olmak anlamına gelir). 1840'lara gelindiğinde, zona pellucida (ZP) terimi, tüm memeli yumurtalarını çevreleyen nispeten kalın ve şeffaf tabakayı tanımlamak için embriyologlar arasında yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (141).

2.7.2. Yapı ve Özellikler

2.7.2.1. Genel Yapı

Zona pellucida (ZP), tüm memeli oositlerini ve preimplantasyon embriyolarını çevreleyen, bir ekstraselüler matriks (ECM) olup, oogenez, fertilizasyon ve preimplantasyon sırasında çeşitli roller oynar (142). Zona pellucidanın, antikorlar, enzimler ve küçük virüsler gibi büyük makromoleküllere geçirgen olan, viskoelastik ve fibriller bir yapısı vardır. Oogenezin son aşamalarında memeli oositlerinin ve foliküllerin sağlığını ve büyümesini destekler, oositlerin spermler tarafından türlere özgü ferilizasyonunu düzenler ve preimplantasyon embriyolarının dişi üreme sisteminde uterusa doğru ilerlerken korunmasını sağlar. ZP, blastokist aşamasına kadar preimplantasyon embriyolarını çevreler ve embriyolar ZP'den çıkarak uterusa implante olurlar. Tek bir spermin oositi döllemesinden kısa bir süre sonra, ZP hem polisperminin önlenmesine yardımcı olmak hem de preimplantasyon embriyolarını dişi üreme sisteminde korumak için fiziksel ve biyolojik değişimler geçirir (141).

İnsan ZP matriksi, ince ve birbirine bağlı filamentlerden oluşan hassas bir ağdır ve temel olarak ZP1, ZP2, ZP3 ve ZP4 olarak adlandırılan dört glikoprotein içerir. Bu dört zona proteininin hepsi, sinyal peptidi, "ZP domaini," konsensus furin kesim bölgesi, transmembran benzeri domain ve kısa sitoplazmik kuyruk gibi ortak yapısal elemanlara sahiptir. Ayrıca, ZP1 ve ZP4'te "Trefoil domain" de bulunur. Rekombinant/doğal insan zona proteinleri, kapasitasyon geçirmiş ve/veya akrosom reaksiyonu gerçekleştirmiş spermatozoalara bağlanma özelliklerini araştırmak için kullanılmıştır. Bu araştırmalar, ZP1, ZP3 ve ZP4'ün kapasitasyon geçirmiş insan

spermatozoalarının baş bölgesine bağlandığını, ZP2'nin ise akrosom reaksiyonu gerçekleşmiş spermlere bağlandığını ortaya koymuştur. Ancak, transgenik fareler kullanılarak, insan ZP2'nin N-terminal bölgesinin de spermin yumurtaya bağlanmasında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. ZP1, ZP3 ve ZP4, doza bağlı olarak akrosom reaksiyonunda artışa yol açar, bu da insanlarda akrosom reaksiyonunun indüksiyonunda birden fazla ZP glikoproteininin sorumlu olduğunu düşündürmektedir. Bu proteinlerin glikosilasyonu, özellikle N bağlantılı glikozilasyon ve sialil-Lewisx, akrosom reaksiyonunun tetiklenmesi için gereklidir. Akrosom reaksiyonunun indüksiyonuyla ilişkili olan aşağı akış sinyal olaylarını ayrıntılı olarak inceleyen çalışmalar, ZP3 ile ZP1/ZP4 arasında Gi protein-eşleşmiş reseptör ve protein kinaz A'nın aktivasyonu açısından ince farklar ortaya koymuştur. (143). ZP glikoproteinleri, oogenezde, spermlerin oositle takson-spesifik bağlanmasında ve ZP'ye bağlanmış spermlerde akrozom reaksiyonunun (AR) tetiklenmesinde kritik bir rol oynayarak döllenmenin gerçekleşmesine yardımcı olur (144).

Şu ana kadar incelenen tüm euteryan memelilerde, ZP matrisi hem ZP2 hem de ZP3 glikoproteini içerir. Ancak, muhtemelen ortak bir atasal genin çoğalmasıyla oluşan paralog genler tarafından kodlanan ZP1 ve ZP4, tüm euteryan memelilerde bulunmayabilir. Örneğin, insan ZP4 geninin ortologu, fare genomunda, nükleotidlerin mikrodelesyonu sonucu erken bir durdurma kodonunun ortaya çıkmasıyla bir psödogene dönüşmüştür. Dolayısıyla, fare ZP matrisinde işlevsel ZP4 proteini bulunmamaktadır. Benzer şekilde ZP1; köpek ve sığır genomunda bir psödogene olarak tanımlanmıştır (145). İnsan oositleri üzerinde yapılan Yüksek Çözünürlüklü Tarama Elektron Mikroskobu (SEM) çalışmaları, ZP'nin ince, birbirine bağlı filamentlerden oluşan hassas bir ağ yapısında göründüğünü ortaya koymuştur. Geçirimli Elektron Mikroskobu ile gözlemlendiği üzere, filamentler 0.1–0.4 μm uzunluğunda ve 10–14 nm kalınlığındadır (146,147).

2.7.2.2. Glikoprotein Bileşenleri

İnsan ZP matrisinde ZP filamentlerinin kesin düzeni çözülmemiştir. Ancak, ZP glikoproteinlerinin yapısal bilgilerine dayanarak insan ZP için bir üst moleküler yapı önerilmiştir. Bu yapı, ZP3 veya ZP2 ya da ZP4'ün değişiminden oluşan, yaklaşık 14 nm'lik yapısal olarak tekrarlı filamentler içerir. ZP1, ara sıra ZP2/ZP4 yerine dahil

edilir ve filamentler arasında intermoleküler çapraz bağlarla ZP'yi stabilize eder (148). Yakın zamanlarda, ZP filamentlerinin gerçekten ZP1 homodimerleri tarafından çapraz bağlandığı ve böylece kararlı bir matris oluşumu sağladığı gösterilmiştir (149).

2.7.2.3. Ultrastrüktür ve Gözeneklilik

Filamentlerin ağı, zona'nın dış yüzeyinde iç yüzeyine göre daha büyük görünen gözeneklerin oluşumuna yol açar. İnsan ZP'nin ultrastrüktürel sitokimyasal bulguları, insan ZP'sinin dış bölgesinin yaklaşık %25'inin gözenekli bölge ile sınırlı olduğunu, toplam ZP'nin ise %75'inin kompakt bölgeden oluştuğunu öne sürer. Daha büyük gözeneklere sahip amorf süngerimsi dış yüzey, sperm geçirgenliğini kolaylaştırabilir. Daha kompakt ve daha düzgün dış yüzeye sahip insan ZP'nin daha az geçirgen olduğu gösterilmiştir (146). Buna karşılık, ZP morfolojisi ile in vitro döllenme başarısı arasında bir korelasyon gözlemlenmemiştir (150).

2.7.3. Biyolojik İşlevler

2.7.3.1. Oogenez ve Oosit Desteği

Zona pellucida, oogenezin son aşamalarında memeli oositlerinin ve foliküllerin sağlığını ve büyümesini destekler. ZP1–4, memeli oositlerinin büyüme evresinde uygun bir ZP oluşturulması için gerekli olan yapısal proteinlerdir (154).

2.7.3.2. Polispermi Önleme ve Embriyo Koruması

ZP, preimplantasyon embriyolarının dişi üreme sisteminde uterusa doğru ilerlerken korunmasını sağlar. Tek bir spermin oositi fertilize etmesinden kısa bir süre sonra, ZP hem polisperminin önlenmesine yardımcı olmak hem de preimplantasyon embriyolarını dişi üreme sisteminde korumak için fiziksel ve biyolojik değişiklikler geçirir. ZP, blastokist aşamasına kadar preimplantasyon embriyolarını çevreler ve embriyolar ZP'den çıkarak uterusa implante olurlar (144).

2.7.3.3. Fertilizasyon Süreci

2.7.3.3.1. İnsan ZP genleri ve kadın fertilitesi:

Bazı erken bulgular, insan ZP genlerindeki gen dizisi varyasyonları (GSV) ile kadın doğurganlığı arasında bir nedensel ilişki olabileceğini öne sürdü. Örneğin, IVF denemelerinde başarısız olan kadınların ZP1 ve ZP3'lerinde, fertilitesi kanıtlanmış kadınlara kıyasla yaklaşık 1.5 kat daha fazla GSV bulunduğu keşfedilmiştir (151).

ZP1–4, memeli oositlerinin büyüme evresinde uygun bir ZP oluşturulması için gerekli olan yapısal proteinlerdir (151). ZP2-ZP3 dimerleri, ZP1 tarafından çapraz bağlanan uzun fibrilleri oluşturmak üzere polimerize olur ve bu fibriller kalın ECM'yi oluşturur. Farelerde ve insanlarda ZP genleri, farklı kromozomlar üzerinde yer alan tek kopyalı genlerdir ve sadece büyüyen oositlerde ifade edilirler. Farelerde ZP1–3 genlerinin hedeflenmesi ve insanlarda ZP1–3'teki GSV analizleri; ZP1, ZP2 veya ZP3'ün yokluğunun veya oosit büyümesi sırasında ZP1, ZP2 veya ZP3'ün mutasyona uğramış formlarının varlığının kadın fertilitesini ciddi şekilde etkileyebileceğini göstermiştir. Büyüyen oositler etrafında uygun bir ZP'nin oluşturulamaması, infertiliteye yol açabilir (152).

2.7.3.3.2. Blastokist Hatching:

Blastokist hatching erken embriyo gelişimdeki dikkat çekici olaylardan biridir. Normalde, in vivo koşullarda, blastokist hatching fertilizasyon 6 veya 7 gün sonra blastokist endometriuma implantasyon yaparken gerçekleşir. In vitro koşullarda ise, uterus etkilerinden bağımsız olarak gerçekleşir. Embriyo, blastulasyona kadar belirgin bir şekilde inaktif kalır; blastulasyon sırasında kavite oluşur, genişler ve zona pellucidadan çıkar. Embriyo, trofektoderm ile endometrial epitel arasında hücre temasları kurabilmek için implantasyon öncesinde zona pellucidadan çıkmalıdır. Çıkış blastokist evresinde gerçekleşir. Blastokist, gelişim sürecinin ileri aşamalarında zona pellucidayı enzimatik ve mekanik mekanizmalarla inceltip yırtarak bir açıklık meydana getirir ve bu açıklıktan dışarı çıkabilmek için aktif dinamik hareketler yapar. Zona pellucidanın yıkılması, genişleyen blastokistin uyguladığı mekanik basınç ile blastokist tarafından salgılanan litik enzimlerin zona yapısını kimyasal olarak çözmesi sonucunda, iki farklı mekanizmanın eş zamanlı etkisiyle gerçekleşmektedir.

Trofektodermde yer alan spesifik hücreler, litik enzimlerin lokal sekresyonu ile zona pellucida'nın hedeflenmiş bölgelerde çözünmesini sağlayarak blastokistin hatching sürecinde gerekli açıklığın oluşumunu destekler. Trofektoderm hücreleri tarafından salgılanan litik enzimler (serin proteazlar, sistein proteazlar, metalloproteinazlar) türlere göre değişir, ancak insanlarda bu proteazlar tanımlanmamıştır. Blastokist hatching sırasındaki aktif hareketlerin mekanizmaları yeterince araştırılmamıştır; sadece trofektoderm hücrelerinin sitoskletinin ve desmozomların rolü gösterilmiştir.

Blastokist hatchingin başarısız olması büyük ölçüde zona sertlenmesine ve optimal olmayan kültür koşullarına bağlanmıştır. Zona pellucida'nın yumuşatılması veya kısmen uzaklaştırılması amacıyla enzimatik uygulamalar, lazer ablasyonu ve mekanik delme yöntemlerini içeren yardımcı hatching teknikleri, hatching sürecinde güçlük yaşayan blastokistlerin çıkışını kolaylaştırmak amacıyla uygulanmıştır. Ayrıca, ardışık kültür ortamlarının kullanımı, yardımcı üreme tekniklerinde blastosist gelişimini ve gebelik oranlarını artırmaya yönelik bir strateji olarak önerilmektedir (153).

2.7.3.3.3. Hatching mekanizması ve hatching başarısızlığı

İnsanlarda blastokist hatching süreci, 5. günde başlayarak blastokistin genişlemesi ve zona pellucidayı inceltmesiyle karakterizedir. Hacim artışıyla birlikte, sıvı alımı hidrostatik basıncı artırır ve trofoblast hücreleri iç hücre kütlesinden uzakta zona pellucidada bir defekt oluşturur. Defekt genişlerken, trofoblast kademeli olarak çıkar ve 6. günde karakteristik dumbell şeklini alır. Çıkış noktalarında, her iki tarafta bulunan ve 'zona-breaker' hücreler olarak adlandırılan özel hücreler aktif rol oynar; bu hücreler zona ile etkileşen mikrovilluslar, kasılabilir tonofilament demetleri ve lizozomlar ile veziküller salgılar. Normal koşullarda genişleyen blastokistlerde trofoblast hücreleri düz ve sürekli bir epitel tabakası oluştururken, hatching sürecinde bu hücrelerin belirli bir alt grubu kritik bir rol üstlenir (153). Hatching sürecinde, zona pellucida'nın açılmış kenarlarını sfinkter benzeri şekilde çevreleyen hücreler; mikrovilluslar ve kasılabilir tonofilamentlerle donatılmış olup, aynı zamanda zona pellusida ile etkileşime giren lizozomlar ve veziküller salgılar. Bu süreç, hücresel şekil değişiklikleri ve hareketlerin oluşturduğu mekanik kuvvetlerle birlikte kimyasal mekanizmaların eş zamanlı katkısı sonucu meydana gelir. Blastokistler nadiren

embriyonik kutuptan çıkar ve burada da zona-breaker hücreleri rol oynar. Embriyo, hatching sürecinin yarısını tamamladıktan sonra hızla zona pellusidadan ayrılır ve ardında bazı hücresel artıkların bulunduğu boş bir zona pellusida bırakır. Embriyo, zona pellusidadan tamamen ayrıldığında hızla genişleyerek hacimsel bir artış gösterir. Hatching sonrası blastokistlerde trofoblast hücrelerinde genişleme veya büzülme gözlemlenebilir; bununla birlikte, implantasyon sürecini kolaylaştırmak üzere 6. gün civarında gelişen ve hızla çoğalan sinsityotrofoblast dokusu da ayırt edilebilir hale gelir. Hatching başarısızlığı, çeşitli nedenlere bağlanabilir. Fertilizasyon sonrası, zona pellusidanın iç kısmı dış kısmına göre daha kompakt bir yapı kazanır. Ayrıca, 'zona-breaker' hücrelerinin çıkış bölgesinde inaktif kalması, hatching sürecinin duraksamasına yol açabilir (153,154). Trofoblast ile zona pellucida arasında uzamış fragmanlar, hatching sürecini engelleyebilir. Bu fragmanlar, yoğun yuvarlak mitokondriye sahip erken ayrışma evresindeki embriyolardan kaynaklanır; oysa blastokist hücrelerinin mitokondrileri belirgin kristalı olan tübüler yapıdadır. Bu olgu, fragmante embriyoların büyük çoğunluğunun implantasyon gerçekleştirememesinin nedenlerinden biri olabilir. Fragmanlar blastosel kavitesi içinde de yer alabilir; bu durumda implantasyon sonrasında primitif yolk kesesi yapısı içerisinde ortadan kaldırılırlar. Anormal veya dejeneratif morfolojiye sahip, küçük ya da düzensiz iç hücre kitlesi (ICM) bulunan blastokistler, hem genişleme hem de zona pellusidadan çıkış aşamalarında zorluklarla karşılaşmaktadır. Bu blastokistlerde çıkış noktalarında işlevsiz 'zona-breaker' hücreleri ya da dejeneratif hücrelerin varlığı, embriyonun zona pellusidadan çıkışını engellemektedir. (154). Memelilerde implantasyon ve başarılı bir gebelik için gerekli olan koşullar, embriyonun blastosist aşamasına kadar gelişmesi ve hatching sürecinin sorunsuz ilerlemesidir. Zona pellucida'nın bütünlüğünün bozulamaması ve buna bağlı olarak hatching sürecinin tamamlanamaması, implantasyon başarısızlığının başlıca nedenlerinden biri olarak değerlendirilmektedir. ZP kalınlığının, embriyoların ZP'den çıkış süreci ile ilişkili olduğu bildirilmiş olup, implantasyon açısından iyi bir prognoza sahip embriyoların daha ince ZP'ye sahip olduğu bilinmektedir (155).

Toplamda 785 embriyonun değerlendirildiği bir araştırmada, embriyolar ICSI programı kapsamında iki gözlemci tarafından zona pellucida (ZP) kalınlığı açısından ölçülmüş ve iki gruba ayrılmıştır. Grup I, 38 yaş ve üzerindeki (ortalama yaş: 41 ±

2.45) 63 hastadan elde edilen 204 embriyoyu; Grup II ise 38 yaşın altındaki (ortalama yaş: 32.19 ± 3.6) 193 hastadan elde edilen 581 embriyoyu içermektedir. Tüm kadınlar, luteal faz blokajı sonrası (döngünün 21. gününden itibaren) günlük 400 µg dozunda intranazal nafarelin (Synarel) uygulanarak r-FSH (Puregon) ile oosit toplama amacıyla stimüle edilmiştir. Over stimülasyonu için ilk 7 gün boyunca sabit 150–300 IU/gün dozunda r-FSH subkütan olarak verilmiş, 8. günden itibaren ultrason eşliğinde over yanıtına göre dozlar uyarlanmıştır. ZP kalınlığı, embriyo transferi öncesinde 2. günde Eclipse Nikon mikroskop objektifinde Hoffman optikleri kullanılarak mikrometre ölçeğinde dört farklı noktadan ölçülmüştür. Elde edilen veriler, Mann–Whitney testi ile analiz edilmiştir. Bu çalışma, ileri yaştaki kadınlardan (≥38 yaş) elde edilen embriyolar ile daha genç kadınlardan (<38 yaş) elde edilen embriyolar arasında ZP kalınlığı açısından anlamlı farklılıklar olduğunu ortaya koymuştur. Bulgular, ZP kalınlığının kadın yaşı tarafından etkilendiğini göstermekte ve ileri yaştaki hastalarda yardımcı çıkış (assisted hatching) yönteminin uygulanmasını önermektedir.

2.7.4. Zona Pellusida Kalınlığını Etkileyen Faktörler

Zona pellucida (ZP) kalınlığı, üreme başarısının önemli bir belirleyicisi olarak, oositin gelişimsel evreleri, genetik faktörler, fertilizasyon sonrası biyokimyasal değişiklikler ve çevresel koşulların çok yönlü etkileşimiyle şekillenir.Genetik faktörler bu süreçte belirleyicidir; ZP glikoproteinlerini kodlayan genlerin (örneğin ZP1, ZP2, ZP3, ZP4) ekspresyonundaki varyasyonlar türler arası kalınlık farklılıklarının ve bireysel anomalilerin temelini oluşturur. Bu genlerdeki mutasyonlar, ZP'nin yapısal bütünlüğünü bozarak infertiliteye yol açabilir. Fertilizasyon sonrası gerçekleşen sertleşme mekanizmaları da ZP yapısını modüle eder; kortikal granüllerden salınan enzimler özellikle **ovastacin** aracılığıyla ZP'nin polispermiye karşı bariyer işlevini güçlendirir.

Yaşın ilerlemesiyle birlikte ZP'de yapısal değişiklikler gözlenebilir; ayrıca çevresel faktörler, örneğin kültür ortamı koşulları veya toksinler, ZP'nin kompozisyonunu ve işlevini etkileyebilir.ZP kalınlığını ve yapısını düzenleyen bu moleküler ve çevresel faktörlerin anlaşılması, fertilite bozukluklarının altında yatan mekanizmaları açıklamak ve yardımcı üreme teknolojilerinde daha etkili stratejiler geliştirmek açısından önemlidir (156).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Tasarımı

Prospektif gözlemsel çalışma

3.2. Çalışma Yeri ve Zamanı

Bu çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi (SBÜ) Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, Türkiye'de 2024-2025 tarihleri arasında prospektif olarak IVF/ICSI tedavisi görmesi planlanan kadın hastalar üzerinde gerçekleştirildi

3.3. Çalışma Popülasyonu

Çalışma, infertilite tedavisinde yaş faktörünün zona pellusida kalınlığına etkilerini ve zona pellusida kalınlığının IVF başarısı üzerindeki etkisini değerlendirmeyi amaçladı. Çalışmaya katılan hastalar, yaşlarına göre iki gruba ayrıldı: 35 yaş altı grup (Grup 1, n=128) ve 35 yaş üstü grup (Grup 2, n=128). Toplam 256 hasta, randomize bir şekilde seçilerek çalışmaya dahil edildi. Hasta seçimi, klinik hasta havuzundan yaş ve infertilite nedenine göre sistematik bir yaklaşımla yapıldı.

Dahil edilme kriterleri şu şekilde belirlendi: (i) primer veya sekonder düşük over rezervi nedenli infertilite tanısı almış olmak (AMH değerleri ve antral folikül sayısına göre değerlendirildi), (ii) ICSI prosedürüne uygunluk (klinik değerlendirme ve hormon profiline göre), (iii) tam tıbbi kayıtların mevcut olması (hormon testleri, ultrason raporları ve geçmiş tedavi öyküsü), (iv) yaş aralığının 21-46 arasında olması (çalışmanın yaş bazlı analiz hedefleri doğrultusunda). Bu kriterler, çalışmanın homojen bir hasta grubuyla yürütülmesini sağlamak için titizlikle uygulandı.

Dışlama kriterleri ise şu şekilde sıralandı: (i) enflamasyon nedenli geçirilmiş batın cerrahisi öyküsü (pelvik adezyon riskini artırabileceği için), (ii) kronik hastalık varlığı (diyabet, hipertansiyon gibi sistemik durumlar hormonal dengeyi etkileyebileceği için), (iii) kronik ilaç kullanımı (örneğin, kortikosteroidler veya antidepresanlar), (iv) sigara, alkol veya yasa dışı madde kullanımı (yumurta kalitesini etkileyebileceği için), (v) işlevselliği bozacak psikiyatrik hastalık öyküsü (tedavi uyumunu zorlaştırabileceği için), (vi) 21 yaş altı veya 46 yaş üstü olmak (çalışma yaş

aralığı dışında kalanlar), (vii) polikistik over sendromu (PCOS) öyküsü (hormonal düzensizlik nedeniyle), (viii) erkek faktörlü infertilite tanısı (çalışmanın kadın odaklı tasarımı gereği). Bu dışlama kriterleri, çalışmanın sonuçlarının yalnızca kadın kaynaklı faktörlere odaklanmasını sağlamak amacıyla belirlendi.

Hasta verileri, klinik etik kurulundan onay alındıktan sonra toplandı. Tüm katılımcılar, çalışmanın amacı, prosedürleri ve olası riskleri hakkında detaylı bir şekilde bilgilendirildi ve yazılı onam formu imzaladı. Veriler, hasta gizliliğini korumak amacıyla anonimleştirilerek analiz edildi.

3.4. VERI TOPLAMA

Çalışmada temel materyal olarak insan oositleri kullanıldı. Oositlerin toplanması için transvajinal ultrason eşliğinde aspirasyon iğneleri tercih edildi; bu iğneler, minimal invaziv yapıları ve yüksek başarı oranları nedeniyle seçildi. Zona pellusida kalınlığı ölçümleri, Olympus IX53 invert mikroskop (Olympus Corporation, Japonya) ile donatılmış bir sistem kullanılarak gerçekleştirildi. Zona pellusida kalınlığı, ICSI işlemi öncesinde elde edilen mikroskopik görüntüler üzerinden üç farklı bölgede (yaklaşık 0°, 120° ve 240° açılarında) iç ve dış sınırlar arasındaki mesafenin ölçülmesiyle belirlenmiştir.. Her bir oosite ait üç ölçümün aritmetik ortalaması, o oosite ait ortalama zona pellusida kalınlığı olarak değerlendirilmiştir. Bu yöntem, Marco-Jiménez ve ark. tarafından tanımlanan "üç farklı noktadan ölçüm alınıp ortalamasının alınması" yaklaşımı ile paraleldir (Marco-Jiménez et al., 2012). Bu sistem, Olympus DP22:1 kamera, Olympus DP2-SAL bağlantı kiti ve Olympus DPE-BSW Ver3.3.1.1.198 yazılımını içeriyordu; bu ekipmanlar, yüksek çözünürlüklü görüntüleme ve hassas ölçüm kabiliyeti sağladı.

ICSI prosedürü için mikroenjeksiyon pipetleri ve hyaluronidaz enzimi içeren Vitrolife kültür medyumları kullanıldı. IVF başarısının değerlendirilmesinde embriyo gelişimi, standart inkübatörlerde (Heracell 150i, Thermo Scientific, ABD) izlendi; bu inkübatörler, sabit 37°C sıcaklık ve %5 CO2 ortamı sağlayarak embriyo kültürü için ideal koşullar sundu. Ayrıca, hormon preparatları ve diğer laboratuvar sarf malzemeleri (petri kapları, santrifüj tüpleri vb.) çalışma süresince standart klinik protokollere uygun olarak temin edildi.



Şekil 3: Mikroskop altında zona pellusida kalınlık ölçümü
(Görüntü kendi laboratuvarımızdan 56 no'lu hastaya ait bir örnektir. Hastadan izin alınmıştır.)

3.4.1. Oosit Toplama ve Hazırlık

Hastalar, standart kontrollü over stimulasyonu (COS) protokolü ile tedavi edildi. Bu protokol, ovaryan yanıtın optimize edilmesi ve yeterli sayıda olgun oosit elde edilmesi amacıyla tasarlandı. Tedavi, rekombinant folikül stimüle edici hormon (FSH) (Gonal-F, Merck, Almanya) ile başlatıldı; dozaj, hastanın yaşına, AMH seviyesine ve antral folikül sayısına göre bireysel olarak ayarlandı (genellikle 150-300 IU/gün). Folikül gelişimi, transvajinal ultrason ile günlük olarak takip edildi ve östradiol (E2) düzeyleri kan testleriyle izlendi. Folikül büyümesi inhibe edilerek erken ovulasyon önlendiği için GnRH antagonisti (Cetrotide, Merck, Almanya) eklendi. Folikül çapı en az 17 mm'ye ulaştığında, ovulasyonu tetiklemek için 5000 veya 10.000 IU rekombinant hCG (Ovitrelle, Merck, Almanya) intramüsküler olarak enjekte edildi; doz, folikül sayısına ve hastanın yanıtına göre belirlendi.

Oositler, hCG uygulamasından 36 saat sonra transvajinal ultrason rehberliğinde toplandı. Toplama işlemi, sedasyon altında gerçekleştirildi ve her folikülden aspire edilen sıvı, laboratuvar ortamında hemen incelendi. Toplanan oositler, hyaluronidaz enzimi ile kümülüs hücrelerinden arındırıldı; bu işlem, oositlerin yüzeyindeki granüloza hücrelerini temizleyerek ICSI için uygun hale getirilmesini sağladı. Mikroskop altında yapılan değerlendirme sonucu, yalnızca metafaz II (MII) aşamasındaki oositler (polar cisimciği görülenler) ICSI prosedürü için seçildi.

3.4.2. Zona Pellusida Kalınlığı Ölçümü

Zona pellusida kalınlığı, ICSI işleminden hemen önce her bir oosit için mikroskop altında ölçüldü. Ölçüm, oositin ekvator bölgesinde üç farklı noktadan yapıldı; bu noktalar, oositin homojen bir kesitini temsil edecek şekilde seçildi. Görüntüleme, Olympus IX53 invert mikroskop ile 400x büyütme seviyesinde gerçekleştirildi. Ölçümler, Olympus DPE-BSW Ver3.3.1.1.198 yazılımı kullanılarak mikrometre (µm) cinsinden kaydedildi. Her ölçüm, iki bağımsız gözlemci tarafından ayrı ayrı doğrulandı; gözlemciler arasındaki fark %5'ten büyükse, oosit tekrar ölçülerek tutarsızlıklar giderildi. Bu yöntem, ölçümlerin güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliğini artırmak için tercih edildi.

3.4.3. ICSI ve Embriyo Kültürü

ICSI prosedürü, standart tekniklere uygun olarak mikromanipülatör ile gerçekleştirildi.. Sperm seçimi, hareketlilik ve morfoloji kriterlerine göre yapıldı; immobilizasyon sonrası tek bir sperm, oositin sitoplazmasına enjekte edildi. Fertilizasyon oranı, enjeksiyondan 16-18 saat sonra pronükleus (2PN) oluşumuyla değerlendirildi. Fertilizasyon başarısı, her gruptaki oositlerin yüzdesi olarak hesaplandı. Embriyolar, 5. güne kadar (blastosist aşaması) G-1 ve G-2 sıralı kültür medyumlarında (Vitrolife, İsveç) inkübe edildi. Kültür ortamı, embriyo gelişimini desteklemek için 37°C sıcaklık, %5 CO2 ve %95 nem oranında tutuldu. Embriyo kalitesi, ESHRE İstanbul 2011 Consensusu'na göre belirlendi; bu sistem, blastosistlerin iç hücre kütlesi ve trofektoderm kalitesini derecelendirerek transfer için en uygun embriyoların seçilmesini sağladı.

3.4.4. IVF Başarı Kriterleri

IVF başarısı, dört ana parametreyle değerlendirildi: (i) fertilizasyon oranı (% olarak, 2PN oluşumuyla hesaplandı), (ii) blastosist oluşum oranı (5. gün blastosistine ulaşan embriyoların yüzdesi), (iii) konsepsiyon oranı (embriyo transferinden 12 gün sonra venöz kanda beta-hCG seviyesinin 5.8 mIU/mL'den yüksek olması), (iv) klinik gebelik oranı (transvajinal ultrason ile gebelik kesesi tespiti). Gebelik sonuçları, transfer sonrası 12. günden itibaren takip edildi; bu süreçte kimyasal gebelik (yalnızca

beta-hCG pozitifliği), klinik gebelik (ultrasonla doğrulanan) ve abortus oranları ayrı ayrı kaydedildi. Takip, gebeliğin 14. haftasına kadar sürdürüldü.

3.5. İSTATISTIKSEL ANALIZ

Sürekli değişkenlerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum değerler; kategorik değişkenlerin tanımlanmasında ise frekans (n) ve yüzde (%) değerleri verilmiştir. Değişkenlerin normallik varsayımları Kolmogorov Smirnov ve Shapiro-Wilk test ile incelenmiştir. Normal dağılım göstermeyen sürekli değişkenlerin iki grup arasında karşılaştırılmasında Mann–Whitney U testi; normallik varsayımının karşılandığı durumlarda ise ikili gruplarda Bağımsız Örneklemlerde t test (Independent samples t test) kullanılmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Ki kare/Fisher exact analizi ile, sürekli değişkenler arasındaki ilişkiler ise normallik varsayımları karşılanmadığı için Spearman (Spearman's rho) korelasyon analizi ile incelenmiştir. Bütün analizlerde IBM SPSS.25 programı kullanılmış ve anlamlılık düzeyi olarak $p< 0.05$ değeri kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya 35 yaş altı düşük over rezervi olan 117 (%45,9) 35 yaş üstü düşük over rezervi olan 138 (%54,1) olmak üzere toplam 255 hasta dahil edildi. 214 (%83,9) hastanın infertilite tipi primerdi. 67 (%26,3) hastaya transfer yapılmamış, 188 (%73,7) hastaya transfer yapılmıştı. 140 (%77,3) hastanın beta hcg değeri negatifti, 35 (%87,5) hastada gestasyonel kese izlenmişti, 98 (%52,7) hastaya lazer uygulanmıştı, 245 (%96,1) hastada operasyon yoktu. 26 (%86,7) hastada birinci trimester abortus yoktu. Oosit ivf sonuçları incelendiğinde fertilizasyon başarısızlığı oranları birincide 85 (%33,7), ikincide 70 (%33,5), üçüncüde 55 (%38,7), dördüncüde 36 (%36,0), beşincide 24 (%31,2), altıncıda 20 (%35,7), yedincide 13 (%34,2), sekizincide 6 (%27,3), dokuzuncuda 7 (%43,8) ve onuncuda 2'di (%18,2).

Tablo 4: Hastaların medikal ve sosyodemografik özelliklerinin sıklık ve yüzde değerleri

Parametreler	**Frekans**	**Yüzde**
Grup		
35 yaş altı düşük over rezervi	117	45,9
35 yaş üstü düşük over rezervi	138	54,1
İnfertilite tipi		
Primer infertilite	214	83,9
Sekonder infertilite	41	16,1
Transfer durumu		
Transfer yok	67	26,3
Transfer var	188	73,7
Transfer durumu		
Transfer yok	67	26,3
İkinci gün transfer	32	12,5
Üçüncü gün transfer	100	39,2
Dördüncü gün transfer	33	12,9
Beşinci gün transfer	23	9,0
Beta hcg pozitifliği		
Beta hcg negatif	140	77,3
Beta hcg pozitif	41	22,7
Toplam	181	100,0

Gestasyonel sac		
Gestasyonel kese izlenmeyen	5	12,5
Gestasyonel kese izlenen	35	87,5
Toplam	40	100,0
Lazer uygulaması		
Lazer uygulanmamış	88	47,3
Lazer uygulanmış	98	52,7
Toplam	186	100,0
Operasyon		
Yok	245	96,1
Var	10	3,9
Birinci trimester abortus		
Abortus yok	26	86,7
Abortus var	4	13,3
Toplam	30	100,0
Birinci oosit ivf sonucu		
Fertilizasyon başarısızlığı	85	33,7
Kötü embriyo gelişimi	72	28,6
İkinci gün transfer	22	8,7
Üçüncü gün transfer	50	19,8
Dördüncü gün transfer	14	5,6
Beşinci gün transfer	9	3,6
Toplam	252	100,0
İkinci oosit ivf sonucu		
Fertilizasyon başarısızlığı	70	33,5
Kötü embriyo gelişimi	88	42,1
İkinci gün transfer	12	5,7
Üçüncü gün transfer	32	15,3
Dördüncü gün transfer	4	1,9
Beşinci gün transfer	3	1,4
Toplam	209	100,0
Üçüncü oosit ivf sonucu		
Fertilizasyon başarısızlığı	55	38,7
Kötü embriyo gelişimi	59	41,5
İkinci gün transfer	5	3,5
Üçüncü gün transfer	10	7,0
Dördüncü gün transfer	6	4,2

Beşinci gün transfer	7	4,9
Toplam	142	100,0
Dördüncü oosit ivf sonucu		
Fertilizasyon başarısızlığı	36	36,0
Kötü embriyo gelişimi	38	38,0
İkinci gün transfer	3	3,0
Üçüncü gün transfer	11	11,0
Dördüncü gün transfer	8	8,0
Beşinci gün transfer	4	4,0
Toplam	100	100,0
Beşinci oosit ivf sonucu		
Fertilizasyon başarısızlığı	24	31,2
Kötü embriyo gelişimi	36	46,8
İkinci gün transfer	1	1,3
Üçüncü gün transfer	9	11,7
Dördüncü gün transfer	3	3,9
Beşinci gün transfer	4	5,2
Toplam	77	100,0
Altıncı oosit ivf sonucu		
Fertilizasyon başarısızlığı	20	35,7
Kötü embriyo gelişimi	31	55,4
İkinci gün transfer	1	1,8
Üçüncü gün transfer	1	1,8
Dördüncü gün transfer	2	3,6
Beşinci gün transfer	1	1,8
Toplam	56	100,0
Yedinci oosit ivf sonucu		
Fertilizasyon başarısızlığı	13	34,2
Kötü embriyo gelişimi	19	50,0
İkinci gün transfer	1	2,6
Üçüncü gün transfer	4	10,5
Beşinci gün transfer	1	2,6
Toplam	38	100,0
Sekizinci oosit ivf sonucu		
Fertilizasyon başarısızlığı	6	27,3
Kötü embriyo gelişimi	15	68,2
Üçüncü gün transfer	1	4,5

Toplam	22	100,0
Dokuzuncu oosit ivf sonucu		
Fertilizasyon başarısızlığı	7	43,8
Kötü embriyo gelişimi	8	50,0
Dördüncü gün transfer	1	6,3
Toplam	16	100,0
Onuncu oosit ivf sonucu		
Fertilizasyon başarısızlığı	2	18,2
Kötü embriyo gelişimi	5	45,5
Üçüncü gün transfer	2	18,2
Dördüncü gün transfer	1	9,1
Beşinci gün transfer	1	9,1
Toplam	11	100,0

Tablo 5'de hastaların medikal ve sosyodemografik özelliklerinin ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum değerleri gösterilmiştir. Bütün hastaların yaş ortalaması 35,53 ± 5,44, boy ortalaması 162,13 ± 10,91, ağırlık ortalaması 66,69 ± 11,85, IVF deneme sayısı ortalaması 1,65 ± 0,95 olarak bulundu.

Gravida, parite, abortus, infertilite süresi ortalamaları sırasıyla 0,35 ± 0,81, 0,08 ± 0,27, 0,25 ± 0,72 ve 3,35 ± 2,82 olarak bulundu.

Foliküler stimülan hormon, lüteinizan hormon, estradiol, prolaktin, tiroid stimülan hormon ve anti-müllerian hormon ortalaması sırasıyla 9,37 ± 5,2, 6,8 ± 4,37, 52,04 ± 52,94, 17,61 ± 5,82, 2,19 ± 0,5 ve 0,57 ± 0,31 olarak bulundu.

Folikül sayısı, toplanan yumurta sayısı, metafaz 2 oosit sayısı, ivf denemesi sonucu abortus sayısı, matür oosit yüzdesi, fertilize olan oosit sayısı ve fertilize oosit oranı ortalaması sırasıyla 5,4 ± 3,03, 4,93 ± 3,06, 3,63 ± 2,42, 0,05 ± 0,23, 77,14 ± 21,98, 2,36 ± 1,98 ve 65,02 ± 33,36 olarak bulundu.

Sırasıyla birinci, ikinci, üçüncü, dördüncü ve beşinci oosit zona pellucida kalınlığı ortalamaları 37,69 ± 6,11, 37,83 ± 5,97, 37,58 ± 5,56, 37,67 ± 4,64 ve 38,31 ± 6,03 olarak bulundu.

Sırasıyla altıncı, yedinci, sekizinci, dokuzuncu ve onuncu oosit zona pellucida kalınlığı ortalamaları 36,87 ± 5,33, 38,48 ± 5,63, 38,43 ± 6,02,38,94 ± 6,92 ve 37,15 ± 4,46 olarak bulundu.

Tablo 5: Hastaların medikal ve sosyodemografik özelliklerinin ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum değerleri

		Ort. ± SS.	**Medyan (Min. - Maks.)**
Yaş	255	35,53 ± 5,44	37 (22 - 46)
Boy	254	162,13 ± 10,91	163 (15 - 178)
Ağırlık	254	66,69 ± 11,85	65 (40 - 110)
Ivf deneme sayısı	255	1,65 ± 0,95	1 (1 - 9)
Gravida sayısı	255	0,35 ± 0,81	0 (0 - 5)
Parite sayısı	255	0,08 ± 0,27	0 (0 - 1)
Abortus sayısı	255	0,25 ± 0,72	0 (0 - 5)
İnfertilite süresi	254	3,35 ± 2,82	2,75 (1 - 20)
Foliküler stimülan hormon	255	9,37 ± 5,2	8 (0,2 - 43)
Lüteinizan hormon	126	6,8 ± 4,37	5,8 (1,8 - 37)
Estradiol	254	52,04 ± 52,94	40 (2,1 - 491)
Prolaktin	255	17,61 ± 5,82	18,4 (2,7 - 49,7)
Tiroid stimülan hormon	255	2,19 ± 0,5	2,38 (0,83 - 2,9)
Anti-müllerian hormon	255	0,57 ± 0,31	0,55 (0,01 - 1,47)
Folikül sayısı	250	5,4 ± 3,03	5 (1 - 16)
Toplanan yumurta sayısı	253	4,93 ± 3,06	4 (1 - 14)
Metafaz 2 oosit sayısı	254	3,63 ± 2,42	3 (1 - 10)
İvf denemesi sonucu abortus sayısı	251	0,05 ± 0,23	0 (0 - 2)
Matür oosit yüzdesi	254	77,14 ± 21,98	77 (9 - 100)
Fertilize olan oosit sayısı	255	2,36 ± 1,98	2 (0 - 10)
Fertilize oosit oranı	253	65,02 ± 33,36	66 (0 - 100)
Birinci oosit zona pellucida kalınlığı	255	37,69 ± 6,11	37,43 (20 - 56,3)
İkinci oosit zona pellucida kalınlığı	214	37,83 ± 5,97	37,58 (21,45 - 58,01)
Üçüncü oosit zona pellucida kalınlığı	143	37,58 ± 5,56	37,31 (21,3 - 53,48)
Dördüncü oosit zona pellucida kalınlığı	100	37,67 ± 4,64	37,06 (28,48 - 51,33)
Beşinci oosit zona pellucida kalınlığı	76	38,31 ± 6,03	37,67 (24,22 - 58,33)
Altıncı oosit zona pellucida kalınlığı	56	36,87 ± 5,33	37,5 (23,66 - 50,66)
Yedinci oosit zona pellucida kalınlığı	38	38,48 ± 5,63	37,68 (28,33 - 51,6)
Sekizinci oosit zona pellucida kalınlığı	24	38,43 ± 6,02	37,2 (30,1 - 50,6)
Dokuzuncu oosit zona pellucida kalınlığı	15	38,94 ± 6,92	37,62 (28,8 - 60,66)
Onuncu oosit zona pellucida kalınlığı	11	37,15 ± 4,46	38,54 (28,69 - 41,43)

Tablo 6'te ise 35 yaş altı ve üstü düşük over rezerve sahip hastalar arasında bazı parametrelerin sıklık ve yüzdesinin karşılaştırılması gösterilmiştir. Grup türü ile infertilite tipi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ve 35 yaş altı düşük over rezervi hastalarda sekonder infertilite olan hastaların oranı (%11,10) 35 yaş üstü düşük over rezervi olan hastalara göre (%20,30) anlamlı olarak daha düşük bulundu p=,047.

Grup türü ile beta hcg pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ve 35 yaş altı düşük over rezervi hastalarda beta hcg pozitif olan hastaların oranı (%31,40) 35 yaş üstü düşük over rezervi olan hastalara göre (%14,70) anlamlı olarak daha yüksek bulundu p=,007.

Grup türü ile lazer uygulaması arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ve 35 yaş altı düşük over rezervi hastalarda lazer uygulanan hastaların oranı (%35,90) 35 yaş üstü düşük over rezervi olan hastalara göre (%69,10) anlamlı olarak daha düşük bulundu p<,001.

Tablo 6: 35 yaş altı ve üstü düşük over rezerve sahip hastalar arasında bazı parametrelerin sıklık ve yüzdesinin karşılaştırılması

	Grup				**p**
	35 yaş altı düşük over rezervi		**35 yaş üstü düşük over rezervi**		
	n	**%**	**n**	**%**	
İnfertilite tipi*					,047
Primer infertilite	104	88,90	110	79,70	
Sekonder infertilite	13	11,10	28	20,30	
Transfer durumu*					,103
Transfer yok	25	21,40	42	30,40	
İkinci gün transfer	13	11,10	19	13,80	
Üçüncü gün transfer	48	41,00	52	37,70	
Dördüncü gün transfer	15	12,80	18	13,00	
Beşinci gün transfer	16	13,70	7	5,10	
Beta hcg pozitifliği*					,007
Beta hcg negatif	59	68,60	81	85,30	
Beta hcg pozitif	27	31,40	14	14,70	
Gestasyonel sac**					,322
Gestasyonel kese izlenmeyen	2	7,70	3	21,40	
Gestasyonel kese izlenen	24	92,30	11	78,60	

Lazer uygulaması					<.001
Lazer uygulanmamış	59	64,10	29	30,90	
Lazer uygulanmış	33	35,90	65	69,10	
Operasyon					,114
Yok	115	98,30	130	94,20	
Var	2	1,70	8	5,80	
Birinci trimester abortus					,563
Abortus yok	19	90,50	7	77,80	
Abortus var	2	9,50	2	22,20	
Birinci oosit ivf sonucu					-
Fertilizasyon başarısızlığı	37	32,50	48	34,80	
Kötü embriyo gelişimi	42	36,80	30	21,70	
İkinci gün transfer	9	7,90	13	9,40	
Üçüncü gün transfer	20	17,50	30	21,70	
Dördüncü gün transfer	2	1,80	12	8,70	
Beşinci gün transfer	4	3,50	5	3,60	
İkinci oosit ivf sonucu					-
Fertilizasyon başarısızlığı	30	30,30	40	36,40	
Kötü embriyo gelişimi	51	51,50	37	33,60	
İkinci gün transfer	4	4,00	8	7,30	
Üçüncü gün transfer	10	10,10	22	20,00	
Dördüncü gün transfer	1	1,00	3	2,70	
Beşinci gün transfer	3	3,00	0	0,00	
Üçüncü oosit ivf sonucu					
Fertilizasyon başarısızlığı	29	37,20	26	40,60	
Kötü embriyo gelişimi	36	46,20	23	35,90	
İkinci gün transfer	2	2,60	3	4,70	
Üçüncü gün transfer	3	3,80	7	10,90	
Dördüncü gün transfer	4	5,10	2	3,10	
Beşinci gün transfer	4	5,10	3	4,70	
Dördüncü oosit ivf sonucu					-
Fertilizasyon başarısızlığı	21	34,40	15	38,50	
Kötü embriyo gelişimi	24	39,30	14	35,90	
İkinci gün transfer	2	3,30	1	2,60	
Üçüncü gün transfer	8	13,10	3	7,70	
Dördüncü gün transfer	5	8,20	3	7,70	
Beşinci gün transfer	1	1,60	3	7,70	
Beşinci oosit ivf sonucu					-
Fertilizasyon başarısızlığı	12	24,50	12	42,90	
Kötü embriyo gelişimi	26	53,10	10	35,70	
İkinci gün transfer	0	0,00	1	3,60	

Üçüncü gün transfer	4	8,20	5	17,90	
Dördüncü gün transfer	3	6,10	0	0,00	
Beşinci gün transfer	4	8,20	0	0,00	
Altıncı oosit ivf sonucu					-
Fertilizasyon başarısızlığı	13	35,10	7	36,80	
Kötü embriyo gelişimi	22	59,50	9	47,40	
İkinci gün transfer	0	0,00	1	5,30	
Üçüncü gün transfer	0	0,00	1	5,30	
Dördüncü gün transfer	1	2,70	1	5,30	
Beşinci gün transfer	1	2,70	0	0,00	
Yedinci oosit ivf sonucu					-
Fertilizasyon başarısızlığı	9	33,30	4	36,40	
Kötü embriyo gelişimi	15	55,60	4	36,40	
İkinci gün transfer	0	0,00	1	9,10	
Üçüncü gün transfer	2	7,40	2	18,20	
Beşinci gün transfer	1	3,70	0	0,00	
Sekizinci oosit ivf sonucu					-
Fertilizasyon başarısızlığı	4	28,60	2	25,00	
Kötü embriyo gelişimi	9	64,30	6	75,00	
Üçüncü gün transfer	1	7,10	0	0,00	
Dokuzuncu oosit ivf sonucu					-
Fertilizasyon başarısızlığı	3	30,00	4	66,70	
Kötü embriyo gelişimi	6	60,00	2	33,30	
Dördüncü gün transfer	1	10,00	0	0,00	
Onuncu oosit ivf sonucu					-
Fertilizasyon başarısızlığı	1	14,30	1	25,00	
Kötü embriyo gelişimi	5	71,40	0	0,00	
Üçüncü gün transfer	1	14,30	1	25,00	
Dördüncü gün transfer	0	0,00	1	25,00	
Beşinci gün transfer	0	0,00	1	25,00	
*Ki kare test; **Fisher's Exact test					

Tablo 7'te ise 35 yaş altı ve üstü düşük over rezerve sahip hastalar arasında bazı parametrelerin ortalama, standart sapma, medyan, minumum ve maksimum değerlerinin karşılaştırılması gösterilmiştir. 35 yaş altı düşük over rezerve sahip hastaların yaş (p<,001), prolaktin (p=,022), anti-müllerian hormon (p<,001) ve fertilize olan oosit sayısı (p<,001) 35 yaş üstü düşük over rezervi olan hastalara göre anlamlı olarak daha düşük bulundu.

Ayrıca, 35 yaş altı düşük over rezerve sahip hastaların infertilite süresi (p<,001), folikül sayısı (p<,001), toplanan yumurta sayısı (p<,001), metafaz 2 oosit sayısı (p<,001) 35 yaş üstü düşük over rezervi olan hastalara göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu.

Buna karşın, 35 yaş altı düşük over rezerve sahip hastalar ile 35 yaş üstü düşük over rezerve sahip hastalar arasında zona pellucida kalınlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p>,05).

Tablo 7: 35 yaş altı ve üstü düşük over rezerve sahip hastalar arasında bazı parametrelerin ortalama, standart sapma, medyan, minumum ve maksimum değerlerinin karşılaştırılması.

	35 yaş altı düşük over rezervi		**35 yaş üstü düşük over rezervi**		
	Ort.±SS.	**Medyan (Min. - Mak.)**	**Ort.±SS.**	**Medyan (Min. - Mak.)**	**P**
Yaş*	30,51 ± 3,07	31 (22 - 40)	36,4 ± 4,88	38,54 (28,69 - 41,38)	<,001
Boy*	161,97 ± 15,11	163,5 (15 - 178)	39,79 ± 2,67	39 (32 - 46)	,195
Ağırlık*	66,12 ± 11,77	64,5 (40 - 98)	162,26 ± 5,28	163 (150 - 178)	,419
Ivf deneme sayısı*	1,52 ± 0,78	1 (1 - 5)	67,16 ± 11,93	65 (46 - 110)	,063
Gravida sayısı*	0,25 ± 0,61	0 (0 - 3)	1,75 ± 1,06	1 (1 - 9)	,125
Parite sayısı*	0,05 ± 0,22	0 (0 - 1)	0,43 ± 0,94	0 (0 - 5)	,138
Abortus sayısı*	0,16 ± 0,51	0 (0 - 3)	0,1 ± 0,3	0 (0 - 1)	,150
İnfertilite süresi*	2,53 ± 1,63	2 (1 - 12)	0,32 ± 0,85	0 (0 - 5)	<,001
Foliküler stimülan hormon*	9,03 ± 4,04	8,2 (0,2 - 30)	4,04 ± 3,38	3 (1 - 20)	,794
Lüteinizan hormon*	6,9 ± 5,12	5,8 (1,92 - 37)	9,65 ± 6,01	8 (2 - 43)	,824
Estradiol*	48,53 ± 51,78	39 (2,1 - 423)	6,72 ± 3,64	5,8 (1,8 - 20)	,182
Prolaktin*	18,5 ± 5,98	20 (2,7 - 49,7)	55,05 ± 53,93	41 (5 - 491)	,022

Tiroid stimülan hormon*	2,19 ± 0,49	2,3 (0,83 - 2,8)	16,85 ± 5,59	17,25 (3,4 - 33)	,567
Anti-müllerian hormon*	0,64 ± 0,27	0,64 (0,02 - 1,19)	2,19 ± 0,52	2,4 (0,9 - 2,9)	<,001
Folikül sayısı*	6,51 ± 3,01	7 (1 - 16)	0,51 ± 0,32	0,43 (0,01 - 1,47)	<,001
Toplanan yumurta sayısı*	5,89 ± 3,23	6 (1 - 14)	4,49 ± 2,73	4 (1 - 14)	<,001
Metafaz 2 oosit sayısı*	4,29 ± 2,57	4 (1 - 10)	4,13 ± 2,67	4 (1 - 14)	<,001
İvf denemesi sonucu abortus sayısı*	0,05 ± 0,22	0 (0 - 1)	3,07 ± 2,15	2 (1 - 10)	,601
Matür oosit yüzdesi*	76,52 ± 22,01	78,5 (9 - 100)	0,04 ± 0,24	0 (0 - 2)	,660
Fertilize olan oosit sayısı*	2,87 ± 2,14	2 (0 - 10)	77,67 ± 22,01	76,5 (25 - 100)	<,001
Fertilize oosit oranı*	65,79 ± 31,76	66 (0 - 100)	1,93 ± 1,72	2 (0 - 10)	,948
Birinci oosit zona pellucida kalınlığı**	38,22 ± 6,11	37,91 (23,73 - 56,3)	64,36 ± 34,76	66 (0 - 100)	,203
İkinci oosit zona pellucida kalınlığı**	37,55 ± 5,78	37,32 (21,45 - 56,66)	37,24 ± 6,09	36,61 (20 - 52,33)	,509
Üçüncü oosit zona pellucida kalınlığı**	37,91 ± 5,52	37,78 (23,71 - 53,48)	38,1 ± 6,17	37,68 (23,63 - 58,01)	,430
Dördüncü oosit zona pellucida kalınlığı**	37,36 ± 4,98	36,45 (28,48 - 51,33)	37,17 ± 5,62	37,13 (21,3 - 50,66)	,409
Beşinci oosit zona pellucida kalınlığı*	38,93 ± 6,7	37,75 (24,22 - 58,33)	38,15 ± 4,05	37,95 (28,79 - 46,14)	,539
Altıncı oosit zona pellucida kalınlığı**	37,35 ± 5,25	37,75 (28,54 - 50,66)	37,24 ± 4,58	37,6 (27,2 - 47,82)	,352
Yedinci oosit zona pellucida kalınlığı**	38,74 ± 5,75	37,89 (28,93 - 51,6)	35,93 ± 5,5	37,29 (23,66 - 43,48)	,659
Sekizinci oosit zona pellucida kalınlığı**	39,08 ± 5,82	37,56 (30,26 - 50,6)	37,83 ± 5,56	37,47 (28,33 - 47,14)	,470
Dokuzuncu oosit zona pellucida kalınlığı*	39,25 ± 8,89	36,18 (28,8 - 60,66)	37,14 ± 6,6	34,91 (30,1 - 50,03)	,680
Onuncu oosit zona pellucida kalınlığı**	36,4 ± 4,88	38,54 (28,69 – 41,38)	38,47 ± 2,7	38,5 (34,95 – 41,51)	,495
*Mann Whitney test; **Bağımsız Örneklemlerde t test					

Tablo 8'de 35 yaş altı düşük over rezerve sahip hastalarda beta-hcg pozitif ve negatif hastaların, gestasyonel kese izlenmeyen ve izlenen hastaların, ilk trimester abort yok ve var hastaların ZP kalınlığı karşılaştırılması gösterilmiştir. Her ne kadar beta-hcg pozitif hastaların negatif hastalara göre, gest saç izlenen hastaların izlenmeyen hastalara göre ve ilk trimester abort olan hastaların olmayanlara göre ZP kalınlığı daha yüksek olsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>.05).

Tablo 8: 35 yaş altı düşük over rezerve sahip hastalarda beta-hcg pozitif ve negatif hastaların, gestasyonel kese izlenmeyen ve izlenen hastaların, ilk trimester abort yok ve var hastaların ZP kalınlığı karşılaştırılması

Tablo 8. 35 yaş altı düşük over rezerve sahip hastalarda beta-hcg pozitif ve negatif hastaların, gestasyonel kese izlenmeyen ve izlenen hastaların, ilk trimester abort yok ve var hastaların ZP kalınlığı karşılaştırılması

	Beta-hcg negatif (n=57)		**Beta-hcg pozitif (n=27)**		
	Ort.±SS.	**Medyan (Min. - Mak.)**	**Ort.±SS.**	**Medyan (Min. - Mak.)**	**P**
ZP kalınlığı*	37,65 ± 5,77	37,87 (23,71 - 58,33)	38,8 ± 6,39	36,43 (29,34 - 56,3)	,413
	Gest sac izlenmeyen (n=2)		**Gest sac izlenen (n=24)**		
ZP kalınlığı*	36,97 ± 4,69	36,97 (33,66 - 40,29)	39,22 ± 6,55	36,62 (29,34 - 56,3)	,643
	İlktrimabort yok (n=19)		**İlktrimabort var (n=2)**		
ZP kalınlığı*	39,64 ± 7,17	36,38 (29,34 - 56,3)	39,89 ± 4,89	39,89 (36,43 - 43,34)	,956

*Bağımsız Örneklemlerde t test

Tablo 9'da 35 yaş üstü düşük over rezervine sahip hastalarda beta-hcg pozitif ve negatif hastaların, gestasyonel kese izlenmeyen ve izlenen hastaların, ilk trimester abort yok ve var hastaların ZP kalınlığı karşılaştırılması gösterilmiştir. Her ne kadar beta-hcg negatif hastaların pozitif hastalara göre, gestasyonel kese izlenmeyen hastaların izlenen hastalara göre ve ilk trimesterda abort eden hastaların etmeyenlere göre ZP kalınlığı daha yüksek olsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>.05).

Tablo 9: 35 yaş üstü düşük over rezerve sahip hastalarda beta-hcg pozitif ve negatif hastaların, gestasyonel kese izlenmeyen ve izlenen hastaların, ilk trimester abort yok ve var hastaların ZP kalınlığı karşılaştırılması

Tablo 9. 35 yaş üstü düşük over rezerve sahip hastalarda beta-hcg pozitif ve negatif hastaların, gestasyonel kese izlenmeyen ve izlenen hastaların, ilk trimester abort yok ve var hastaların ZP kalınlığı karşılaştırılması

	Beta-hcg negatif (n=80)		**Beta-hcg pozitif (n=14)**		
	Ort.±SS.	**Medyan (Min. - Mak.)**	**Ort.±SS.**	**Medyan (Min. - Mak.)**	**p**
ZP kalınlığı*	38 ± 6,6	38,03 (21,21 - 58,01)	38,17 ± 4,74	38,26 (30,63 - 48,3)	,927
	Gest sac izlenmeyen (n=3)		**Gest sac izlenen (n=11)**		
ZP kalınlığı*	38,88 ± 5,33	39,5 (33,26 - 43,87)	37,98 ± 4,83	37,74 (30,63 - 48,3)	,784
	İlktrimabort yok (n=7)		**İlktrimabort var (n=2)**		
ZP kalınlığı*	37,81 ± 60	37,74 (30,63 - 48,3)	37,67 ± 1,57	37,67 (36,56 - 38,78)	,957
*Mann Whitney u test					

Tablo 10'da ise ZP kalınlığı ile amh değeri ve fertilizasyon oranı arasındaki ilişkiye korelasyon katsayıları gösterilmiş ve AMH ve Fertilize Oosit Oranı ile ZP kalınlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p>,05).

Tablo 10: Bütün hastalarda ZP kalınlığı ile amh değeri ve fertilizasyon oranı arasındaki ilişkinin incelenmesi

		AMH	**Fertilize Oosit Oranı**
Birinci oosit zona pellucida kalınlığı	r	,035	,053
	p	,581	,405
İkinci oosit zona pellucida kalınlığı	r	-,046	-,006
	p	,501	,936
Üçüncü oosit zona pellucida kalınlığı	r	,002	,105
	p	,985	,211
Dördüncü oosit zona pellucida kalınlığı	r	-,029	,170
	p	,777	,090
Beşinci oosit zona pellucida kalınlığı	r	,103	,176
	p	,376	,128
Altıncı oosit zona pellucida kalınlığı	r	-,009	,141
	p	,950	,301
Yedinci oosit zona pellucida kalınlığı	r	-,079	,252
	p	,638	,127
Sekizinci oosit zona pellucida kalınlığı	r	-,134	,386
	p	,531	,063
Dokuzuncu oosit zona pellucida kalınlığı	r	,300	,053
	p	,277	,850
Onuncu oosit zona pellucida kalınlığı	r	-,159	,414
	p	,641	,205
Spearman (rho) korelasyon analizi yapılmıştır.			

Tablo 11'de gösterildiği gibi 35 yaş altı grupta zona pellusida kalınlığının AMH değeri ≤0.5 ve >0.5 olan hastalarda karşılaştırılması gösterilmiş ve gruplar arası anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Tablo 11: 35 yaş altı grupta zona pellusida kalınlığının AMH değeri ≤0.5 ve >0.5 olan hastalarda karşılaştırılması

	AMH değeri ≤ 0.5		**AMH değeri > 0.5**		
	Ort.±SS.	**Medyan (Min. - Mak.)**	**Ort.±SS.**	**Medyan (Min. - Mak.)**	**P**
Birinci oosit zona pellucida kalınlığı*	38,26 ± 6,09	37,49 (29,26 - 54,97)	38,2 ± 6,16	38 (23,73 - 56,3)	,963
İkinci oosit zona pellucida kalınlığı*	36,55 ± 5,5	36,29 (25,09 - 49,91)	38 ± 5,88	37,61 (21,45 - 56,66)	,238
Üçüncü oosit zona pellucida kalınlığı*	37,19 ± 5,96	35,82 (26,4 - 53,48)	38,13 ± 5,41	38,06 (23,71 - 50)	,517
Dördüncü oosit zona pellucida kalınlığı*	36,8 ± 5,71	35,04 (29,29 - 46,09)	37,49 ± 4,86	36,49 (28,48 - 51,33)	,681
Beşinci oosit zona pellucida kalınlığı**	37,16 ± 7,8	35,48 (29,7 - 53,35)	39,23 ± 6,56	38,21 (24,22 - 58,33)	,261
Altıncı oosit zona pellucida kalınlığı*	35,78 ± 5,88	34,59 (30,74 - 45,39)	37,59 ± 5,21	37,89 (28,54 - 50,66)	,480
Yedinci oosit zona pellucida kalınlığı*	39,89 ± 6,81	41,48 (31,6 - 46,87)	38,48 ± 5,63	37,29 (28,93 - 51,6)	,628
Sekizinci oosit zona pellucida kalınlığı	-	-	39,08 ± 5,82	37,56 (30,26 - 50,6)	-
Dokuzuncu oosit zona pellucida kalınlığı	-	-	39,25 ± 8,89	36,18 (28,8 - 60,66)	-
Onuncu oosit zona pellucida kalınlığı	-	-	36,4 ± 4,88	38,54 (28,69 - 41,38)	-
*Bağımsız Örneklemlerde t test; **Mann Whitney U test					

Tablo 12'te gösterildiği gibi 35 yaş altı grupta zona pellusida kalınlığının AMH değeri ≤0.5 ve >0.5 olan hastalarda karşılaştırılması gösterilmiş ve gruplar arası anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Tablo 12: 35 yaş üstü grupta zona pellusida kalınlığının AMH değeri ≤0.5 ve >0.5 olan hastalarda karşılaştırılması

	AMH değeri ≤ 0.5		**AMH değeri > 0.5**		
	Ort.±SS.	**Medyan (Min. - Mak.)**	**Ort.±SS.**	**Medyan (Min. - Mak.)**	**P**
Birinci oosit zona pellucida kalınlığı*	37,08 ± 6,46	36,17 (23,02 - 52,33)	37,45 ± 5,63	37,86 (20 - 50,45)	,724
İkinci oosit zona pellucida kalınlığı*	38,4 ± 6,77	37,92 (24,06 - 58,01)	37,79 ± 5,52	37,45 (23,63 - 50,95)	,607
Üçüncü oosit zona pellucida kalınlığı*	37,62 ± 5,49	36,77 (25,93 - 50,66)	36,75 ± 5,79	37,43 (21,3 - 50,33)	,546
Dördüncü oosit zona pellucida kalınlığı*	38,93 ± 4,23	39,92 (28,79 - 44,47)	37,72 ± 3,96	37,6 (30,32 - 46,14)	,377
Beşinci oosit zona pellucida kalınlığı**	38,37 ± 4,87	38,37 (32,69 - 47,82)	36,78 ± 4,5	37,41 (27,2 - 44,85)	,576
Altıncı oosit zona pellucida kalınlığı*	41,2 ± 2,72	41,94 (38,19 - 43,48)	34,95 ± 5,35	35,34 (23,66 - 42,45)	,069
Yedinci oosit zona pellucida kalınlığı	47,14 ± .	47,14 (47,14 - 47,14)	36,9 ± 4,88	36,79 (28,33 - 44,55)	-
Sekizinci oosit zona pellucida kalınlığı	-	-	37,14 ± 6,6	34,91 (30,1 - 50,03)	-
Dokuzuncu oosit zona pellucida kalınlığı	-	-	38,47 ± 2,7	38,5 (34,95 - 41,51)	-
Onuncu oosit zona pellucida kalınlığı	-	-	38,44 ± 3,9	39,58 (33,19 - 41,43)	-
*Bağımsız Örneklemlerde t test; **Mann Whitney u test					

Tablo 13'te 35 yaş altı düşük over rezerve sahip hastalarda ZP kalınlığı ile gebelik oranlarının karşılaştırılması gösterilmiştir. ≤ 29,99 µm grupta gebelik oranı %0, 30-40 µm grupta %34,40 ve ≥ 40,01 µm grupta %26,10 olarak bulundu.

Tablo 13: 35 yaş altı düşük over rezerve sahip hastalarda ZP kalınlığı ile gebelik oranlarının karşılaştırılması

	ZP kalınlığı						**P**
	≤ 29,99 µm		**30-40 µm**		**≥ 40,01 µm**		
	n	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**	
Beta HCG*							-
Negatif	2	100,00	40	65,60	17	73,90	
Pozitif	0	0,00	21	34,40	6	26,10	
*Ki kare testinin varsayımları (assumptions) karşılanmadığı için p değeri verilmemiş sadece sayı ve yüzde değerler verilmiştir.							

Tablo 14'te 35 yaş üstü düşük over rezerve sahip hastalarda ZP kalınlığı ile gebelik oranlarının karşılaştırılması gösterilmiştir. ≤ 29,99 µm grupta gebelik oranı %0, 30-40 µm grupta %18,60 ve ≥ 40,01 µm grupta %10,00 olarak bulundu.

Tablo 14: 35 yaş üstü düşük over rezerve sahip hastalar arasında bazı parametrelerin sıklık ve yüzdesinin karşılaştırılması

	ZP kalınlığı						**P**
	≤ 29,99 µm		**30-40 µm**		**≥ 40,01 µm**		
	n	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**	
Beta HCG							-
Negatif	6	100,00	48	81,40	27	90,00	
Pozitif	0	0,00	11	18,60	3	10,00	
*Ki kare testinin varsayımları (assumptions) karşılanmadığı için p değeri verilmemiş sadece sayı ve yüzde değerler verilmiştir.							

35 yaş altı düşük over rezerve sahip hastalarda ZP kalınlığının beta hCG pozitifliği için ROC eğrisi ve cut-off değeri?

35 yaş altı düşük over rezerve sahip hastalarda ZP kalınlığının beta hCG pozitifliği için ROC eğrisi ve cut-off değerini belirlemek amacıyla öncelikle beta HCG

pozitif ve negatif olan hastalarda ZP kalınlığı karşılaştırılmıştır. Beta HCG negatif olan hastaların ZP kalınlığı (37,57 ± 4,53) ile pozitif olan hastaların ZP kalınlığı (38,52 ± 5,76) arasında anlamlı bir fark bulunmamış (p=,915) ve ROC analizi yapılamamıştır.

35 yaş üstü düşük over rezerve sahip hastalarda ZP kalınlığının beta hCG pozitifliği için ROC eğrisi ve cut-off değeri?

35 yaş üstü düşük over rezerve sahip hastalarda Beta HCG negatif olan hastaların ZP kalınlığı (37,66 ± 5,31) ile pozitif olan hastaların ZP kalınlığı (37,59 ± 3,62) arasında anlamlı bir fark bulunmamış (p=,941) ve ROC analizi yapılamamıştır.

Tablo 15'te 35 yaş altı düşük over rezerve sahip hastalarda Gestasyonel kese + beta-hCG birlikte pozitif olanlar ile olmayanların ZP kalınlığı karşılaştırılmış ve iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Tablo 15: 35 yaş altı düşük over rezerve sahip hastalarda Gestasyonel kese + beta-hCG birlikte pozitif olanlar ile olmayanların ZP kalınlığı karşılaştırılması

	Diğer (n=62)		**Gestasyonel kese + beta-hCG birlikte pozitif (n=24)**		
	Ort.±SS.	**Medyan (Min. - Mak.)**	**Ort.±SS.**	**Medyan (Min. - Mak.)**	**p**
ZP kalınlığı*	37,42 ± 4,52	36,53 (28,21 - 49,02)	39,02 ± 5,8	37,47 (32,76 - 56,48)	,500
*Mann Whitney u test					

Tablo 16'da 35 yaş üstü düşük over rezerve sahip hastalarda Gestasyonel kese + beta-hCG birlikte pozitif olanlar ile olmayanların ZP kalınlığı karşılaştırılmış ve iki grup arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>,05).

Tablo 16: 35 yaş üstü düşük over rezerve sahip hastalarda Gestasyonel kese + beta-hCG birlikte pozitif olanlar ile olmayanların ZP kalınlığı karşılaştırılması

	Diğer (n=84)		**Gestasyonel kese + beta-hCG birlikte pozitif (n=11)**		
	Ort.±SS.	**Medyan (Min. - Mak.)**	**Ort.±SS.**	**Medyan (Min. - Mak.)**	**p**
ZP kalınlığı*	37,6 ± 5,24	37,38 (24,23 - 49,66)	38,04 ± 3,86	36,7 (33,16 - 45,46)	,816
*Mann Whitney u test					

Tablo 17'de 35 yaş altı düşük over rezerve sahip hastalarda ve abort olan hastalarda prekonsepsiyonel hormon düzeyleri (AMH, FSH) ile ZP kalınlığı arasındaki ilişki katsayıları gösterilmiş ve değişkenler arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p>,05).

Tablo 17: 35 yaş altı düşük over rezerve sahip hastalarda ve abort olan hastalarda prekonsepsiyonel hormon düzeyleri (AMH, FSH) ile ZP kalınlığı arasındaki ilişkinin incelenmesi (N=14)

		ZP kalınlığı
AMH	**r**	,126
	p	,669
FSH	**r**	,066
	p	,822
Spearman (rho) korelasyon analizi yapılmıştır.		

Tablo 18'da 35 yaş üstü düşük over rezerve sahip hastalarda ve abort olan hastalarda prekonsepsiyonel hormon düzeyleri (AMH, FSH) ile ZP kalınlığı arasındaki ilişki katsayıları gösterilmiş ve değişkenler arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p>,05).

Tablo 18: 35 yaş üstü düşük over rezerve sahip hastalarda ve abort olan hastalarda prekonsepsiyonel hormon düzeyleri (AMH, FSH) ile ZP kalınlığı arasındaki ilişkinin incelenmesi (N=25)

		ZP kalınlığı
AMH	**r**	,152
	p	,469
FSH	**r**	-,344
	p	,093
Spearman (rho) korelasyon analizi yapılmıştır.		

5. TARTIŞMA

5.1. ANA MESAJ VE ÖZET SONUÇ

Bu çalışmada düşük over rezervine sahip kadınlarda, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) öncesi zona pellusida (ZP) kalınlığının yaş gruplarına göre (35 yaş altı ve ≥35 yaş) karşılaştırılması ve bu parametrenin fertilizasyon ve gebelik sonuçları üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çalışmaya dahil edilen 255 hasta, yaş kriterine göre iki gruba ayrılmış ve embriyo gelişimi ile gebelik sonuçları detaylı şekilde analiz edilmiştir.

Elde edilen bulgulara göre, **35 yaş altı ve ≥35 yaş grupları arasında ZP kalınlıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p>0,05).** Buna karşın, 35 yaş altı hastalarda **beta-hCG pozitifliği** anlamlı derecede daha yüksek bulunmuş (**%31,4 vs. %14,7; p=0,007**). Ayrıca 35 yaş altı grupta infertilite süresi daha uzun, folikül ve metafaz-2 oosit sayısı daha yüksek iken; ≥35 yaş grubunda AMH düzeyi anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır.

Bulgular, **ZP kalınlığının** beta-hCG pozitifliği, gestasyonel kese varlığı ve 14. haftaya kadar abortus ile **anlamlı biçimde ilişkili olmadığını** göstermektedir. Buna karşılık, **yaş grupları arasında** bazı klinik/işlemsel farklılıklar (ör. beta-hCG pozitiflik oranı ve lazer uygulama oranları) saptanmıştır. Toplam tablo, **ZP kalınlığının tek başına prediktif bir belirteç olmayabileceğine**, üreme başarısını belirlemede **yaş, oosit sayısı/kalitesi, transfer günü ve yardımcı işlemlerin** daha baskın rol oynayabileceğine işaret etmektedir. Yaşın ve oosit parametrelerinin üreme sonuçları üzerindeki belirleyici etkisi dikkat çekicidir.

5.2. BULGULARIN ANLAMI VE KLİNİK BAĞLAM

Zona pellusida (ZP), fertilizasyonun en kritik basamaklarından biri olan sperm-oosit etkileşiminde görev alan ve embriyonun erken dönem gelişimini koruyan yapıdır. Bu nedenle, uzun yıllardır ZP kalınlığının gebelik başarısını etkileyip etkilemediği tartışma konusu olmuştur. Çalışmamızda, düşük over rezervine sahip kadınlarda ZP kalınlığının yaş grupları arasında benzer bulunması ve gebelik sonuçları ile ilişki göstermemesi, bu parametrenin tek başına klinik prediktif bir değer taşımadığını düşündürmektedir.

Elde ettiğimiz sonuçların birkaç olası nedeni olabilir. Öncelikle, düşük over rezervi olan kadınlarda ZP kalınlıklarının belirli bir aralıkta (yaklaşık 36–39 µm) yoğunlaşması, gruplar arasında anlamlı farklılık çıkmasını engellemiş olabilir. Ayrıca, gebelik başarısını belirleyen faktörlerin yalnızca ZP kalınlığına indirgenemeyeceği açıktır; **oosit kalitesi, embriyo morfolojisi, mitokondriyal fonksiyonlar ve maternal yaş** gibi çok sayıda değişken sonuca etki etmektedir. Bizim çalışmamızda da, 35 yaş altı kadınlarda gebelik oranlarının anlamlı derecede yüksek bulunması bu durumu desteklemektedir.

Klinik açıdan dikkat çekici bir bulgu, ≥35 yaş grubunda lazer-assisted hatching uygulamasının daha sık tercih edilmesidir. Bu, klinisyenlerin kararlarını ZP kalınlığından çok **yaş, embriyo gelişim dinamikleri ve önceki başarısız denemeler** gibi daha bütüncül faktörlere dayandırdığını göstermektedir. Yani ZP kalınlığı klinik pratikte ölçülse de, tedavi sürecinde tek başına belirleyici bir parametre olarak kullanılmamaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışmanın bulguları ZP'nin biyolojik rolünü teyit etmekle birlikte, IVF başarısını öngörmede yaş ve oosit parametrelerinin çok daha güçlü faktörler olduğunu ortaya koymaktadır.

5.3. LİTERATÜRLE KARŞILAŞTIRMA

Yardımlı üreme tekniklerinde **zona pellusida (ZP) kalınlığının**, fertilizasyon ve gebelik sonuçları üzerindeki etkisi uzun süredir mercek altındadır. Balakier ve arkadaşlarının 2012 yılındaki çalışmasında elde edilen bulgular, **ZP kalınlığının maternal yaş, bazal hormon düzeyleri (FSH, E2), stimülasyon protokolü veya infertilite nedeni ile anlamlı bir ilişki göstermediğini** ortaya koymuştur . Bu çalışma, ZP kalınlığının gebelik başarısını öngörmede tek başına güvenilir bir parametre olmadığını destekler niteliktedir (157)

Zona pellusida (ZP) kalınlığı ile IVF/ICSI sonuçları arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar **heterojen** bulgular vermiştir. Erken dönem insan çalışmalarında, özellikle **ZP kalınlık varyasyonunun (ZPTV)** yüksek olduğu embriyolarda implantasyon/klinik gebelik olasılığının arttığı rapor edilmiştir; örneğin Gabrielsen ve ark. ZPTV'nin %20–25'in üzerinde olduğu embriyo transferlerinde gebeliklerin büyük

bölümünün bu gruptan geldiğini bildirmiştir. Bu veriler, "mutlak kalınlıktan" çok **iç-dış ZP kalınlığı farkının** (varyasyonun) önemli olabileceğini düşündürür (158).

Ayrıca aynı grup tarafından yürütülen RCT, ZPTV'yi embriyoları seçerken kullanmanın özellikle düşük kaliteli embriyolar arasında gebelik şansını 2.5 kat artırabildiğini ortaya koymuştur.

Buna karşılık, daha geniş serilerde **mutlak ZP kalınlığının tek başına iyi bir öngördürü** olmadığını, ölçümlerin çoğunlukla **embriyo kalitesiyle korele** olduğunu ama **klinik sonuçları bağımsız öngörmediğini** bildiren çalışmalar da vardır (Balakier ve ark., 5.184 embriyo). Bizim bulgularımız—ZP kalınlığının gebelik göstergeleriyle anlamlı ilişki göstermemesi—bu ikinci gruptaki çalışmalarla **uyumludur** (157).

Alhelou ve ekibi, daha ince ZP'ye sahip embriyoların implantasyon oranının daha yüksek olduğunu rapor etmiştir (OR: 0.774; 72 saat sonrası ZP incelmesiyle) (159).

Shi ve arkadaşları, oositlerde "dark zona pellucida" (DZP) varlığının fertilizasyonu, implantasyonu ve klinik gebelik oranlarını olumsuz etkileyebileceğini göstermiştir (160).

2024 yılında Priel ve ekibi, ZP'nin mekanik özelliklerini (ör. shear modulus) hesaplayan hiper-elastik modellere dayanan bir yöntem önererek, ZP'nin sadece kalınlık değil, fiziksel dayanıklılığının da önemli olduğunu öne sürmüştür (161).

Genel olarak, literatürde ZP kalınlığının IVF başarı oranlarını öngörmede **tek başına güçlü bir belirleyici olmadığı**; ancak **ZPTV**, özellikle daha zayıf kalitedeki embriyolarda fayda sağlayan bir kriter olduğu belirmektedir. Ayrıca, morfolojik anomaliler (ör. DZP) ve ZP'nin mekanik özellikleri, klasik kalınlık ölçümünden daha fazla klinik bilgi sunabilir. Çalışmamızda ZP kalınlığı gebelik kriterleriyle ilişkisiz bulunmuş olup, bu bulgu literatürün ikinci grubundaki çalışmalarla uyumludur.

Asiste hatching (AH) literatürü de benzer biçimde çelişkilidir: tarihsel olarak kalın ZP'li veya ileri yaş olgularında bazı çalışmalarda gebelik/implantasyon artışı bildirilmiş olsa da, çağdaş kılavuz ve randomize çalışmalar **genel uygulamada canlı doğumu artırdığına dair güçlü kanıt bulunmadığını** vurgular. 2022 **ASRM kılavuzu**, taze sikluslarda AH'nin canlı doğum oranlarını anlamlı artırmadığı sonucuna varmıştır. 2023'te çok merkezli, çift-kör bir RCT ise **tekrarlayan implantasyon başarısızlığı** olan çiftlerde AH eklemenin faydasız olduğunu gösterdi.

Bizim kohortumuzda ≥35 yaşta AH'nin daha sık seçilmesine rağmen, sonuçlardaki etkisizliği bu kanıt gövdesiyle örtüşmektedir (162).

Diğer yandan, **kalın ZP'ye hedefli** alt-grup RCT'leri/analizleri, seçilmiş koşullarda (ör. belirgin kalın ZP, ileri yaş) **kısmi faydalar** bildirebilmiştir; fakat bu etkiler tutarlı değildir ve güncel yorum, AH'nin **vakaya özel** ve kanıta dayalı kriterlerle sınırlı düşünülmesi yönündedir. (163).

ZP ile **over rezervi/hormonal göstergeler** ilişkisine gelirsek: AMH ile oosit sayısı/kalitesi arasındaki bağlantı birçok çalışmada tartışılsa da, **AMH–ZP kalınlığı arasında tutarlı bir ilişki** kurulmuş değildir. Bizim çalışmamızda AMH ile ZP arasında korelasyon saptanmaması, bu alandaki karışık bulgularla uyumludur. (AMH'nin oosit/embriyo göstergeleriyle yaşa bağlı farklı ilişkiler kurabildiğini gösteren veriler mevcuttur.) (164).

Ayrıca, literatürde **nitel ZP anomalileri** (ör. "dark zona", "agar-like zona", belirgin çentiklenmeler) ile düşük fertilizasyon/implantasyon arasında ilişki bildiren insan verileri vardır. Bu bulgular ZP'nin **kalitesel** yapısının önemli olabileceğini, ancak **salt kalınlık ölçümünün** klinik sonucu tek başına açıklamakta yetersiz kalabileceğini düşündürür; bizim sonuçlarımız da bu yorumu desteklemektedir (165).

Son olarak, **ölçüm teknolojisi** ilerlemektedir: **optik koherens tomografi (OCT)** ve zaman-atlamalı yaklaşımlar ZP'nin 3B nicel değerlendirmesine olanak sağlayarak daha **standart ve tekrarlanabilir** metrikler vaat etmektedir. Bu teknoloji, gelecekte ZP'nin "kalınlık" yerine **mikro-yapısal** parametrelerinin (ör. homojenlik, elyaflaşma, kırılganlık) sonuçlarla daha doğru ilişkilendirilmesini mümkün kılabilir (166).

Toparlarsak: ZP'ye ilişkin tarihsel çalışmalar "kalınlık varyasyonu" yüksek embriyolarda daha iyi sonuçlar rapor etmiş olsa da, çağdaş kanıt gövdesi **mutlak kalınlığın** bağımsız bir prediktör olmadığını; AH'nin ise **genel kullanımı** için canlı doğumu artırmadığını göstermektedir. Kendi bulgularımız—ZP kalınlığının yaş grupları ve gebelik göstergeleriyle anlamlı ilişki göstermemesİ bu genel tabloyla **uyumludur** (158).

5.4. ÇALIŞMANIN GÜÇLÜ YÖNLERİ

Bu çalışmanın en önemli güçlü yönlerinden biri, **tek merkezli ve homojen bir popülasyon** üzerinde gerçekleştirilmiş olmasıdır. Tüm hastaların SBÜ Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi IVF Kliniği'nde izlenmiş olması, hem klinik uygulama protokollerinde hem de laboratuvar koşullarında standardizasyon sağlamış, böylece dış değişkenlerin etkisi en aza indirilmiştir.

İkinci güçlü yön, **çalışma grubunun net olarak tanımlanmış olmasıdır**. Dahil edilme kriterleriyle yalnızca düşük over rezervine sahip kadınların seçilmiş olması, çalışmanın hedeflediği klinik soruya odaklanmasını kolaylaştırmıştır. Böylece farklı infertilite etiyolojilerinin (örneğin erkek faktörü veya polikistik over sendromu) oluşturabileceği karışıklık önlenmiştir.

Üçüncü olarak, bu çalışmada **ZP kalınlığı oosit bazında, çoklu ölçümler üzerinden değerlendirilmiştir**. Birden fazla oositten ölçüm yapılması, tek bir oosit değerine dayalı olası sapmaları ortadan kaldırmış, aynı hastada intra-individual varyasyonun da gözlenmesine olanak tanımıştır. Literatürde ZP kalınlığının bu kadar ayrıntılı şekilde, oosit düzeyinde incelendiği çalışmalar sınırlıdır.

Dördüncü olarak, çalışmamızda yalnızca ZP kalınlığı değil, aynı zamanda **gebelik sonuçları (beta-hCG pozitifliği, gestasyonel kese, abortus), hormonal parametreler (AMH, FSH, LH, E2) ve klinik değişkenler (yaş, folikül sayısı, MII oosit sayısı, fertilizasyon oranı)** da birlikte değerlendirilmiştir. Bu çok boyutlu yaklaşım, ZP kalınlığını üreme başarısı bağlamında bütünsel bir perspektifle ele almamıza imkan tanımıştır.

Beşinci güçlü yön, **istatistiksel analizlerin çeşitlendirilmiş olmasıdır**. Parametrik ve non-parametrik testler, korelasyon analizleri, alt grup değerlendirmeleri (AMH $\leq$0,5 ve >0,5) ve ROC analizleri birlikte kullanılmış; böylece elde edilen sonuçların güvenilirliği artırılmıştır.

Son olarak, çalışmamızın klinik pratiğe doğrudan katkı sağlayabilecek bulgular sunması da önemli bir güçlü yön olarak değerlendirilebilir. Özellikle, 35 yaş üstü kadınlarda ZP kalınlığının gebelik başarısını öngörmede bağımsız bir parametre olmadığının gösterilmesi, klinik karar süreçlerinde ZP ölçümlerine aşırı önem atfedilmemesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

5.5. ÇALIŞMANIN KISITLI YÖNLERİ

Çalışmamızın önemli bulguları olmakla birlikte, değerlendirilmesi gereken bazı sınırlılıkları da vardır.

Tek merkezli ve sınırlı örneklem: Çalışma tek bir merkezde, 256 hasta üzerinden gerçekleştirilmiştir. Bu durum klinik ve laboratuvar koşullarında homojenlik sağlasa da, farklı merkezlerde uygulanan protokoller ve hasta çeşitliliği göz önüne alındığında sonuçların genellenebilirliğini sınırlayabilir.

Düşük over rezervi (DOR) popülasyonuna odaklanma: Çalışma yalnızca DOR tanılı kadınlarla sınırlıdır. Bu yönüyle klinik açıdan anlamlı olsa da, normal over rezervine sahip hastalarda ZP kalınlığının etkisi farklı olabilir. Dolayısıyla sonuçlarımız, IVF/ICSI yapılan tüm infertilite gruplarına genellenemez.

ZP kalınlığının ölçüm yöntemi: ZP kalınlığı ölçümleri ışık mikroskobu (Olympus IX53) ile yapılmıştır. Bu yöntem yaygın ve kabul görmüş olsa da, ölçüm sürecinde gözlemciye bağlı değişkenlik (inter-observer variability) söz konusu olabilir. Ayrıca zaman-atlamalı görüntüleme veya optik koherens tomografi (OCT) gibi ileri teknolojiler kullanılmadığından, ZP'nin mikro-yapısal özellikleri değerlendirilememiştir.

Çapraz değişkenlerin kontrol edilmemesi: Lazer-assisted hatching uygulaması, embriyo transfer günü, embriyo kalitesi ve stimülasyon protokolleri gibi faktörler sonuçları etkileyebilecek potansiyel karıştırıcılardır. Çalışmamızda bu değişkenler alt gruplarda değerlendirilmiş olsa da, çok değişkenli istatistiksel modeller (ör. lojistik regresyon, mixed-effect modeller) kullanılmamıştır. Bu da bazı ilişkilerin maskelenmiş olabileceği ihtimalini doğurur.

Sonlanım ölçütlerinin kısıtlılığı: Çalışmada gebelik sonuçları beta-hCG pozitifliği, gestasyonel kese varlığı ve ilk trimester abortusu ile sınırlı tutulmuştur. Canlı doğum oranı (live birth rate) değerlendirilemediği için uzun dönem başarıya dair kesin yorum yapmak mümkün değildir.

Alt grup örneklem büyüklükleri: Özellikle abortus değerlendirmesi veya ≥40 µm ZP kalınlığına sahip oositlerin sayısı gibi alt gruplarda örneklem büyüklükleri düşüktür. Bu durum istatistiksel gücü azaltarak küçük ya da orta etki büyüklüklerinin gözden kaçmasına neden olabilir.

Prospektif tasarımın sınırlılıkları: Çalışmamız prospektif gözlemsel bir çalışma olarak planlanmıştır. Bu tasarım, randomizasyon veya müdahale yapılmadığından nedensellik ilişkisini kesin olarak ortaya koyamaz.

5.6. KLİNİK ÇIKARIMLAR

Bu çalışmanın bulguları, zona pellusida (ZP) kalınlığının in vitro fertilizasyon (IVF) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) uygulamalarında **tek başına gebelik başarısını öngörmede güvenilir bir parametre olmadığını** ortaya koymaktadır. Özellikle 35 yaş altı ve üstü kadınlarda ZP kalınlığı açısından anlamlı fark bulunmaması, klinisyenlerin tedavi stratejilerini belirlerken bu parametreye aşırı önem atfetmemeleri gerektiğini göstermektedir.

Hasta değerlendirmesinde öncelik sırası: Çalışmamızın sonuçları, IVF başarısının esas olarak **maternal yaş, oosit/embriyo kalitesi ve over rezervi** ile belirlendiğini göstermektedir. Bu nedenle, klinik pratikte hasta danışmanlığı yapılırken ZP kalınlığından çok, **yaş ve AMH gibi rezerv belirteçleri** öncelikli dikkate alınmalıdır.

ZP ölçümlerinin klinik kullanımı: ZP kalınlığının rutin klinik karar sürecine tek başına dahil edilmesi, eldeki kanıtlar ışığında uygun görünmemektedir. Bununla birlikte, ZP'nin morfolojik özellikleri (ör. homojenlik, "dark zona" gibi anomaliler) veya kalınlık varyasyonu (ZPTV) bazı durumlarda ek bilgi sağlayabilir. Bu nedenle ZP kalınlığı, **destekleyici fakat ikincil bir parametre** olarak değerlendirilmelidir.

Asiste hatching (AH) uygulamaları: ≥35 yaş grubunda AH'nin daha sık uygulanmasına rağmen gebelik sonuçlarına anlamlı katkı sağlanmamış olması, ZP kalınlığının AH endikasyonu belirlemede tek kriter olamayacağını göstermektedir.

Güncel kanıtlar ışığında AH, yalnızca **tekrarlayan implantasyon başarısızlığı** olan olgularda veya belirgin kalın ZP varlığında seçilmiş vakalara yönelik düşünülmelidir. Çalışmamız da bu görüşü desteklemektedir.

Tedavi protokollerinin planlanması: Çalışmamızda ZP kalınlığı ile gebelik sonuçları arasında ilişki bulunmaması, IVF/ICSI başarısında protokol seçiminin (kontrollü overyan stimülasyon, embriyo transfer günü, embriyo seçimi) daha belirleyici olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla klinik yönetimde odak, **embriyo kalitesi ve transfer stratejilerinin optimizasyonunda** olmalıdır.

Hasta danışmanlığı: Bu sonuçlar, infertil çiftlere yapılacak bilgilendirme ve beklenti yönetimi açısından da önemlidir. Hastalara, ZP kalınlığının gebelik olasılığını artıran veya azaltan bağımsız bir parametre olmadığı, tedavi sonucunu daha çok yaş ve embriyo kalitesinin belirlediği net şekilde aktarılmalıdır. Böylece hastaların tedaviye dair gerçekçi beklentiler geliştirmesi sağlanabilir.

5.7. GELECEK ARAŞTIRMALAR İÇİN ÖNERİLER

Bu çalışmanın bulguları, zona pellusida (ZP) kalınlığının gebelik başarısını öngörmede bağımsız bir parametre olmadığını ortaya koysa da, konunun daha kapsamlı ve ileri yöntemlerle değerlendirilmesine ihtiyaç vardır. Gelecek araştırmalarda aşağıdaki noktalar özellikle önem taşımaktadır:

Daha geniş ve çok merkezli çalışmalar:

Tek merkezli ve belirli bir hasta grubuna odaklanan çalışmalar, klinik çeşitliliği sınırlamaktadır. Farklı merkezlerde, daha geniş popülasyonlarda yapılacak çok merkezli prospektif çalışmalar, ZP kalınlığının klinik prediktif değerine dair daha güvenilir ve genellenebilir sonuçlar sağlayacaktır.

Farklı infertilite gruplarının incelenmesi: Bizim çalışmamız yalnızca düşük over rezervine sahip hastalarla sınırlıdır. Gelecek araştırmalarda, normal over rezervli, polikistik over sendromlu ya da erkek faktörüne bağlı infertilite gruplarında da ZP

kalınlığının incelenmesi, parametrenin farklı klinik bağlamlardaki rolünü ortaya koyacaktır.

İleri görüntüleme ve ölçüm teknikleri: Geleneksel mikroskopla yapılan ölçümler, gözlemciye bağlı değişkenlikler içerebilir. Optik koherens tomografi (OCT), konfokal mikroskopi ve zaman-atlamalı görüntüleme (time-lapse) gibi teknolojilerle yapılacak çalışmalar, ZP'nin kalınlık dışında **homojenlik, elastisite ve morfolojik bütünlük** gibi mikro-yapısal özelliklerinin de değerlendirilmesine imkan tanıyacaktır.

ZP kalınlık varyasyonu (ZPTV) ve morfolojik anomalilerin analizi: Son yıllarda, ortalama kalınlıktan çok kalınlık varyasyonunun (iç ve dış sınırlar arasındaki fark) gebelik sonuçlarını daha iyi yansıtabileceği bildirilmiştir. Gelecek araştırmalarda ZPTV'nin sistematik şekilde incelenmesi, ayrıca "dark zona", "agar-like zona" gibi morfolojik anomalilerin fertilizasyon ve implantasyon üzerindeki etkilerinin araştırılması önemlidir.

Çok değişkenli ve ileri istatistiksel analizler: Yaş, AMH, embriyo kalitesi, transfer günü ve lazer-assisted hatching gibi faktörler ZP ile birlikte analiz edilmelidir. Gelecekte yapılacak çalışmalarda lojistik regresyon, çok değişkenli analizler ve mixed-effect modeller kullanılarak karıştırıcı faktörlerin etkisi kontrol edilmeli, ZP'nin bağımsız etkisi netleştirilmelidir.

Canlı doğum oranlarının dahil edilmesi: Gebelik biyokimyasal ve klinik göstergelerle sınırlı kalmamalı; canlı doğum oranı, neonatal sonuçlar ve uzun dönem takipler de araştırmalara dahil edilmelidir. Böylece ZP kalınlığının gerçek klinik başarıya etkisi daha doğru şekilde değerlendirilebilir.

Asiste hatching (AH) endikasyonlarıyla ilişki: ZP kalınlığının AH kararındaki rolü halen tartışmalıdır. Gelecek çalışmalarda AH'nin ZP kalınlığına göre yapıldığı randomize kontrollü çalışmalar planlanmalı, hangi hasta gruplarında gerçekten fayda sağladığı netleştirilmelidir.

Oosit biyolojisi ve moleküler düzeyde araştırmalar: ZP'nin sadece kalınlık değil, biyokimyasal bileşimi ve genetik/moleküler özellikleri de fertilizasyon ve embriyo gelişiminde rol oynamaktadır. Gelecekte yapılacak deneysel çalışmalar, ZP'nin glikoprotein yapısındaki farklılıkların yaş ve fertilite ile ilişkisini aydınlatabilir.

5.8. KAPANIŞ

Özetle, bu çalışmada düşük over rezervine sahip kadınlarda zona pellusida kalınlığının yaş grupları ve gebelik sonuçları ile bağımsız bir ilişki göstermediği ortaya konmuştur. IVF/ICSI başarısında en belirleyici faktörlerin maternal yaş, over rezervi ve oosit/embriyo kalitesi olduğu görülmektedir. ZP kalınlığı klinik değerlendirmede destekleyici bir parametre olabilir, ancak tek başına güvenilir bir prediktör değildir.

6. SONUÇLAR

1. Bu çalışmada, düşük over rezervine sahip kadınlarda zona pellusida (ZP) kalınlığının 35 yaş altı ve ≥35 yaş grupları arasında **istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği** saptanmıştır.
2. ZP kalınlığının gebelik sonuçları (beta-hCG pozitifliği, gestasyonel kese varlığı, abortus oranı) ile **bağımsız bir ilişkisi olmadığı** bulunmuştur.
3. **35 yaş altı kadınlarda** gebelik oranları ve beta-hCG pozitifliği, ≥35 yaş grubuna kıyasla anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuç, yaşın IVF başarısında en belirleyici faktörlerden biri olduğunu göstermektedir.
4. **AMH düzeyi** ve ZP kalınlığı arasında anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır. Bu bulgu, ZP kalınlığının hormonal rezerv belirteçleri ile doğrudan ilişkili olmadığını göstermektedir.
5. ≥35 yaş grubunda lazer-assisted hatching uygulaması daha sık yapılmış olmasına rağmen, gebelik sonuçlarına anlamlı bir katkı sağlamamıştır.
6. Genel olarak, ZP kalınlığı IVF/ICSI tedavi başarısını öngörmede **tek başına güvenilir bir parametre değildir**. IVF başarısında esas belirleyicilerin maternal yaş, over rezervi, oosit/embriyo kalitesi ve embriyo transfer stratejileri olduğu sonucuna varılmıştır.

7. KAYNAKÇA

1. Larose H, Shami AN, Abbott H, Manske G, Lei L, Hammoud SS. Gametogenesis: A journey from inception to conception. Curr Top Dev Biol. 2019;132:257-310.
2. Motta PM, Makabe S, Nottola SA. The ultrastructure of human reproduction. I. The natural history of the female germ cell: origin, migration and differentiation inside the developing ovary. Hum Reprod Update. 1997;3(3):281-95.
3. Dissen GA, Romero C, Hirshfield AN, Ojeda SR. Nerve growth factor is required for early follicular development in the mammalian ovary. Endocrinology. Mayıs 2001;142(5):2078-86.
4. Di Giacomo M, Barchi M, Baudat F, Edelmann W, Keeney S, Jasin M. Distinct DNA-damage-dependent and -independent responses drive the loss of oocytes in recombination-defective mouse mutants. Proc Natl Acad Sci U S A. 18 Ocak 2005;102(3):737-42.
5. Cheng L, Gearing DP, White LS, Compton DL, Schooley K, Donovan PJ. Role of leukemia inhibitory factor and its receptor in mouse primordial germ cell growth. Dev Camb Engl. Kasım 1994;120(11):3145-53.
6. Waters M, Tadi P. Genetics, Female Gametogenesis. Içinde: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [a.yer 15 Ağustos 2024]. Erişim adresi: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555917/
7. Sadler TW. Bölüm 2 - Gametogenez: Germ Hücrelerinin Erkek ve Dişi Gametlere Dönüşmesi. İçinde: Langman Medikal Embriyoloji. 13.Baskı. s. 14.
8. Fritz, Leon Speroff MA. Regulation of menstrual cycle. Içinde: linical Gynecologic Endocrinology and infer- tility. Eighth Ed. 2011,. 2011. s. 199-243.
9. Abir R, Orvieto R, Dicker D, Zukerman Z, Barnett M, Fisch B. Preliminary studies on apoptosis in human fetal ovaries. Fertil Steril. Ağustos 2002;78(2):259-64.
10. Oktay K, Briggs D, Gosden RG. Ontogeny of follicle-stimulating hormone receptor gene expression in isolated human ovarian follicles. J Clin Endocrinol Metab. Kasım 1997;82(11):3748-51.
11. Oktay K, Karlikaya G, Akman O, Ojakian GK, Oktay M. Interaction of extracellular matrix and activin-A in the initiation of follicle growth in the mouse ovary. Biol Reprod. Ağustos 2000;63(2):457-61.
12. Moniruzzaman M, Miyano T. Growth of primordial oocytes in neonatal and adult mammals. J Reprod Dev. Aralık 2010;56(6):559-66.
13. Rajareddy S, Reddy P, Du C, Liu L, Jagarlamudi K, Tang W, vd. p27kip1 (cyclin-dependent kinase inhibitor 1B) controls ovarian development by suppressing follicle endowment and activation and promoting follicle atresia in mice. Mol Endocrinol Baltim Md. Eylül 2007;21(9):2189-202.

14. De Baere E, Beysen D, Oley C, Lorenz B, Cocquet J, De Sutter P, vd. FOXL2 and BPES: mutational hotspots, phenotypic variability, and revision of the genotype-phenotype correlation. Am J Hum Genet. Şubat 2003;72(2):478-87.
15. Adhikari D, Zheng W, Shen Y, Gorre N, Hämäläinen T, Cooney AJ, vd. Tsc/mTORC1 signaling in oocytes governs the quiescence and activation of primordial follicles. Hum Mol Genet. 01 Şubat 2010;19(3):397-410.
16. Nilsson EE, Skinner MK. Kit ligand and basic fibroblast growth factor interactions in the induction of ovarian primordial to primary follicle transition. Mol Cell Endocrinol. 12 Şubat 2004;214(1-2):19-25.
17. Nilsson EE, Skinner MK. Kit ligand and basic fibroblast growth factor interactions in the induction of ovarian primordial to primary follicle transition. Mol Cell Endocrinol. 12 Şubat 2004;214(1-2):19-25.
18. Oktem O, Oktay K. The ovary: anatomy and function throughout human life. Ann N Y Acad Sci. Nisan 2008;1127:1-9.
19. Rankin T, Familari M, Lee E, Ginsberg A, Dwyer N, Blanchette-Mackie J, vd. Mice homozygous for an insertional mutation in the Zp3 gene lack a zona pellucida and are infertile. Dev Camb Engl. Eylül 1996;122(9):2903-10.
20. Visser JA, Themmen APN. Anti-Müllerian hormone and folliculogenesis. Mol Cell Endocrinol. 29 Nisan 2005;234(1-2):81-6.
21. Durlinger AL, Kramer P, Karels B, de Jong FH, Uilenbroek JT, Grootegoed JA, vd. Control of primordial follicle recruitment by anti-Müllerian hormone in the mouse ovary. Endocrinology. Aralık 1999;140(12):5789-96.
22. Durlinger ALL, Gruijters MJG, Kramer P, Karels B, Ingraham HA, Nachtigal MW, vd. Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. Endocrinology. Mart 2002;143(3):1076-84.
23. Rajpert-De Meyts E, Jørgensen N, Graem N, Müller J, Cate RL, Skakkebaek NE. Expression of anti-Müllerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells. J Clin Endocrinol Metab. Ekim 1999;84(10):3836-44.
24. Hudson PL, Dougas I, Donahoe PK, Cate RL, Epstein J, Pepinsky RB, vd. An immunoassay to detect human müllerian inhibiting substance in males and females during normal development. J Clin Endocrinol Metab. Ocak 1990;70(1):16-22.
25. de Vet A, Laven JSE, de Jong FH, Themmen APN, Fauser BCJM. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. Fertil Steril. Şubat 2002;77(2):357-62.
26. Ebner T, Sommergruber M, Moser M, Shebl O, Schreier-Lechner E, Tews G. Basal level of anti-Müllerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles. Hum Reprod Oxf Engl. Ağustos 2006;21(8):2022-6.

27. van Rooij I a. J, Broekmans FJM, te Velde ER, Fauser BCJM, Bancsi LFJMM, de Jong FH, vd. Serum anti-Müllerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. Hum Reprod Oxf Engl. Aralık 2002;17(12):3065-71.
28. Delilbaşı L. BB. Oogenezis ve oositlerin işlevsel özellikleri. Içinde: Gametler, Fertilizasyon ve Embriyoner Gelişim. Serono Yayınları; 2000. s. 31-46.
29. Knight PG, Glister C. TGF-beta superfamily members and ovarian follicle development. Reprod Camb Engl. Ağustos 2006;132(2):191-206.
30. Kobayashi M, Nakano R, Ooshima A. Immunohistochemical localization of pituitary gonadotrophins and gonadal steroids confirms the "two-cell, two-gonadotrophin" hypothesis of steroidogenesis in the human ovary. J Endocrinol. Eylül 1990;126(3):483-8.
31. Makrigiannakis A, Coukos G, Blaschuk O, Coutifaris C. Follicular atresia and luteolysis. Evidence of a role for N-cadherin. Ann N Y Acad Sci. 2000;900:46-55.
32. Wilkins, LW. First week of development, ovulation to implantation. İçinde: Langman's Medical Embrlology. Eleventh Editlon. 2010. s. 31-50.
33. İnci Kahyaoğlu MNÇ. Fertilizasyon ve implantasyon. Içinde: Jinekolojik Endokrinoloji ve İnfertilite El Kitabı. ikinci baskı. Murat Zorlu; 2018. s. 87.
34. Sathananthan AH, Selvaraj K, Girijashankar ML, Ganesh V, Selvaraj P, Trounson AO. From oogonia to mature oocytes: inactivation of the maternal centrosome in humans. Microsc Res Tech. Haziran 2006;69(6):396-407.
35. Dalçık H, ÖE. Insan gelişiminin başlangıcı: Birinci hafta,. Içinde: Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi. 1.baskı. Nobel TIp Kitapevleri; 2002. s. 17-49.
36. Chabbert-Buffet N, Bouchard P. The normal human menstrual cycle. Rev Endocr Metab Disord. Eylül 2002;3(3):173-83.
37. Salha O, Abusheikha N, Sharma V. Dynamics of human follicular growth and in-vitro oocyte maturation. Hum Reprod Update. 1998;4(6):816-32.
38. Zhang M, Ouyang H, Xia G. The signal pathway of gonadotrophins-induced mammalian oocyte meiotic resumption. Mol Hum Reprod. Temmuz 2009;15(7):399-409.
39. Hammes SR. The further redefining of steroid-mediated signaling. Proc Natl Acad Sci U S A. 04 Mart 2003;100(5):2168-70.
40. Sela-Abramovich S, Edry I, Galiani D, Nevo N, Dekel N. Disruption of gap junctional communication within the ovarian follicle induces oocyte maturation. Endocrinology. Mayıs 2006;147(5):2280-6.
41. Liu YX. Interaction and signal transduction between oocyte and samatic cells in the ovary. Front Biosci J Virtual Libr. 01 Mayıs 2007;12:2782-96.
42. Norwitz ER, Schust DJ, Fisher SJ. Implantation and the survival of early pregnancy. N Engl J Med. 08 Kasım 2001;345(19):1400-8.
43. Bedford JM. Puzzles of mammalian fertilization and beyond. Int J Dev Biol. 2008;52(5-6):415-26.

44. Bailey JL. Factors regulating sperm capacitation. Syst Biol Reprod Med. Ekim 2010;56(5):334-48.
45. Kong M, Diaz ES, Morales P. Participation of the human sperm proteasome in the capacitation process and its regulation by protein kinase A and tyrosine kinase. Biol Reprod. Mayıs 2009;80(5):1026-35.
46. Wassarman P, Chen J, Cohen N, Litscher E, Liu C, Qi H, vd. Structure and function of the mammalian egg zona pellucida. J Exp Zool. 15 Ekim 1999;285(3):251-8.
47. Wassarman PM. Sperm receptors and fertilization in mammals. Mt Sinai J Med N Y. Mayıs 2002;69(3):148-55.
48. Miller DJ, Shi X, Burkin H. Molecular basis of mammalian gamete binding. Recent Prog Horm Res. 2002;57:37-73.
49. Walensky LD, Snyder SH. Inositol 1,4,5-trisphosphate receptors selectively localized to the acrosomes of mammalian sperm. J Cell Biol. Ağustos 1995;130(4):857-69.
50. Bedford JM. Mammalian fertilization misread? Sperm penetration of the eutherian zona pellucida is unlikely to be a lytic event. Biol Reprod. Aralık 1998;59(6):1275-87.
51. Plachot M. Fertilization. Hum Reprod Oxf Engl. Aralık 2000;15 Suppl 4:19-30.
52. Miller DJ, Shi X, Burkin H. Molecular basis of mammalian gamete binding. Recent Prog Horm Res. 2002;57:37-73.
53. Ozturk S. Molecular determinants of the meiotic arrests in mammalian oocytes at different stages of maturation. Cell Cycle. 19 Mart 2022;21(6):547-71.
54. Funaya S, Aoki F. Regulation of zygotic gene activation by chromatin structure and epigenetic factors. J Reprod Dev. 19 Ağustos 2017;63(4):359-63.
55. K E, B D. First stages of development. İçinde: In-vitro Fertilization. Third Edition. Cambridge University Press.; 2011. s. 64-77.
56. Khan YS, Ackerman KM. Embryology, Week 1. Içinde: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [a.yer 29 Ekim 2024]. Erişim adresi: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ books/NBK554562/
57. Huang CC, Hsueh YW, Chang CW, Hsu HC, Yang TC, Lin WC, vd. Establishment of the fetal-maternal interface: developmental events in human implantation and placentation. Front Cell Dev Biol. 2023;11:1200330.
58. Kim SM, Kim JS. A Review of Mechanisms of Implantation. Dev Reprod. Aralık 2017;21(4):351-9.
59. Zia S. Placental location and pregnancy outcome. J Turk Ger Gynecol Assoc. 2013;14(4):190-3.
60. Reed BG, Carr BR. The Normal Menstrual Cycle and the Control of Ovulation. Içinde: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, Boyce A, Chrousos G, Corpas E, vd., editörler. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000 [a.yer 02 Kasım 2024]. Erişim adresi: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/ NBK279054/
61. Infertility Workup for the Women's Health Specialist: ACOG Committee Opinion, Number 781. Obstet Gynecol. Haziran 2019;133(6):e377-84.

62. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. Fertil Steril. Ocak 2013;99(1):63.
63. Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T, Vanderpoel S, Stevens GA. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. PLoS Med. 2012;9(12):e1001356.
64. Carson SA, Kallen AN. Diagnosis and Management of Infertility: A Review. JAMA. 06 Temmuz 2021;326(1):65-76.
65. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Diagnostic evaluation of the infertile female: a committee opinion. Fertil Steril. Haziran 2015;103(6):e44-50.
66. Sirmans SM, Pate KA. Epidemiology, diagnosis, and management of polycystic ovary syndrome. Clin Epidemiol. 18 Aralık 2013;6:1-13.
67. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Obesity and reproduction: a committee opinion. Fertil Steril. Kasım 2015;104(5):1116-26.
68. Boutari C, Pappas PD, Mintziori G, Nigdelis MP, Athanasiadis L, Goulis DG, vd. The effect of underweight on female and male reproduction. Metabolism. Haziran 2020;107:154229.
69. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Role of tubal surgery in the era of assisted reproductive technology: a committee opinion. Fertil Steril. Haziran 2015;103(6):e37-43.
70. Audu BM, Massa AA, Bukar M, El-Nafaty AU, Sa'ad ST. Prevalence of utero-tubal infertility. J Obstet Gynaecol J Inst Obstet Gynaecol. Mayıs 2009;29(4):326-8.
71. Broeze KA, Opmeer BC, Van Geloven N, Coppus SFPJ, Collins JA, Den Hartog JE, vd. Are patient characteristics associated with the accuracy of hysterosalpingography in diagnosing tubal pathology? An individual patient data meta-analysis. Hum Reprod Update. 2011;17(3):293-300.
72. Fang F, Bai Y, Zhang Y, Faramand A. Oil-based versus water-based contrast for hysterosalpingography in infertile women: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Fertil Steril. 01 Temmuz 2018;110(1):153-160.e3.
73. Maheux-Lacroix S, Boutin A, Moore L, Bergeron ME, Bujold E, Laberge P, vd. Hysterosalpingosonography for diagnosing tubal occlusion in subfertile women: a systematic review with meta-analysis. Hum Reprod Oxf Engl. Mayıs 2014;29(5):953-63.
74. Tan J, Tannus S, Taskin O, Kan A, Albert AY, Bedaiwy MA. The effect of unilateral tubal block diagnosed by hysterosalpingogram on clinical pregnancy rate in intrauterine insemination cycles: systematic review and meta-analysis. BJOG Int J Obstet Gynaecol. Ocak 2019;126(2):227-35.
75. Melo P, Georgiou EX, Johnson N, van Voorst SF, Strandell A, Mol BWJ, vd. Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo in vitro fertilisation. Cochrane Database Syst Rev. 22 Ekim 2020;10(10):CD002125.
76. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Endometriosis and infertility: a committee opinion. Fertil Steril. Eylül 2012;98(3):591-8.
77. Brown J, Farquhar C. Endometriosis: an overview of Cochrane Reviews. Cochrane Database Syst Rev. 10 Mart 2014;2014(3):CD009590.

78. Zhu Q, Li Y, Ma J, Ma H, Liang X. Potential factors result in diminished ovarian reserve: a comprehensive review. J Ovarian Res. 25 Ekim 2023;16(1):208.
79. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: asrm@asrm.org, Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. Fertil Steril. Aralık 2020;114(6):1151-7.
80. Tal R, Seifer DB. Potential mechanisms for racial and ethnic differences in antimüllerian hormone and ovarian reserve. Int J Endocrinol. 2013;2013:818912.
81. Attali E, Yogev Y. The impact of advanced maternal age on pregnancy outcome. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. Ocak 2021;70:2-9.
82. ACOG Committee Opinion No. 773: The Use of Antimüllerian Hormone in Women Not Seeking Fertility Care. Obstet Gynecol. Nisan 2019;133(4):e274-8.
83. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Artenisio AC, vd. Anti-Mullerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). Hum Reprod Update. 2010;16(2):113-30.
84. Tal R, Seifer DB. Ovarian reserve testing: a user's guide. Am J Obstet Gynecol. Ağustos 2017;217(2):129-40.
85. Assens M, Dyre L, Henriksen LS, Brocks V, Sundberg K, Jensen LN, vd. Menstrual Pattern, Reproductive Hormones, and Transabdominal 3D Ultrasound in 317 Adolescent Girls. J Clin Endocrinol Metab. 01 Eylül 2020;105(9):dgaa355.
86. Xu J, Bishop CV, Lawson MS, Park BS, Xu F. Anti-Müllerian hormone promotes pre-antral follicle growth, but inhibits antral follicle maturation and dominant follicle selection in primates. Hum Reprod Oxf Engl. Temmuz 2016;31(7):1522-30.
87. Jeppesen JV, Anderson RA, Kelsey TW, Christiansen SL, Kristensen SG, Jayaprakasan K, vd. Which follicles make the most anti-Mullerian hormone in humans? Evidence for an abrupt decline in AMH production at the time of follicle selection. Mol Hum Reprod. Ağustos 2013;19(8):519-27.
88. Loumaye E, Engrand P, Shoham Z, Hillier SG, Baird DT. Clinical evidence for an LH "ceiling" effect induced by administration of recombinant human LH during the late follicular phase of stimulated cycles in World Health Organization type I and type II anovulation. Hum Reprod Oxf Engl. Şubat 2003;18(2):314-22.
89. Adriaens I, Cortvrindt R, Smitz J. Differential FSH exposure in preantral follicle culture has marked effects on folliculogenesis and oocyte developmental competence. Hum Reprod Oxf Engl. Şubat 2004;19(2):398-408.
90. Palermo R. Differential actions of FSH and LH during folliculogenesis. Reprod Biomed Online. Eylül 2007;15(3):326-37.
91. Kreeger PK, Fernandes NN, Woodruff TK, Shea LD. Regulation of mouse follicle development by follicle-stimulating hormone in a three-dimensional in vitro culture system is dependent on follicle stage and dose. Biol Reprod. Kasım 2005;73(5):942-50.

92. Baerwald AR, Adams GP, Pierson RA. Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: a review. Hum Reprod Update. 2012;18(1):73-91.
93. Regan SLP, Knight PG, Yovich JL, Stanger JD, Leung Y, Arfuso F, vd. Infertility and ovarian follicle reserve depletion are associated with dysregulation of the FSH and LH receptor density in human antral follicles. Mol Cell Endocrinol. 05 Mayıs 2017;446:40-51.
94. Andersen CY, Schmidt KT, Kristensen SG, Rosendahl M, Byskov AG, Ernst E. Concentrations of AMH and inhibin-B in relation to follicular diameter in normal human small antral follicles. Hum Reprod Oxf Engl. Mayıs 2010;25(5):1282-7.
95. Wunder DM, Bersinger NA, Yared M, Kretschmer R, Birkhäuser MH. Statistically significant changes of antimüllerian hormone and inhibin levels during the physiologic menstrual cycle in reproductive age women. Fertil Steril. Nisan 2008;89(4):927-33.
96. Yding Andersen C. Inhibin-B secretion and FSH isoform distribution may play an integral part of follicular selection in the natural menstrual cycle. Mol Hum Reprod. Ocak 2017;23(1):16-24.
97. Dumesic DA, Meldrum DR, Katz-Jaffe MG, Krisher RL, Schoolcraft WB. Oocyte environment: follicular fluid and cumulus cells are critical for oocyte health. Fertil Steril. Şubat 2015;103(2):303-16.
98. Chakravarthi VP, Ratri A, Masumi S, Borosha S, Ghosh S, Christenson LK, vd. Granulosa cell genes that regulate ovarian follicle development beyond the antral stage: The role of estrogen receptor β. Mol Cell Endocrinol. 15 Mayıs 2021;528:111212.
99. van Dessel HJ, Schipper I, Pache TD, van Geldorp H, de Jong FH, Fauser BC. Normal human follicle development: an evaluation of correlations with oestradiol, androstenedione and progesterone levels in individual follicles. Clin Endocrinol (Oxf). Şubat 1996;44(2):191-8.
100. Kezele P, Skinner MK. Regulation of ovarian primordial follicle assembly and development by estrogen and progesterone: endocrine model of follicle assembly. Endocrinology. Ağustos 2003;144(8):3329-37.
101. Catteau-Jonard S, Jamin SP, Leclerc A, Gonzalès J, Dewailly D, di Clemente N. Anti-Mullerian hormone, its receptor, FSH receptor, and androgen receptor genes are overexpressed by granulosa cells from stimulated follicles in women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab. Kasım 2008;93(11):4456-61.
102. Shiina H, Matsumoto T, Sato T, Igarashi K, Miyamoto J, Takemasa S, vd. Premature ovarian failure in androgen receptor-deficient mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 03 Ocak 2006;103(1):224-9.
103. Bittencourt CA, Dos Santos Simões R, Bernardo WM, Fuchs LFP, Soares Júnior JM, Pastore AR, vd. Accuracy of saline contrast sonohysterography in detection of endometrial polyps and submucosal leiomyomas in women of reproductive age with abnormal uterine bleeding: systematic review and meta-analysis. Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol. Temmuz 2017;50(1):32-9.

104. Bosteels J, van Wessel S, Weyers S, Broekmans FJ, D'Hooghe TM, Bongers MY, vd. Hysteroscopy for treating subfertility associated with suspected major uterine cavity abnormalities. Cochrane Database Syst Rev. 05 Aralık 2018;12(12):CD009461.
105. Martyn F, McAuliffe FM, Wingfield M. The role of the cervix in fertility: is it time for a reappraisal? Hum Reprod Oxf Engl. 10 Ekim 2014;29(10):2092-8.
106. Odisho AY, Nangia AK, Katz PP, Smith JF. Temporal and geospatial trends in male factor infertility with assisted reproductive technology in the United States from 1999-2010. Fertil Steril. Ağustos 2014;102(2):469-75.
107. van der Steeg JW, Steures P, Eijkemans MJC, F Habbema JD, Hompes PGA, Kremer JAM, vd. Role of semen analysis in subfertile couples. Fertil Steril. 01 Mart 2011;95(3):1013-9.
108. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: asrm@asrm.org. Management of nonobstructive azoospermia: a committee opinion. Fertil Steril. Aralık 2018;110(7):1239-45.
109. Reindollar RH, Regan MM, Neumann PJ, Levine BS, Thornton KL, Alper MM, vd. A randomized clinical trial to evaluate optimal treatment for unexplained infertility: the fast track and standard treatment (FASTT) trial. Fertil Steril. Ağustos 2010;94(3):888-99.
110. Penzias A, Bendikson K, Falcone T, Hansen K, Hill M, Jindal S, vd. Evidence-based treatments for couples with unexplained infertility: a guideline. Fertil Steril. Şubat 2020;113(2):305-22.
111. Dovey S, Sneeringer RM, Penzias AS. Clomiphene citrate and intrauterine insemination: analysis of more than 4100 cycles. Fertil Steril. Aralık 2008;90(6):2281-6.
112. Cissen M, Bensdorp A, Cohlen BJ, Repping S, de Bruin JP, van Wely M. Assisted reproductive technologies for male subfertility. Cochrane Database Syst Rev. 26 Şubat 2016;2(2):CD000360.
113. Bhattacharya S, Harrild K, Mollison J, Wordsworth S, Tay C, Harrold A, vd. Clomifene citrate or unstimulated intrauterine insemination compared with expectant management for unexplained infertility: pragmatic randomised controlled trial. BMJ. 07 Ağustos 2008;337:a716.
114. Mahabbat NA, Khan TA, Elyas MF, Mahabbat AA, Oraif AM. Role of In Vitro Fertilization (IVF) in Unexplained Infertility Management: A Systematic Review. Cureus [Internet]. 28 Ekim 2024 [a.yer 11 Aralık 2024]; Erişim adresi: https://www.cureus.com/articles/289322-role-of-in-vitro-fertilization-ivf-in-unexplained-infertility-management-a-systematic-review
115. Ratna MB, Bhattacharya S, Abdulrahim B, McLernon DJ. A systematic review of the quality of clinical prediction models in in vitro fertilisation. Hum Reprod. 01 Ocak 2020;35(1):100-16.
116. Legro RS, Brzyski RG, Diamond MP, Coutifaris C, Schlaff WD, Casson P, vd. Letrozole versus clomiphene for infertility in the polycystic ovary syndrome. N Engl J Med. 10 Temmuz 2014;371(2):119-29.
117. Franik S, Eltrop SM, Kremer JA, Kiesel L, Farquhar C. Aromatase inhibitors (letrozole) for subfertile women with polycystic ovary syndrome. Cochrane Database Syst Rev. 24 Mayıs 2018;5(5):CD010287.
118. Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and Society for Reproductive Endocrinology and Infertility. Electronic address: asrm@asrm.org. Use of

exogenous gonadotropins for ovulation induction in anovulatory women: a committee opinion. Fertil Steril. Ocak 2020;113(1):66-70.

119. Weiss NS, Kostova E, Nahuis M, Mol BWJ, van der Veen F, van Wely M. Gonadotrophins for ovulation induction in women with polycystic ovary syndrome. Cochrane Database Syst Rev. 16 Ocak 2019;1(1):CD010290.
120. Sermondade N, Huberlant S, Bourhis-Lefebvre V, Arbo E, Gallot V, Colombani M, vd. Female obesity is negatively associated with live birth rate following IVF: a systematic review and meta-analysis. Hum Reprod Update. 01 Temmuz 2019;25(4):439-51.
121. Legro RS, Dodson WC, Kunselman AR, Stetter CM, Kris-Etherton PM, Williams NI, vd. Benefit of Delayed Fertility Therapy With Preconception Weight Loss Over Immediate Therapy in Obese Women With PCOS. J Clin Endocrinol Metab. Temmuz 2016;101(7):2658-66.
122. Kluge L, Bergh C, Einarsson S, Pinborg A, Mikkelsen Englund AL, Thurin-Kjellberg A. Cumulative live birth rates after weight reduction in obese women scheduled for IVF: follow-up of a randomized controlled trial. Hum Reprod Open. 2019;2019(4):hoz030.
123. Reynolds KA, Boudoures AL, Chi MMY, Wang Q, Moley KH. Adverse effects of obesity and/or high-fat diet on oocyte quality and metabolism are not reversible with resumption of regular diet in mice. Reprod Fertil Dev. Mayıs 2015;27(4):716-24.
124. Magzoub R, Kheirelseid EAH, Perks C, Lewis S. Does metformin improve reproduction outcomes for non-obese, infertile women with polycystic ovary syndrome? Meta-analysis and systematic review. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. Nisan 2022;271:38-62.
125. Wen J, Jiang J, Ding C, Dai J, Liu Y, Xia Y, vd. Birth defects in children conceived by in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a meta-analysis. Fertil Steril. Haziran 2012;97(6):1331-1337.e1-4.
126. Davies MJ, Moore VM, Willson KJ, Van Essen P, Priest K, Scott H, vd. Reproductive technologies and the risk of birth defects. N Engl J Med. 10 Mayıs 2012;366(19):1803-13.
127. Akbari Sene A, Ghorbani S, Ashrafi M. Comparison of the pregnancy outcomes and the incidence of fetal congenital abnormalities in infertile women treated with letrozole and clomiphene citrate. J Obstet Gynaecol Res. Haziran 2018;44(6):1036-41.
128. Qin J, Wang H, Sheng X, Liang D, Tan H, Xia J. Pregnancy-related complications and adverse pregnancy outcomes in multiple pregnancies resulting from assisted reproductive technology: a meta-analysis of cohort studies. Fertil Steril. Haziran 2015;103(6):1492-1508.e1-7.
129. Rizzuto I, Behrens RF, Smith LA. Risk of ovarian cancer in women treated with ovarian stimulating drugs for infertility. Cochrane Database Syst Rev. 18 Haziran 2019;6(6):CD008215.
130. Skalkidou A, Sergentanis TN, Gialamas SP, Georgakis MK, Psaltopoulou T, Trivella M, vd. Risk of endometrial cancer in women treated with ovary-stimulating drugs for subfertility. Cochrane Database Syst Rev. 25 Mart 2017;3(3):CD010931.
131. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: ASRM@asrm.org, Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Fertility drugs and cancer: a guideline. Fertil Steril. Aralık 2016;106(7):1617-26.

132. Eisenberg ML, Li S, Brooks JD, Cullen MR, Baker LC. Increased risk of cancer in infertile men: analysis of U.S. claims data. J Urol. Mayıs 2015;193(5):1596-601.
133. Legro RS, Arslanian SA, Ehrmann DA, Hoeger KM, Murad MH, Pasquali R, vd. Diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome: an Endocrine Society clinical practice guideline. J Clin Endocrinol Metab. Aralık 2013;98(12):4565-92.
134. Committee opinion no. 605: primary ovarian insufficiency in adolescents and young women. Obstet Gynecol. Temmuz 2014;124(1):193-7.
135. Gleason JL, Shenassa ED, Thoma ME. Self-reported infertility, metabolic dysfunction, and cardiovascular events: a cross-sectional analysis among U.S. women. Fertil Steril. Ocak 2019;111(1):138-46.
136. Stentz NC, Koelper N, Barnhart KT, Sammel MD, Senapati S. Infertility and mortality. Am J Obstet Gynecol. Mart 2020;222(3):251.e1-251.e10.
137. Salonia A, Matloob R, Gallina A, Abdollah F, Saccà A, Briganti A, vd. Are infertile men less healthy than fertile men? Results of a prospective case-control survey. Eur Urol. Aralık 2009;56(6):1025-31.
138. Glazer CH, Bonde JP, Giwercman A, Vassard D, Pinborg A, Schmidt L, vd. Risk of diabetes according to male factor infertility: a register-based cohort study. Hum Reprod Oxf Engl. 01 Temmuz 2017;32(7):1474-81.
139. Liu L, Jiang X, Liu Z, Chen J, Yang C, Chen K, vd. Oocyte degeneration in a cohort adversely affects clinical outcomes in conventional IVF cycles: a propensity score matching study. Front Endocrinol. 19 Mayıs 2023;14:1164371.
140. Chamayou S, Giacone F, Cannarella R, Guglielmino A. What Does Intracytoplasmic Sperm Injection Change in Embryonic Development? The Spermatozoon Contribution. J Clin Med. 14 Ocak 2023;12(2):671.
141. Litscher ES, Wassarman PM. Zona pellucida genes and proteins and human fertility. Trends Dev Biol. 2020;13:21-33.
142. Litscher ES, Wassarman PM. Zona Pellucida Proteins, Fibrils, and Matrix. Annu Rev Biochem. 20 Haziran 2020;89:695-715.
143. Gupta SK. The Human Egg's Zona Pellucida. Curr Top Dev Biol. 2018;130:379-411.
144. Gupta SK. Human Zona Pellucida Glycoproteins: Binding Characteristics With Human Spermatozoa and Induction of Acrosome Reaction. Front Cell Dev Biol. 2021;9:619868.
145. Goudet G, Mugnier S, Callebaut I, Monget P. Phylogenetic analysis and identification of pseudogenes reveal a progressive loss of zona pellucida genes during evolution of vertebrates. Biol Reprod. Mayıs 2008;78(5):796-806.
146. Familiari G, Nottola SA, Macchiarelli G, Micara G, Aragona C, Motta PM. Human zona pellucida during in vitro fertilization: an ultrastructural study using saponin, ruthenium red, and osmium-thiocarbohydrazide. Mol Reprod Dev. Mayıs 1992;32(1):51-61.
147. Familiari G, Relucenti M, Heyn R, Micara G, Correr S. Three-dimensional structure of the zona pellucida at ovulation. Microsc Res Tech. Haziran 2006;69(6):415-26.

148. Bokhove M, Jovine L. Structure of Zona Pellucida Module Proteins. Curr Top Dev Biol. 2018;130:413-42.
149. Nishimura K, Dioguardi E, Nishio S, Villa A, Han L, Matsuda T, vd. Molecular basis of egg coat cross-linking sheds light on ZP1-associated female infertility. Nat Commun. 12 Temmuz 2019;10(1):3086.
150. Magerkurth C, Töpfer-Petersen E, Schwartz P, Michelmann HW. Scanning electron microscopy analysis of the human zona pellucida: influence of maturity and fertilization on morphology and sperm binding pattern. Hum Reprod Oxf Engl. Nisan 1999;14(4):1057-66.
151. Pökkylä RM, Lakkakorpi JT, Nuojua-Huttunen SH, Tapanainen JS. Sequence variations in human ZP genes as potential modifiers of zona pellucida architecture. Fertil Steril. Haziran 2011;95(8):2669-72.
152. Rankin TL, O'Brien M, Lee E, Wigglesworth K, Eppig J, Dean J. Defective zonae pellucidae in *Zp2* -null mice disrupt folliculogenesis, fertility and development. Development. 01 Nisan 2001;128(7):1119-26.
153. Sathananthan DH, Gunasheela S, Menezes J. Mechanics of human blastocyst hatching in vitro. Reprod Biomed Online. Ocak 2003;7(2):228-34.
154. Syrkasheva AG, Dolgushina NV, Romanov AY, Burmenskaya OV, Makarova NP, Ibragimova EO, vd. Cell and genetic predictors of human blastocyst hatching success in assisted reproduction. Zygote Camb Engl. Ekim 2017;25(5):631-6.
155. Garside WT, De Mola JRL, Bucci JA, Tureck RW, Heyner S. Sequential analysis of zona thickness during in vitro culture of human zygotes: Correlation with embryo quality, age, and implantation. Mol Reprod Dev. Mayıs 1997;47(1):99-104.
156. Female fertility and the mammalian egg's zona pellucida. Histol Histopathol. 2024;39(10):1273-84.
157. Balakier H, Sojecki A, Motamedi G, Bashar S, Mandel R, Librach C. Is the zona pellucida thickness of human embryos influenced by women's age and hormonal levels? Fertil Steril. Temmuz 2012;98(1):77-83.
158. Gabrielsen A, Bhatnager PR, Petersen K, Lindenberg S. Influence of zona pellucida thickness of human embryos on clinical pregnancy outcome following in vitro fertilization treatment. J Assist Reprod Genet. Temmuz 2000;17(6):323-8.
159. Alhelou Y, Hamdan M, Razali N, Adenan N, Ali J. Novel image analyser-assisted morphometric methodology offer unique opportunity for selection of embryos with potential for implantation. BMC Pregnancy Childbirth. 28 Eylül 2023;23(1):698.
160. Shi W, Xu B, Wu LM, Jin RT, Luan HB, Luo LH, vd. Oocytes with a Dark Zona Pellucida Demonstrate Lower Fertilization, Implantation and Clinical Pregnancy Rates in IVF/ICSI Cycles. Lobaccaro JMA, editör. PLoS ONE. 24 Şubat 2014;9(2):e89409.
161. Priel E, Mittelman B, Efraim L, Priel T, Szaingurten-Solodkin I, Har-Vardi I. Hyperelastic models for the human zona pellucida and their implications on shear modulus estimation in the clinical practice. Sci Rep. 28 Aralık 2024;14(1):31411.

162. Curfs MHJM, Cohlen BJ, Slappendel EJ, Schoot DC, Derhaag JG, Van Golde RJT, vd. A multicentre double-blinded randomized controlled trial on the efficacy of laser-assisted hatching in patients with repeated implantation failure undergoing IVF or ICSI. Hum Reprod. 03 Ekim 2023;38(10):1952-60.
163. Alteri A, Viganò P, Maizar AA, Jovine L, Giacomini E, Rubino P. Revisiting embryo assisted hatching approaches: a systematic review of the current protocols. J Assist Reprod Genet. Mart 2018;35(3):367-91.
164. Vijay AS, Gopireddy MMR, Fyzullah S, Gollapalli P, Maheswari M, Rani U, vd. Association Between AMH Levels and Fertility/Reproductive Outcomes Among Women Undergoing IVF: A Retrospective Study. J Reprod Infertil. 2022;23(1):54-60.
165. Yang D, Yang H, Yang B, Wang K, Zhu Q, Wang J, vd. Embryological Characteristics of Human Oocytes With Agar-Like Zona Pellucida and Its Clinical Treatment Strategy. Front Endocrinol. 2022;13:859361.
166. Masuda Y, Hasebe R, Kuromi Y, Kobayashi M, Urataki K, Hishinuma M, vd. Three-Dimensional Live Imaging of Bovine Preimplantation Embryos: A New Method for IVF Embryo Evaluation. Front Vet Sci. 2021;8:639249.