

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**YARDIMCI ÜREME TEKNİKLERİ
KULLANILARAK
GEBELİK ELDE EDİLEN HASTALARDA
SERUM KİSSPEPTİN DÜZEYİNİN ERKEN
GEBELİK SONUÇLARINI ÖNGÖRMEDEKİ ROLÜ**

UZMANLIK TEZİ

DR. GÖKÇE AYKANAT

İZMİR-2022

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**YARDIMCI ÜREME TEKNİKLERİ
KULLANILARAK
GEBELİK ELDE EDİLEN HASTALARDA
SERUM KİSSPEPTİN DÜZEYİNİN ERKEN
GEBELİK SONUÇLARINI ÖNGÖRMEDEKİ ROLÜ**

UZMANLIK TEZİ

DR. GÖKÇE AYKANAT

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ: DOÇ.DR. RECEP EMRE OKYAY

İZMİR-2022

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
TABLO LİSTESİ	II
RESİM LİSTESİ	III
ŞEKİL LİSTESİ	IV
KISALTMALAR.....	V
ÖZET	VII
SUMMARY	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. İnfertilitenin Tanımı	2
2.2 İnfertil Çiftin Ön Değerlendirmesi	3
2.3. İnfertilitenin Nedenleri	4
2.3.1. Kadın İnfertilitesi Ve Nedenleri	4
2.3.1.1. Ovulatuvar Disfonksiyon	4
2.3.1.2. Tubal ve Peritoneal Patolojiler	9
2.3.1.3. Açıklanamayan İnfertilite.....	11
2.3.1.4. Uterin Faktörler	12
2.3.2. Erkek İnfertilitesi ve Nedenleri	13
2.4. Yardımcı Üreme Teknikleri (YÜT)	15
2.5. Ovulasyon İndüksiyonu	18
2.5.1. Klomifen Sitrat (CC) ile Ovulasyon İndüksiyonu	18
2.5.2. Letrozol (Aromataz İnhibitörleri) ile Ovulasyon İndüksiyonu	20
2.6. Kontrollü Ovaryen Stimülasyon Protokolleri	21
2.6.1. Doğal (Natural) Siklus	22
2.6.2. Klomifen Sitrat/Letrozol ile Birlikte Gonadotropin Protokolü	23
2.6.3. Uzun (GnRH Agonist Down Regülasyonu ile Gonadotropin Stimülasyonu) Protokol	24

2.6.4. Kısa (Flare) Protokol.....	26
2.6.5. GnRH Antagonist + Gonadotropin Stimülasyon Protokolü.....	27
2.7. Ovulasyonun Tetiklenmesi	28
2.8. Oosit Toplanması (OPU)	29
2.9. Fertilizasyon.....	30
2.10. Embriyo Transferi (ET)	31
2.11. Kriyoprezervasyon.....	32
2.12. Luteal Faz Desteği	33
2.13. Abortus.....	35
2.13.1. Abortus Risk Faktörleri.....	36
2.14. Ektopik Gebelik.....	38
2.15. Kisspeptin.....	38
2.15.1 Kisseptinin Tanımı ve Sentezi	38
2.15.2. Kisspeptinin Etkileri.....	39
2.15.3. Kisspeptin ve Gebelik	41
2.15.4. Kisspeptin ve IVF	43
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	44
3.1. Hasta Seçimi	44
3.2. Çalışma Protokolü.....	45
3.3. İstatistik.....	47
4. BULGULAR.....	48
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	64
7. KAYNAKLAR.....	65

ÖNSÖZ

Kadın Hastalıkları ve Doğum alanındaki uzmanlık eğitimim süresince değerli bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, bu uzmanlık alanını sevmemde ve yetişmemde büyük katkıları olan Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı öğretim üyeleri sayın hocalarım: Prof. Dr. Bülent Gülekli, Prof. Dr. Cemal Posacı, Prof. Dr. Murat Celiloğlu, Prof. Dr. Uğur Saygılı, Prof. Dr. Sabahattin Altunyurt, Prof. Dr. Ömer Erbil Doğan, Prof. Dr. Mehmet Güney, Doç. Dr. Hasan Bahadır Saatlı, Doç. Dr. Recep Emre Okyay, Doç. Dr. Sefa Kurt, Yrd. Doç. Dr. Erkan Çağlıyan, teorik ve pratik eğitimime büyük katkıları olan Uzm. Dr. Selim Kandemir, Uzm. Dr. Süreyya Sarıdaş Demir, Uzm. Dr. Orkun İlgen, Uzm. Dr. Aslı Akdöner, Uzm. Dr. Hatice Yetkiner, Uzm. Dr. Ezgi Bilicen, Uzm. Dr. Onur Yavuz ve birlikte çalıştığım uzmanlık eğitim sürecinin zorluklarını paylaştığım tüm asistan arkadaşlarıma, hemşirelerimize ve personellerimize derinden teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı başta sayın hocam Doç. Dr. Recep Emre Okyay olmak üzere, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ali Rıza Şişman’a tezimin hazırlık ve veri toplama sürecinde yardımlarını esirgemeyen Tüp Bebek Merkezinde görevli tüm embriyologlarımıza, hemşirelerimize ve personelimize çok teşekkür ederim.

Hiçbir zaman bana olan desteğini esirgemeyen ve beni bugünlere getiren çok değerli anneme ve babama sonsuz teşekkürler...

DR. GÖKÇE AYKANAT

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Embriyo Sınıflandırması

Tablo 2: Olguların Demografik ve Klinik Özelliklerini Ortalamaları

Tablo 3: Olguların Serum β -hCG ve Kisspeptin Düzeylerinin Ortalamaları

Tablo 4: Olguların İnfertilite Nedenleri ve Siklus Karakteristikleri

Tablo 5: Olguların Gebelik Sonuçları

Tablo 6: Canlı Doğum Yapan ve Yapamayan Olguların Klinik Ve Demografik Özelliklerinin Ortalamalarının Karşılaştırılması

Tablo 7: Canlı Doğum Yapan ve Yapamayan Olguların Serum Kisspeptin ile β -hCG Değerlerinin Ortalamalarının Karşılaştırılması

Tablo 8: Canlı Doğum Yapan Olgular Arasında Abortus İmminens Maruziyetine Göre Demografik ve Klinik Özelliklerin Ortalamaları

Tablo 9: Olguların Demografik ve Klinik Özellikleri Arasındaki İlişki

Tablo 10: Kisspeptin Ölçümlerinin Canlı Doğum Yapma Olasılığını Arttırmakla İlişkili Tek Değişkenli Lojistik Regresyon Analizi

RESİM LİSTESİ

Resim 1: Semen Analizi Referans Değerleri (DSÖ)

Resim 2: İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu(ICSI)

Resim 3: Oosit Toplanması (OPU)

Resim 4: ICSI ve IVF yöntemleri

Resim 5: Embriyo Transferi (ET)



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Canlı Doğum Yapan Olguların ve Canlı Doğum Yapmayan Olguların Üç Ölçüm İçin Ortalama Kisspeptin Düzeylerindeki Değişimleri

Şekil 1A. Canlı Doğum Yapanlarda Kisspeptin Ortalamalarının Değişimi

Şekil 1B. Canlı Doğum Yapmayan Olgularda Kisspeptin Ortalamalarının Değişimi

Şekil 2. Canlı Doğum Yapan ve Canlı Doğum Yapmayan Olgular Arasında KISS-1, KISS-2 ve KISS-3 Değerlerinin Karşılaştırması

Şekil 2A. Canlı Doğum Yapan ve Canlı Doğum Yapmayan Olgular Arasında KISS-1 Bazal Değeri Karşılaştırması

Şekil 2B. Canlı Doğum Yapan ve Canlı Doğum Yapmayan Olgular Arasında KISS-2 Değeri Karşılaştırması

Şekil 2C. Canlı Doğum Yapan ve Canlı Doğum Yapmayan Olgular Arasında KISS-3 Değeri Karşılaştırması

KISALTMALAR

ACOG: *The American College of Obstetricians and Gynecologists*

BMI: Vücut kitle indeksi

BVI: Bazal vücut ısısı

CC: Klomifen sitrat

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

ELİSA: *Enzyme linked immunosorbent assay*

FSH: Folikül stimüle edici hormon

GIFT: Gamet intrafallopian transfer

GnRH: Gonadotropin salgılatıcı hormon

hCG: Human koryonik gonadotropin

HMG: Human menopozal gonadotropin

HSG: Histerosalpingografi

ICSI: İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu

IUI: İntrauterin inseminasyon

IVF: İn vitro fertilizasyon

KOS: Kontrollü ovaryan stimülasyon

LH: Luteinizan hormon

OHSS: Ovaryan hiperstimülasyon sendromu

rFSH: Rekombinant FSH

TA-USG: Transabdominal ultrasonografi

TV-USG: Transvajinal ultrasonografi

PKOS: Polikistik over sendromu

u-FSH: üriner FSH

USG: Ultrasonografi

YÜT: Yardımcı üreme teknikleri

ZIFT: Zigot intrafallopian transfer

ÖZET

YARDIMCI ÜREME TEKNİKLERİ KULLANILARAK GEBELİK ELDE EDİLEN HASTALARDA SERUM KISSPEPTİN DÜZEYİNİN ERKEN GEBELİK SONUÇLARINI ÖNGÖRMEDEKİ ROLÜ

AMAC: Abortus, ilk trimester gebeliklerinin en sık görülen komplikasyonudur ve her beş gebelikten birini etkiler. Özellikle ilk trimesterde gelişen embriyonun sitogenetik anormallığı, bozulmuş implantasyon ve plasentasyon ile ilişkilidir. Human koryonik gonadotropinin β alt ünitesi (β -hCG) en yaygın kullanılan gebelik biyobelirtecidir. Abortus tanısı, ultrasonografi ve seri β -hCG ölçümleri ile konulmasına karşın günümüzde halen abortus riskini doğru bir şekilde öngören güvenilir bir biyobelirteç bulunmamaktadır. Erken gebelikte β -hCG düzeylerindeki geniş değişkenlik nedeniyle tek bir ölçümün abortus tanısında değeri sınırlıdır. Kisspeptinler, G proteinine bağlı “kisspeptin reseptörüne” bağlanan KISS1 geni tarafından kodlanan bir peptit ailesidir. Son çalışmalar, kisspeptinin puberte, ovulasyon ve plasentasyon dahil olmak üzere fertilitenin birçok dalında önemli bir rolü olduğunu göstermektedir. Kisspeptin, insanlarda gebelik boyunca plasentada yüksek oranda eksprese edilir. Dolaşımdaki kisspeptin düzeyi, üçüncü trimesterde gebe olmayan kadınlara göre yaklaşık 7.000 kat daha yüksek seviyelere ulaşır. Doğumdan sonra ise hızla düşer. Yapılan çalışmalar, kisspeptinin abortus için bir biyobelirteç olma potansiyeline sahip olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda yardımcı üreme teknikleri kullanılarak gebelik elde edilen 18-40 yaş arası olgularda kisspeptin düzeylerinin gebelik sonuçlarını öngörmedeki yerinin belirlenmesi ve olası abortusu öngörmede bir biyobelirteç olarak kullanılıp kullanılamayacağının belirlenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Bu prospektif kohort çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu izni alındıktan sonra gerçekleştirildi. Çalışmamız Ekim 2020-Eylül 2021 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tüp Bebek Merkezi'ne başvuran ve çalışmaya dahil olma kriterlerine uygun olan 28 gönüllü arasında planlandı. Merkezimize başvuran olgulardan kontrollü ovaryan stimülasyona başlanmadan önce, embriyo transfer günü ve embriyo transferinden 14 gün sonra olmak üzere toplam 3 defa venöz kan örneği alınarak kisspeptin düzeyi belirlendi. Çalışmaya dahil edilmesi planlanan olgu grubu hasta sayısı G-Power 3.1.9.2 programında tekrarlayan ölçüm karşılaştırılmasına yönelik F testi seçilerek düşük etki büyüklüğü (0.25), α : 0,05 ve güç: %80 olması durumunda en az 28 hasta olarak bulundu. Tüm analizler için anlamlılık seviyesi $p < 0,05$ olarak belirlendi. Analizlerin uygulanmasında *The Statistical Program for Social Sciences (IBM SPSS 22.0)* programı kullanıldı.

BULGULAR: Çalışmaya dahil edilen 28 olgunun 18'i gebeliğini canlı doğumla sonuçlandırmış, 10 olgunun gebeliği ise gebelik kaybı ile sonuçlanmıştır. Canlı doğum yapan olgularda kisspeptin ölçüm ortalamalarının istatistiksel açıdan anlamlı seviyede değiştiği ($\chi^2=11,44$, $p=0,003$), bu grupta ilk ölçümden ikinci ölçüme ($p=0,043$), ilk ölçümden üçüncü ölçüme ($p=0,010$) ve ikinci ölçümden üçüncü ölçüme ($p=0,006$) kisspeptin değerlerinin istatistiksel açıdan anlamlı derecede arttığı saptandı. Ayrıca canlı doğum yapan gebelerin β -hCG ($p=0,049$) ve KİSS3 ($p=0,002$) değerlerinin ortalamaları gebelik kaybı olan hastaların ortalamalarından istatistiksel açıdan anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulundu. Gebelik kaybı olan vakalarda kisspeptin ölçüm ortalamalarının istatistiksel açıdan anlamlı seviyede değişmediği ($\chi^2=2,60$, $p=0,273$) ancak bu grupta ilk ölçümden üçüncü ölçüme kisspeptin değerlerinin istatistiksel açıdan anlamlı derecede azaldığı ($p=0,017$) saptandı. Hastaların β -hCG değerleri ile KİSS3 değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı derecede pozitif yönde ilişki

olduğu ($r=0,405$, $p=0,032$), KİSS3 değerlerinin, canlı doğum yapma olasılığını istatistiksel açıdan anlamlı seviyede 1,05 kat artırdığı ($p=0,009$ OR=1,05 [%95 CI 1,01-1,09]) saptandı.

SONUÇ: Çalışmamızda gebeliği canlı doğumla sonuçlanan hastaların IVF tedavisi esnasında bakılan kisspeptin ölçümleri istatistiksel olarak anlamlı derecede artış gösterdi ($p=0,003$) ayrıca KİSS3 değerlerinin, canlı doğum yapma olasılığını istatistiksel açıdan anlamlı seviyede artırdığı ($p=0,009$ OR=1,05) saptandı. Gebelik kaybı yaşayan hastalarda KİSS1 ölçümünden KİSS3 ölçümüne anlamlı derecede azalma ($p=0,017$) olduğu saptandı. Sonuç olarak, çalışmamızda IVF tedavisinde kisspeptin düzey artışının canlı doğum ile sonuçlanan olgularla ilişkili olduğu gösterilmiş olup, kisspeptin düzey artışının canlı doğumu öngörebilmesi ve eşik değerinin belirlenmesi açısından daha geniş serili çalışmalara ihtiyaç vardır.

ANAHTAR KELİMELELER: Kisspeptin, Abortus, Yardımcı Üreme Teknikleri

SUMMARY

THE ROLE OF SERUM KISSPEPTIN LEVEL IN PREDICTION OF EARLY PREGNANCY OUTCOMES IN PATIENTS WITH PREGNANCY USING ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNIQUES

OBJECTIVE: Abortion is the most common complication of first trimester pregnancies and affects one out of every five pregnancies. Especially in the first trimester, cytogenetic abnormality of the developing embryo is associated with impaired implantation and placentation. The β subunit of human chorionic gonadotropin (β -hCG) is the most widely used pregnancy biomarker. Although the diagnosis of abortion is made by ultrasonography and serial β -hCG measurements, there is still no reliable biomarker that accurately predicts the risk of abortion. Due to the wide variability in β -hCG levels in early pregnancy, a single measurement is of limited value in the diagnosis of abortion. Kisspeptins are a family of peptides encoded by the KISS1 gene, which binds to the G protein-coupled “kisspeptin receptor”. Recent studies show that kisspeptin has an important role in many aspects of fertility, including puberty, ovulation, and placentation. Kisspeptin is highly expressed in the placenta throughout pregnancy in humans. Circulating kisspeptin levels reach levels approximately 7,000 times higher in the third trimester than in non-pregnant women. It decreases rapidly after birth. Studies suggest that kisspeptin has the potential to be a biomarker for abortion. In our study, it was aimed to determine the role of kisspeptin levels in predicting pregnancy outcomes in cases aged 18-40 years who achieved pregnancy using assisted reproductive techniques and to determine whether it could be used as a biomarker in predicting possible abortion.

METHODS: This prospective cohort study was conducted after obtaining the permission of Dokuz Eylul University Faculty of Medicine Non-Invasive Research Ethics Committee. Our

study was planned among 28 volunteers who applied to Dokuz Eylul University Medical Faculty Hospital IVF Center between October 2020 and September 2021 and met the inclusion criteria of the study. Kisspeptin level was determined by taking venous blood samples from the patients who applied to our center 3 times, before the start of controlled ovarian stimulation, on the day of embryo transfer and 14 days after the embryo transfer. The number of patients in the case group planned to be included in the study was found to be at least 28 patients in the case of low effect size (0.25), α : 0.05 and power: 80%, by choosing the F test for repetitive measurement comparison in the G-Power 3.1.9.2 program. The significance level for all analyzes was determined as $p < 0.05$. The Statistical Program for Social Sciences (IBM SPSS 22.0) was used for the analysis.

RESULTS: Eighteen of the 28 cases included in the study resulted in live birth, and the pregnancies of 10 cases resulted in pregnancy loss. It was observed that kisspeptin measurement averages in cases who had live births changed statistically significantly ($\chi^2=11.44$, $p=0.003$). In this group, kisspeptin values from the first measurement to the second measurement ($p=0.043$), from the first measurement to the third measurement ($p=0.010$) and from the second measurement to the third measurement ($p=0.006$) were found to increase statistically significantly. In addition, the mean values of β -hCG ($p=0.049$) and KISS3 ($p=0.002$) in pregnant women who had a live birth were found to be statistically significantly higher than the mean values of patients with pregnancy loss. In cases with pregnancy loss, mean kisspeptin measurements did not change statistically ($\chi^2=2.60$, $p=0.273$), but kisspeptin values decreased statistically from the first measurement to the third measurement in this group ($p=0.017$). There was a statistically significant positive correlation between β -hCG values and KISS3 values of the patients ($r=0.405$, $p=0.032$), and KISS3 values increased the probability of having a live

birth by 1.05 times at a statistically significant level ($p=0,009$ OR=1,05 [%95 CI 1,01-1,09]) was detected.

CONCLUSION: In our study, kisspeptin measurements measured during IVF treatment of patients whose pregnancies resulted in live birth showed a statistically significant increase ($p=0.003$), and it was found that KISS3 values increased the probability of having a live birth statistically ($p=0,009$ OR=1,05). It was determined that there was a significant decrease ($p=0.017$) from KISS1 measurement to KISS3 measurement in patients who experienced pregnancy loss. In conclusion, in our study, it was shown that the increase in kisspeptin level in IVF treatment is associated with cases resulting in live birth, and studies with larger series are needed to predict live birth and to determine the threshold value of the increase in kisspeptin value.

KEYWORDS: Kisspeptin, Abortion, Assisted Reproductive Techniques

1. GİRİŞ VE AMAC

Gebeliğin ilk 20 haftası içinde, 500 gramdan az fetüs ve eklerinin uterus kavitesi dışına atılması abortus (gebelik kaybı) olarak tanımlanmaktadır. Abortus gebeliğin ilk trimesterinde görülen en sık komplikasyondur (1). Tüm gebeliklerin yaklaşık %15-25'i abortus ile sonuçlanmaktadır. İn vitro fertilizasyon (IVF) tedavisi ile gebe kalanlarda da abortus önemli komplikasyonlardan biridir ve spontan gebeliklerde görülenlerle benzer oranda görülmektedir (2). IVF tedavisi ile gebe kalanlarda anne yaşı, oosit kalitesi ve toplanan oosit sayısının abortus ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (3).

Kisspeptinler, Kiss-1 olarak isimlendirilen gen tarafından transkribe edilen öncül bir proteinden türeyen, Kiss1R (GPR54) olarak bilinen reseptörler aracılığı ile hipotalamo-hipofizer-gonadal aksı etkileyerek ovulasyonda, fertilitede ve pubertede önemli roller aldıkları bilinen, farklı aminoasit uzunluklarındaki peptidlerdir (4). Yapılan çalışmalarda gebelik boyunca periferik dolaşımdaki kisspeptin düzeyi artmakta, son trimesterde gebe olmayan kadınlara göre kisspeptin düzeyi 7000 kat daha fazla bulunmaktadır (5,6). Kisspeptin, insanlarda gebelik boyunca plasentada yüksek oranda eksprese edilir (7). Kisspeptin olası bir plasantasyon belirteci olarak düşünülmektedir ve gebelik komplikasyonlarını öngörmede yeni bir belirteç olarak potansiyel önemi vardır (8,9).

Abortus tanısı, ultrasonografi ve seri β -hCG ölçümleri ile konur. Günümüzde halen, abortus riskini doğru bir şekilde belirleyen güvenilir bir biyobelirteç yoktur. β -hCG en yaygın kullanılan gebelik biyobelirtecidir; ancak erken gebelikte β -hCG düzeylerindeki geniş değişkenlik nedeniyle tek bir ölçümün abortus tanısında değeri sınırlıdır (10). Rong Li ve ark.larının 2021 yılında yayınladığı bir makalede serum kisspeptin, β -hCG 'ye ek olarak abortus

tanısı için umut verici bir biyobelirteç olarak bulunmuştur ve ilk trimesterin geç gebelik haftalarında prediktif değeri β -hCG 'den daha üstün bulunmuştur (11).

Çalışmamızda IVF/ICSI tedavisi sonrası gebelik elde edilen kadınlarda, bazal, embriyo transfer günü ve β -hCG pozitifliği sonrası serum kisspeptin düzeylerindeki değişim değerlendirilmiştir. Ayrıca bu düzeylerin gebelik sonuçlarını öngörmedeki katkısı ile abortus açısından bir biyobelirteç olarak kullanımının değerini belirlemek amaçlanmıştır

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnfertilitenin Tanımı

İnfertilite, çiftlerin bir yıl süresinde korunmaksızın düzenli cinsel ilişkide bulunmalarına rağmen gebe kalamamasıdır. Subfertilite, steril olmayan ancak üreme etkinliği azalmış olan çiftleri veya kadınları tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Fekundabilite bir menstürel siklusta gebe kalabilme olasılığı, fekundite ise bir siklusta canlı doğum olma ihtimali olarak tanımlanır. Daha önce canlı doğumla sonuçlanıp sonuçlanmamasına bakılmaksızın en az bir kez gebe kalmış kişiler sekonder infertil, hiç gebelik yaşamamış kişiler ise primer infertil olarak ifade edilir (12).

Normal fertil çiftlerde, siklus fekunditesi ortalama %20'dir ve koitus dikkatli bir şekilde zamanlanmış olsa dahi %35'i geçememektedir (13). Çocuk isteyen çiftlerin yaklaşık %57'si 3 ay içinde; %72'si 6 ay içinde; %85'i ise 12 ay içinde gebe kalmaktadır (14). Buna bağlı olarak infertilite çiftlerin yaklaşık %10-15'ini etkilemektedir. İnfertilite değerlendirilmesinde, çiftlerin eş zamanlı ve birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Çiftlerin infertilite türü, nedeni, süresi, hormonal değerlendirme, over rezervi, tubal açıklığın belirlenmesi ile semen analizi yapılarak çiftler değerlendirmeye alınır. Son yıllarda yardımcı üreme teknikleri (YÜT) gelişmiş, başarı oranı artmış ve YÜT hakkında bilgilendirilen ve YÜT'e başvuran çiftlerin sayısı artmıştır.

2.2 İnfertil Çiftin Ön Değerlendirmesi

Bir sene ve daha fazla sürede, korunmasız düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebe kalamayan tüm çiftlere değerlendirme önerilmelidir. Ancak bir senelik süre ön koşul değildir. Bariz risk faktörleri varlığında, yani düzensiz veya seyrek menstruel kanamaları, pelvik enfeksiyon, cerrahi veya endometriozis öyküsü veya semen kalitesinde bilinen yada şüpheli yetersizlik bulunan erkek partnere sahip olanlarda ve ayrıca 6 aylık çabaya rağmen gebe kalamayan 35 yaş üstü kadınlarda daha erken değerlendirme yapılmalıdır (15).

İnfertilite ile ilgili değerlendirme ayrıntılı bir anamnez ve fizik muayene bulguları ile başlamalıdır. Fizik muayenede beden kitle indeksi ve kiloya bakılmalı, androjen fazlalığı bulguları, meme salgıları ve özellikleri, tiroid bezinde büyüme, nodül veya hassasiyet, adnekslerde veya *cul-de-sac*'ta kitle veya nodülerite olup olmadığı, pelvik veya abdominal hassasiyet, organ büyümeleri veya kitle sorgulanmalıdır. Anamnezinde gravide, parite ve varsa gebelik sonuçları, siklus uzunluğu ve özellikleri, dismenore ve/veya dispareuni olup olmadığı, cinsel ilişki sıklığı ve cinsel işlev bozukluğu, infertilite süresi, önceki tedavilerinin sonuçları, geçirilen cerrahi işlemler, pelvik enfeksiyon, cinsel yolla bulaşan hastalıklar veya şuan var olan tıbbi hastalıklar, kullanılan ilaçlar, mesleği, alkol, sigara veya diğer maddelerin kullanımı, galaktore, hirsutizm ve tiroid hastalığı belirtileri sorgulanmalıdır.

Düzensiz veya seyrek menstruasyon kanamalarının olması ovulasyon işlev bozukluğunu gösterir. Servikal intraepitelyal neoplazi için önceden uygulanmış tedavi, mukopürülan servisit veya servikal stenozun gözlemlenmesi, serviksin engel oluşturabileceği nadir hastaların belirlenmesine yardımcı olur. Önceki histeroskopik veya rekonstrüktif uterus cerrahisi öyküsü veya yakın zamanda gelişen menoraji semptomları, uterin kavitenin anormalliğini göstermektedir. Geçirilmiş komplike olmayan birinci veya ikinci trimester

gebelik terminasyonları genellikle fertilitiyi olumsuz etkilemez (16). Dismenorenin şiddetlenmesi, disparoni, *cul-de-sac*'ta nodülerite veya hassasiyet gibi fizik muayene bulguları endometriozisi düşündürmektedir. Pelvik enfeksiyon, ektopik gebelik, adneksiyal cerrahi veya rüptüre apendiks öyküsü tubal veya peritoneal hastalık bakımından şüphe uyandırmalıdır.

2.3. İnfertilitenin Nedenleri

Üreme çağındaki çiftlerin %10-15'inde infertiliteye rastlanır (17). İnfertilite nedenleri ve sıklığı bir toplumdan ötekine farklılık gösterir. İnfertilitenin en sık sebepleri; ovulatuvar disfonksiyon, tubal ve peritoneal patolojiler, erkek faktörleri ve nedeni açıklanamayan infertilitelere, uterin patolojiler ise seyrek görülmektedir. Her birisinin sıklığı yaşla birlikte değişmektedir. Genç kadınlarda ovulasyon bozuklukları daha sık iken, tubal ve peritoneal patolojiler genç ve yaşlılarda eşit sıklıkta görülmektedir. Bununla birlikte çiftlerin önemli bir kısmında birden fazla infertilite nedeninin bir arada olduğu görülmektedir (18).

2.3.1. Kadın İnfertilitesi Ve Nedenleri

Kadın infertilitesi ovaryan-ovulatuvar faktörler, uterin faktörler ve tubal faktörler olarak üç grupta incelenmiştir (19).

2.3.1.1. Ovulatuvar Disfonksiyon

İnfertil çiftlerin %15'inde; kadına bağlı infertilitenin %20-40'ında ovulatuvar disfonksiyon vardır (17). Ovulasyon için hipotalamus, hipofiz ve over aksının düzenli çalışması gerekir. Ovulasyon disfonksiyonu, gebe kalmayı önleyecek kadar şiddetli olabilir (anovulasyon) veya sadece katkıda bulunan bir faktör olabilir (oligoovulasyon). Üreme çağındaki kadınlarda normal menstrüel siklus süresi 24 ile 38 gün arasında değişmektedir (20). Aylık siklusları düzenli olup, premenstrüel dönemde meme hassasiyeti, dismenore gibi

semptomları olan kadınlar tipik olarak ovulatuardırlar (21). Ovulasyon bozuklukları genelde düzensiz menstrüel periyotlar veya adet görememe (amenore) ile karakterizedir (20).

Ovulasyonun saptanmasında kullanılan testler;

1- Bazal vücut ısı (BVI): Sabahları uyandıktan sonra ve yataktan kalkmadan önce istirahat halinde vücut ısı ölçülür. BVI, tipik olarak foliküler faz sırasında düşüktür, luteal fazda ılımlı şekilde yükselir. Menstruasyondan hemen önce veya sonrasında ise bazal seviyelere düşer. Bifazik paterne sahiptir. Progesteron seviyesi, ovulasyondan sonra yükseldikçe BVI da yükselir (22). Ardışık 3 gün vücut ısının yükselmesi durumunda ovulasyon olduğu varsayılır. BVI ölçümü çoğu infertil çift tarafından tercih edilen bir ovulasyon saptama testi değildir (17).

2- Serum progesteron konsantrasyonu: Progesteron düzeyleri foliküler fazda 1 ng/ml'nin altında seyreder, luteinizan hormon (LH) dalgalanma gününde hafifçe yükselir, ovulasyondan 7-8 gün sonra pik yapar ve menstruasyon öncesi tekrardan azalır (22). Beklenen menstruasyon gününden 7 gün önce bakılan progesteron değeri 3 ng/ml'nin altında ise anovulasyon anlamına gelir (23).

3- Ultrasonografi ile Takip: Seri ultrasonografi ölçümleri ile preovulatar folikülerin gelişimi, dominant folikülün seçilimi ve ovulasyondan sonra dominant folikülün gerilemesi ile ovulasyon belirlenebilir.

4-Üriner LH Atılımı: Ovulasyon genelde LH dalgalanması tespit edildikten 14-26 saat sonra ve genellikle 48 saat içerisinde gerçekleşir. Bu sebeple LH yükselmesinin tespiti ile ovulasyon zamanı saptanabilir (24). İdrardaki LH artışını tespit eden 'ovulasyon tahmin kitleri'

ile ovulasyon zamanı saptanabilir. Öngörülen LH artışından 2-3 gün önce teste başlanmalıdır. Ovulasyon, idrarda LH piki görüldükten sonraki gün gerçekleşmektedir (22).

5-Endometrial Biyopsi: Anovulatuvar kadınlar her zaman foliküler fazdadır; endometriumları her zaman proliferatiftir ve hatta endometrium , östrojenin sürekli uyarısına maruz kaldığı için hiperplastik hale gelebilir. Ekzojen progesteron veya sentetik bir progestin ile tedavi edilmediği takdirde sekretuar endometrium yakın zamanda ovulasyon olduğunu gösterir (22). Endometrial biyopsi, günümüzde ovulasyon saptanmasında rutin kullanılan bir yöntem değildir.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), anovulatuvar hastaları endojen östrojen, gonadotropin ve prolaktin düzeylerine göre 4 gruba ayırmıştır.

a. DSÖ Grup 1; Hipogonadotropik hipogonadizmli ovulatuvar bozukluk

Bu grup anovulatuvar infertilitenin %5-10'unu oluştururlar. Bu hastalarda progesteron çekilme kanaması görülmez. Östrojen seviyeleri düşük, prolaktin seviyeleri normal ve genellikle amenoreiktirler. Folikül stimüle edici hormon (FSH) normal veya düşük olabilir. Hipotalamik gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) salınımının azalması veya hipofizin GnRH'a cevapsızlığı veya hipofizin hasar görmesi söz konusudur. Başlıca nedenleri; fonksiyonel hipotalamik disfonksiyon (kilo kaybı, aşırı egzersiz, stres, anoreksia nervroza), izole GnRH salınım defekti (Kallman Sendromu), idiyopatik hipogonadotropik hipogonadizm, hipofiz tümörü ve hipofiz infarktı (Sheehan Sendromu)'dır (25). Bu gruptaki kadınlara kitle varlığını dışlamak için hipotalamik-pitüiter görüntüleme önerilmektedir.

b. DSÖ Grup 2; Normogonadotropik normogonadizimli ovulatuvar bozukluk

Anovulatuvar hastaların %75-85'ini oluşturur. Serum FSH ve östrojen düzeyleri normaldir, serum LH düzeyleri ise yüksek veya normal olabilir. Bu hastalarda progesteron çekilme kanaması görülür. Hastaların neredeyse çoğu PKOS (Polikistik Over Sendromu) olgularıdır (25). Özellikle oligomenoreik olan PKOS olgularında nadiren ovulasyon görülür (26,27). PKOS'lu kadınlar kardiyovasküler hastalıklar ve glisemik durum açısından değerlendirilmelidir (28).

c. DSÖ Grup 3; Hipergonadotropik hipogonadizimli ovulatuvar bozukluk

Anovulatuvar olguların %10-20'sini oluşturur. FSH ve LH seviyeleri yüksek, serum östrojen seviyeleri düşüktür. Primer sebepleri prematür ovaryan yetmezlik (idiopatik, genetik, radyoterapi/kemoterapiye sekonder, cerrahiye sekonder veya otoimmün yetmezlik sonucu olabilir) veya rezistans over sendromudur. Rezistans over sendromu nedenleri; intraovaryan modölatör bozukluğu, azalmış gonadotropin reseptör aktivitesi, folikül uyarıcı hormon reseptör geninde defekte ek olarak Turner Sendromu (45,X) ve androjen duyarsızlığı sendromu (46,XY) neden olabilir. Bu olgular çoğunlukla amenoreik olup anovulasyon tedavisine cevap vermemektedirler (29).

d. Hiperprolaktinemi ile seyreden ovulatuvar bozukluk

Oligomenoreik kadınlarda %5-10 oranında hiperprolaktinemi görülür. GnRH salgısında azalmaya yol açıp hipogonadizm oluşturarak infertiliteye neden olabilir. Serum FSH değerleri düşük yada düşük-normal ve serum östrojen seviyeleri görece düşüktür. Hastaların %40–50'sinde neden prolaktinomalardır. Kitle lezyonunu ekarte etmek için hipotalamik-hipofizer

görüntüleme endikedir. Hastaların %30'unda neden tespit edilemez ve %3-5'inde primer hipotiroidi saptanır. Ayırıcı tanıda serum TSH düzeyi ölçülmelidir (21).

Over rezervinin değerlendirilmesi: Ovaryan rezerv terimi geriye kalan ovaryan foliküler havuzun boyutu ve kalitesi ile overlerin ekzojen gonadotropin stimülasyonuna yanıt verme yeteneğini ifade eder (22).

1- Bazal FSH ve Östradiol Konsantrasyonları: Serum FSH konsantrasyon ölçümünde en uygun zaman erken foliküler fazdır (siklusun 2-4. günler arası). FSH düzeyinin 10 IU/L'den yüksek olması stimülasyona zayıf yanıtı düşündürür. Bazal serum östradiol düzeyi tek başına over rezerv testi olarak yetersizdir ancak FSH ile birlikte over rezervi hakkında ek bilgi sağlayabilir (30). Yüksek serum östradiol seviyesi ilerlemiş foliküler gelişimi ve dominant folikülün erken seçilmesini yansıtır (22). Bu durum FSH konsantrasyonunu baskılayarak normalde yüksek olan FSH seviyesinin düşük ölçülmesine neden olur. Bazal FSH normal, serum östradiol değeri yüksek (>60-80 pg/ml) olduğunda stimülasyona zayıf yanıt olasılığı artmaktadır ve gebelik şansı buna bağlı olarak azalmaktadır (31). Hem FSH hem östradiol yüksek ise stimülasyona yanıt muhtemelen çok düşük olacaktır.

2- Antimüllerian Hormon (AMH) : Preantral ve küçük antral foliküllerin granüloza hücrelerinden sentezlenmektedir. Küçük antral foliküllerin sayısı ile rezidüel foliküler havuzun büyüklüğü korelasyon gösterir ve AMH değerleri menopozda ölçülemeyecek düzeylere inmektedir (32,33).

3- Antral Folikül Sayısı: Her iki overdeki 2-10 mm çapındaki toplam antral folikül sayısı, ovaryan rezervin dolaylı yoldan ölçümünü sağlamaktadır (34). Overdeki küçük antral folikül sayısının, kalan primoridal folikül sayısı ile doğru orantılı olduğu çalışmalarda

gösterilmiştir (35). Bu nedenle primordial folikül sayısı azaldıkça, görünebilir (>2 mm) küçük antral foliküllerin sayısı da azalacaktır. Ayrıca antral folikül sayısı, IVF sikluslarında toplanan oosit sayısı ile de ilişkilidir (36).

4- Over Hacmi: Ovaryan rezerv testi olarak sınırlı bir kullanımı olsa da over hacmi foliküllerin progresif olarak tükenmesi ile azalır (37). Küçük over hacmi (<3 ml) , ovaryan stimülasyona yanıtın zayıf olacağına öngörmede yüksek spesifiteye sahipken, sensitivitesi son derece değişkendir (38).

2.3.1.2. Tubal ve Peritoneal Patolojiler

Tubal ve peritoneal faktörler infertil çiftlerin % 35’inde görülmekte olup; kadın infertilitesinin de yaklaşık %30-40’ının nedenidir. Sebepleri arasında geçirilmiş pelvik veya tubal cerrahi, rüptüre apandisit, ektopik gebelik, septik abortus, pelvik tüberküloz, pelvik inflamatuvar hastalık veya endometriozis sonrası gelişen peritubal-periovaryan adezyonlar sayılabilir (39).

Tubal faktörde sperm ile oositin karşılaşmasına engel olan anatomik problemler vardır. Proksimal tubal tıkanıklıklarda, fertilizasyonun gerçekleşeceği tubanın ampulla bölgesine spermin geçişinde; distal tıkanıklıklarda ise oositin fimbria tarafından yakalanması veya ampullaya transportunda problem vardır.

Rekonstrüktif cerrahi hafif distal tubal obstrüksiyon veya peritubal adezyonları olan genç kadınlarda hala uygulanabilir bir seçenektir ve postoperatif canlı doğum oranları %50’yi geçmektedir (40,41). Bununla birlikte şiddetli distal tubal hastalığa sahip olgularda IVF başlıca tedavi olmalıdır. Şiddetli distal tubal obstrüksiyonlarda tubal sekresyonların lümende birikmesi ile hidrosalpinks gelişmekte ve tubal epitele ait siliyalarda hasar oluşturmaktadır. Zeyneloğlu

ve arkadaşlarının retrospektif çalışmaları inceleyerek yaptığı meta-analizde spontan gebelik oranlarının hidrosalpinks varlığında %50 azaldığı, spontan abortus oranlarının ise iki kat arttığı belirtilmiştir (42,43). Ek olarak benzer olumsuz etkilerin IVF sonuçlarına da yansıdığı çalışmalarca gösterilmiştir (44,45). Hidrosalpinksin gerek IVF gerekse spontan gebelikler üzerindeki olumsuz etkisinin olası mekanizmaları, implantasyonun mekanik olarak etkilenmesi ya da hidrosalpinks sıvısının embriyo veya endometrium üzerindeki toksik etkileri olarak öne sürülmektedir (45,46).

İnfertil çiftlerde tubal açıklığın değerlendirilmesi için histerosalpingografi (HSG) ve laparoskopi birbirini tamamlayan iki yöntemdir (47). Tubal faktörlerin tedavisi cerrahidir ancak yardımcı üreme tekniklerinin giderek artan başarı oranları nedeniyle tubal faktör infertilitesinde cerrahi endikasyonlar daha sınırlı bir hal almaktadır (48). Histerosalpingografide gözlenen proksimal tubal oklüzyon, çoğunlukla işlemin kendisine karşı bir reaksiyon olarak oluşan 'kornual spazm' veya diğer teknik yanlışlamalardan kaynaklanır. Bu tanı gereksiz yere IVF tedavilerini engellemek adına mutlaka doğrulanmalıdır.

Endometriozis fertil kadınlarda % 3-10, infertil kadınlarda % 20-40 oranlarında görülür (49). Hastalığın şiddeti arttıkça fertilitate kötü yönde etkilenir. Overleri tutan endometriomaların ve ilerlemiş endometriozisin infertiliteye etkisi kesin olarak saptanmış iken; orta-hafif hastalığın etkisi tartışmalıdır. Endometriotik lezyonların fibrozis ve proksimal tubal obstrüksiyon oluşturarak ovulasyon sonrası ovumun yakalanmasını inhibe eden bozulmuş bir adneksiyel anatomiye sebep olduğu düşünülmektedir (49,50). Yine bu bölgelerde gelişen inflamatuvar yanıt sperm transportunu, tubal motiliye, oosit gelişimini veya erken embriyogenezi bozmaktadır (50-53).

Endometriozis, YÜT ile tedavi önerilen hastaların yaklaşık % 9’unda primer tanıyı oluşturur ancak infertilitesi olan her hasta endometriozis için bir taramadan geçmediğinden dolayı bu sayının daha yüksek olduğu düşünülmektedir. İleri evre endometriozisi olan infertil kadınlarda cerrahi ve IVF tedavi seçenekleri arasında kabul edilmektedir. Cerrahi tedavi sonrası ekspektan yönetim, ampirik tedavi yaklaşımları ve IVF arasındaki seçim hastanın yaşı, cerrahi sonuçlar ve eşlik eden infertilite sebeplerine göre planlanmalıdır (54).

2.3.1.3. Açıklanamayan İnfertilite

Açıklanamayan infertilite tanısı bir sene düzenli cinsel ilişkiye rağmen çocuk sahibi olamayan çiftin, erkek ve kadın faktörü açısından temel infertilite değerlendirme sonuçlarının normal olması ile konulur. Bir dışlama tanısıdır. Bu tanı, çiftlerin semen analizi, ovulasyon fonksiyonu ve uterin kavitesinin normal olduğuna ve tubaların en azından bir tarafta açık olduğuna işaret eder. İnfertil çiftlerin ve kadına bağlı infertilitenin %10’unda saptanmaktadır (55). Bu hastalarda siklus fekunditesi %2-4’tür. Hastaların tedavisindeki amaç, altta yatan bozukluğu düzeltmek değil, siklus fekundabilitesini arttırmaktır.

Açıklanamayan infertilite tedavisini değerlendiren çalışmalarda, tedavi edilmeyen hastalarda siklus fekundabilitesi %2-4 arasında ve normal fertil çiftlere kıyasla (%20-25) yaklaşık %80-90 daha düşüktür (56). Tedavisiz gebelik olasılığı, kadın partnerin yaşının artması ve infertilite süresinin uzamasıyla birlikte progresif olarak azalmaktadır (57,58).

Açıklanamayan infertilite hastaları için iki potansiyel açıklama vardır: [1] gerçekten bir anormallik yoktur ve muhtemelen kadın partner yaşı veya ilerlemiş reproduktif yaşlanmadan dolayı, çiftin doğal fertilitesi normal aralığın en alt sınırındadır. [2] Belirli bir neden vardır ancak bu neden mevcut tanı testleri ile belirlenememektedir. Mantıksal olarak,

infertilitenin en olası gizli nedenleri, henüz geçerli bir tanısıl testi olmayan gamet veya implantasyon bozukluklarıdır.

Açıklanamayan infertilitenin olası etiyolojileri;

- ❖ Erken embriyonel implantasyonda bozulmuş endometriyal reseptivite
- ❖ Anormal tubal siliyal hareket
- ❖ Bozulmuş oosit ve/veya sperm fertilizasyon kapasitesi
- ❖ İmmünolojik faktörler
- ❖ Bozulmuş peritoneal makrofaj aktivitesi
- ❖ Bozulmuş peritoneal sıvı antioksidan fonksiyonu

Açıklanamayan infertilitede sebep belli olmadığı için tek bir tedavi protokolü bulunmamaktadır ve tedavi ampiriktir. Açıklanamayan infertilitesi olan kadınlar için tedavi seçenekleri şunları içermektedir; ekspektan yönetim, klomifen ile birlikte intrauterin inseminasyon (IUI), gonadotropin kombine IUI ve IVF'tir (56, 59,60). Tüm tedavi seçeneklerinde kadın yaşı arttıkça başarı şansı progresif olarak azalmaktadır. Tedavi yöntemlerinin değişmesine rağmen temel strateji doğru zamanda doğru yerde normalden daha fazla sayıda sperm ve oositi bir araya getirmektir.

2.3.1.4. Uterin Faktörler

Kadına ait infertilite sebeplerinden %2-5'ini oluşturmaktadır. Uterin patolojiler; leiomyomlar, adenomyozis, konjenital uterin malformasyonlar, intrauterin adezyonlar, kronik endometrit ve endometriyal poliplerdir. Embriyonun implantasyonunu engellemeleri dışında,

1. ve 2. trimester spontan gebelik kayıpları, preterm doğum, servikal yetersizlik, prezentasyon anomalileri ve intrauterin gelişme geriliği ile de ilişkilendirilmiştir.

2.3.2. Erkek İnfertilitesi ve Nedenleri

Günümüzde infertil çiftlerin %20'sinde erkek faktörlerinin tek sebep olduğu; çiftlerde ise % 35 oranında erkek infertilitesinin eşlik ettiği bilinmektedir (61). Çoğu erkekte doğru tanı ve tedavi durumunda tıbbi veya cerrahi müdahaleler ile düzeltilebilecek bir bozukluk mevcuttur. Erkek infertilitesinde, etiyolojik faktörler pretestiküler, testiküler ve posttestiküler nedenler olarak gruplandırılmaktadır. Pretestiküler nedenler testis kaynaklı bir patolojinin olmadığı ve primer spermatogenezin etkilendiği patolojilerdir. En sık endokrin nedenlere bağlı görülür. Testiküler nedenler ise testisin kendi dokusundan kaynaklanan (kriptorşidizm, immotil silia sendromu, varikosel, klinefelter sendromu vb.) yine primer spermatogenezin etkilendiği patolojilerdir. Posttestiküler nedenler ise ejakulasyon disfonksiyonu veya obstrüksiyon bozukluğu yapan patolojilerdir.

Erkek infertilitesi araştırılırken tıbbi öykü ve üreme öyküsü, bir ürolog ya da bu konuda uzman kişi tarafından yapılmış fizik muayene ve semen analizi gerekmektedir. Sonuçlara göre ek testler istenebilir. Bu testler; semen analizi tekrarı, endokrin değerlendirme, postejakulatuar idrar analizi, ultrasonografi, semen ve spermle ilgili özel testler ile genetik tarama olarak sayılabilmektedir.

Özellikle korunmasız düzenli 1 yıllık cinsel beraberliğe rağmen gebelik oluşmuyorsa, erkek eşin değerlendirilmesi kadının değerlendirilmesi ile aynı anda başlar. Eşi 35 yaş üzerinde ve daha büyük olan, fertilitelerini sorgulayacak nedeni olan, belirgin bir infertilite riski olan erkeklerde daha erken klinik değerlendirme gerekmektedir.

Erkek infertilisinin değerlendirilmesinde ilk yapılması gereken semen analizidir. Semen örneği en az 2 en fazla 7 günlük cinsel perhiz sonrası tercihen mastürbasyon yöntemi ile alınır. Daha kısa perhiz süresi semen yoğunluğunda ve volümünde azalmaya yol açarken, sperm motilite ve morfolojisi üzerinde az bir etkiye sahiptir (62). Daha uzun perhiz sürelerinde ise semen volüm ve yoğunluğunda artış olmasına rağmen ölmüş, hareketsiz, morfolojisi anormal sperm sayısında artış meydana gelmektedir (63). Eğer sonuçta anormallik var ise en az 4 hafta sonra ikinci bir örnek alınmalıdır (64). Semen analizinde volüm, pH, motilite, konsantrasyon, vitalite ve morfoloji değerlendirilir. Bu parametrelerin referans değerleri için DSÖ kriterleri esas alınmaktadır (**Resim 1**) (65).

Resim 1 - Semen Analizi Referans Değerleri (DSÖ) (66)

Parametre	Alt referans değeri
Hacmi (ml)	1,5 (1,4-1,7)
Sperm sayısı (10 ⁶ /ejakülat)	39 (33-46)
Konsantrasyonu (10 ⁶ /ml)	15 (12-16)
Toplam motilite (%)	40 (38-42)
İleriye doğru hareketlilik (%)	32 (31-34)
Vitalite (canlı sperm, %)	58 (55-63)
Morfolojisi (normal formlar, %)	4 (3,0-4,0)
Uzlaşılan diğer eşik değerler	
pH	≥7,2
Peroksidaz pozitif lökositler (10 ⁶ /ml)	<1,0
MAR testi (partiküllere bağlı hareketli sperm, %)	<50
İmmunobead test (boncukların bağlandığı hareketli sperm, %)	<50
Seminal früktoz (μmol/ejakülat)	≥13

Bazı semen değişkenleri için terminoloji şu şekildedir:

- Normozoospermi: Referans değerlerle tanımlanan normal ejakülat
- Oligozoospermi: Sperm sayısının az olması
- Astenoospermi: Sperm motilitesinin az olması

- Teratozoospermi: Normal morfolojideki spermilerin oranının % 4'den az olması
- Azospermi: Ejakülatta hiç spermatozoa bulunmaması
- Aspermi: Hiç ejakulat olmaması
- Astenooligozoospermi: Hareketli spermilerin azlığı ve sayısının 15 milyon/ml'den az olması
- Lökospermi: Ejakülatta eşik değerinin üzerinde lökosit izlenmesi
- Kriptoospermi: Taze preparatta sperm izlenmese de santrifüj edilen pelette izlenmesidir.

Ciddi oligospermisi (sperm konsantrasyonu <5 milyon/ml) olan hastalarda ek olarak genetik değerlendirme endikasyonu vardır. Eğer mümkünse, medikal veya cerrahi tedavi ile kötü semen parametrelerini düzeltmek veya iyileştirmek ilk ve en iyi seçenektir. Eğer tedavi mümkün değilse, IUI erkek faktör infertilitesi olan çiftlerde siklus fekditesinin arttırabilir. Total motil sperm sayısı 10 milyonun üzerindeyken IUI ile en başarılı sonuçlar elde edilir (67,68). IUI mümkün olmadığında, başarısız olduğunda yada IUI başarısının prognozu düşük ise IVF mantıklı bir alternatiftir. Morfolojik olarak normal olan sperm oranı % 4'ün altında olduğunda geleneksel fertilizasyon oranları düşmektedir (69). Ciddi teratospermi durumunda ICSI (Intrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu) tercih edilebilmektedir.

2.4. Yardımcı Üreme Teknikleri (YÜT)

Yardımcı Üreme Teknikleri, infertil çiftlerin çocuk sahibi olabilmelerini sağlayan tekniklerin hepsine verilen isimdir (70). YÜT'deki gelişmeler son yıllarda bu alanı bir teknoloji ve endüstri haline getirmiştir. Bu teknikler hastanın yaşı, infertilite süresi, infertilite nedeni gibi birçok etken sorgulanarak klinisyenin öngörüsü ve tecrübesi doğrultusunda seçilerek hastaya uygulanmaktadır. Bu yöntemlerden ilk geliştirilen ve en yaygın olarak kullanılanı IVF'dir.

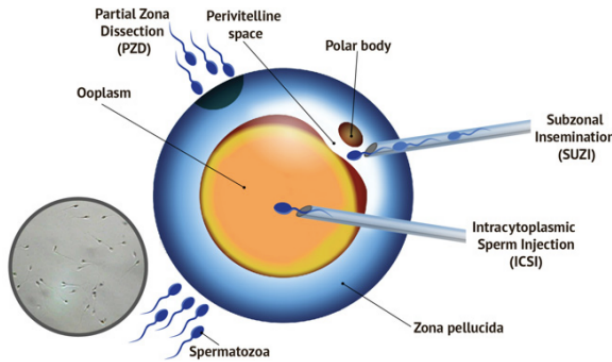
IVF: Kontrollü ovaryan stimölasyon sağlamak için ekzojen gonadotropin verilerek oluşturulan oositlerin, transvajinal ultrasonografi (TV-USG) eşliğinde vajinal yoldan toplanması, laboratuvar ortamında fertilize edilerek, transservikal yoldan endometrial kaviteye transfer edilmesi işlemidir. IVF ile elde edilen ilk gebelik 1976 yılında bildirilmiştir ve ektopik gebeliktir (71). IVF ile dőnyaya gelen ilk sağlıklı bebek 1978’de doğmuştur (72). IVF, ilk olarak tubal faktör infertilitesi olan hastalar için kullanılmıştır (72). Ancak günümüzde IVF uygulamaları ciddi tubal hasar, şiddetli erkek faktörü, ileri evre endometriozis gibi başka yolla tedavi edilemeyecek kesin endikasyonların yanında diğer tedavilerin başarısız olduğu multifaktöriyel infertilite durumlarında da kullanılmaktadır.

IVF uygulamalarında başarıyı etkileyen en önemli faktör kadının yaşıdır (73). Artan yaş ile birlikte ovaryan stimölasyona alınan yanıt progresif olarak azalır, daha az oosit ve embriyo elde edilir (74). Artmış embriyo anöploidisi nedeniyle daha düşük embriyo implantasyon oranı izlenir (75,76). IVF başarısının yaşa bağlı azalmasının temel nedeni yaşlanan oositlerdeki artmış anöploidi prevalansıdır (77). Artmış anöploidi prevelansı da yardımcı üreme tekniklerindeki düşük oranını yansıtır, 35 yaşın altında % 15’ten az, 38 yaşında % 20, 40 yaşında % 29 ve 44 yaş üzerinde % 60’tır (78).

GIFT (Gamet Intrafallopian Transfer): İlk olarak 1984 yılında Asch tarafından tanımlanan bu yöntem, başlangıçta tubal patolojinin olmadığı, açıklanamayan infertilite ve erkek infertilitesi olanlarda tercih edilmiştir. Bu yöntemde toplanan oositler ve sperm bir araya getirilip laparoskopik olarak tubanın ampulla bölgesine transfer edilir. Uygulama sırasında genel anestezi verilmesi, fertilizasyon ve embriyo gelişiminin in vitro izlenememesi ve ektopik gebelik riskinin fazla olması dolayısı ile bu yöntem fazla kullanılmamıştır (79-81).

ZIFT (Zigot Intrafallopian Transfer): Bu yöntemde zigot tubalara laparoskopik olarak transfer edilir. Embriyo transferi yapılamayan durumlarda ZIFT ve GIFT tercih edilir. ZIFT’de fertilizasyon in vitro olurken GIFT’de fertilizasyon in vivo olmaktadır. ZIFT ve GIFT de İVF’e göre ektopik gebelik oluşma riski daha fazladır.

ICSI (İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu): ICSI şiddetli erkek infertilitesi için geliştirilmiş bir yardımcı üreme tekniğidir (82). Daha önceki IVF uygulamalarında düşük fertilizasyon olup ileri derecede anormal semen parametrelerine sahip, epididimden veya testisten cerrahi yöntemlerle toplanan spermelerin kullanıldığı işlemlerde ve ileri kadın yaşı, oosit sayısının az olması gibi düşük fertilizasyon riski taşıyan olgularda ICSI önerilir (82). ICSI tek bir sperm hücresinin zona pellusida ve oolemmayı geçip, direkt olarak ooplasmaya verilmesi işlemidir.



Resim 2: İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI) (83)

İntrauterin İnseminasyon (IUI): İntrauterin inseminasyon infertilite tedavisinde yıllardır yaygın olarak kullanılan bir uygulamadır. IUI, spermatozoanın direkt olarak uterus kavitesine verilmesi işlemidir. Düşük sperm sayısı, zayıf motilite, zayıf penetrasyon yeteneği ve servikal faktör bozukluklarında daha fazla sayıda motil spermin fertilizasyon alanına ulaşmasını sağlar (84). Yöntem ovulasyon zamanlaması yapılarak uygulanır. Açıklanamayan infertilite, servikal

faktör, hafif-orta erkek faktörü, ciddi vajinismus, evre I-II endometrioziste tercih edilebilir. Fekundabilityi artırmak amacıyla IUI genellikle kadına ovulasyon indüksiyonu tedavisinin uygulanması ile birlikte gerçekleştirilir. Avrupa Üreme Tıbbı ve Embriyoloji Derneği'ne (ESHRE) göre IUI sonrası canlı doğum oranları %8.9 olarak belirtilmiştir (85).

2.5. Ovulasyon İndüksiyonu

Ovulatuvar disfonksiyon, infertil çiftlerin %15'ini, kadına bağlı infertilitenin %20-40'ını etkileyen bir durumdur (17). Bu hastaların spontan gebe kalabilme olasılığı düşüktür. Bu nedenle ovulatuvar disfonksiyonu olan kadınlarda ovulasyon indüksiyonu için klomifen sitrat, letrozol, gonadotropinler ve metformin gibi bir takım ajanlar kullanılmaktadır. Ovulasyon indüksiyonunda amaç multifoliküler gelişim değil, monofoliküler gelişim ardından monoovulasyonu sağlayıp sağlıklı tekiz canlı doğuma ulaşmaktır.

2.5.1. Klomifen Sitrat (CC) ile Ovulasyon İndüksiyonu

Klomifen sitrat, oral uygulanan nonsteroidal selektif bir östrojen reseptör modulatörüdür. Hem agonist hem antagonist etkileri vardır (86). Seçilmiş hastalarda, uygulama kolaylığı ve ucuz oluşu nedeniyle ovulasyon indüksiyonunda ilk basamakta yer almaktadır. Ovulasyon indüksiyonunda kullanılan dozlarda hipotalamus ve hipofizdeki östrojen reseptörlerine bağlanıp endojen östrojenin negatif *feedback* etkisini ortadan kaldırarak antiöstrojenik etki gösterir. CC, östrojen reseptörlerine haftalarca bağlandığından, östrojen reseptörlerinde down regülasyon oluşturur. Hipotalamus ve hipofiz dolaşımdaki östrojeni algılayamayacağından, GnRH salınımı artar, sonuçta hipofizden daha fazla FSH salgılanır. FSH salınımı ile gelişen dominant folikül östrojen düzeyini arttırarak midsiklus LH pikini ve ovulasyonu tetikler (87). Klomifenin etki gösterebilmesi için hipotalamo-hipofizer-ovaryan aksın sağlıklı olması gereklidir. Bu nedenle hipogonadotropik hipogonadal anovulasyonu olan

hastalarda kullanılmaz. Özellikle oligo/anovulatuvar PKOS'lu hastaların ovulasyon indüksiyonunda ikinci basamak tedavide kullanılır (88).

Klomifen sitrat, siklusun 2-5. günlerinden itibaren 5 gün süreyle kullanılır. Başlangıç dozu günlük 50 mg'dır. Amenoreli kadınlarda gebelik dışlandıysa, endometrial dökülmeyi beklemeden tedavi hemen başlatılabilir. Eğer tedavi sonrası IUI yapılmayacaksa hastaya adet 10-20. günleri arasında gün aşırı koitus önerilir. Ovulasyon tespiti amacıyla 21-24. günler arasında kanda progesteron düzeyine bakılır. Progesteron 3 ng/ml üzerinde ise ovulasyon sağlanmıştır. Ovulasyon indüksiyonu ultrasonografi ile takip ediliyorsa adet 10. Gününden itibaren dominant folikül gelişimi takip edilir. IUI planlanıyorsa dominant folikül boyutu 21-22 mm olunca hCG ile tetikleme yapılabilir (89). Ovulasyon, hCG enjeksiyonundan 34-36 saat sonra gerçekleştiğinden IUI yaklaşık 36 saat sonra yapılır. Başlangıç dozu folikül gelişimi için yeterli değil ise doz 50 mg artırılır (90).

CC tedavisi ile ovulasyon oranları %70-92 arasında değişir ancak gebelik oranları daha düşüktür (91). Klomifen tedavisine yanıt veren anovulatuvar infertil kadınlar arasında, toplam siklus fekundabilite oranı yaklaşık %15'tir. Bu uyumsuzluk CC'nin endometrium ve servikal mukus üzerine olan antiöstrojenik etkisine bağlı olabilir (92). %70-75 kümülatif gebelik oranları 6-9 tedavi siklusunda beklenebilir. Bundan sonra, siklus başına fekundabilite önemli ölçüde düşer. Siklus iptal oranları ise doğal siklus ile karşılaştırıldığında daha düşüktür. Toplanan oosit sayısı, transfer edilen embriyo sayısı ve gebelik oranları ise daha fazladır (93).

Klomifen tedavisi genellikle çok iyi tolere edilir. Geçici sıcak basmaları, genellikle kısa süreli tedavi ile sınırlıdır, %10-20 kadında görülür (94). Klomifenin endojen östrojen seviyelerinin düşük olduğuna dair bir santral yanlış algılamaya sebep olduğu düşünüldüğünde, vazomotor yan etkilerin oluşması son derece normaldir. Baş ağrısı, meme hassasiyeti ve bulantı

%2-5 oranında görülür. Görme bozuklukları (çift görme, skotom, ışık hassasiyeti) nadirdir (%1-2) ve geri dönüşümlüdür. Ancak kalıcı palinopsi ve ışık hassasiyeti rapor edilmiştir (95).

2.5.2. Letrozol (Aromataz İnhibitörleri) ile Ovulasyon İndüksiyonu

Aromataz, östrojenlerin üretiminde hız sınırlayıcı aşamayı katalize eden bir mikrozomal sitokrom P450 hemoprotein içeren enzimdir. Androstenedion ve testosteronun, östron ve östradiole dönüştürülmesini sağlar. Letrozol ve anastrozol, potent, geri dönüşümlü, kompetatif, nonsteroidal aromataz inhibitörleridir. Aromataz enzimini inhibe ederek dokulardaki östrojen biyosentezini azaltırlar. Exemestane ise steroid yapıda olup aromataz enzimini geri dönüşümsüz olarak inhibe eder, dolayısı ile etki süresi daha uzundur.

Klomifen sitrat, östrojenin santral etkisini azaltarak merkezi östrojen reseptörlerini azaltıp, FSH salınımını artırır ancak aromataz inhibitörleri direkt periferik östrojen sentezini azaltarak FSH salınımını arttırmazlar. Aromataz inhibitörleri, östrojen üretimini hem periferde hem de beyinde bloke ederler ve bunun sonucu olarak hipofiz bezinden ovaryen foliküler gelişimi uyaran gonadotropin sekresyonunda kompensatuar bir artış olur (96,97). Klomifene benzer şekilde düşük serum östrojen konsantrasyonları ve işlevsiz bir hipotalamus-hipofiz-over aksı olan hipogonadotropik hipogonadizmlili (DSÖ Grup I) kadınlarda etkisizdir.

Letrozol, PKOS'lu kadınlarda ovulasyon indüksiyonu için tercih edilen birinci basamak ilaç olarak kabul edilmektedir (88). Alternatif olarak klomifen sitrat ve metformin kullanılmaktadır. Bununla birlikte hem yalnızca klomifenin hem metformin ile klomifen kullanımının canlı doğum oranları letrozolden daha düşüktür (98). Letrozol ile indüklenen sikluslarda klomifen ile indüklenenlere göre daha yüksek luteal faz progesteron seviyeleri ve

daha düşük östradiol seviyeleri, letrozol ile daha yüksek canlı doğum elde edilmesinin arkasındaki mekanizma olabilir (88).

Letrozolün avantajları; ilacın kesilmesini takiben büyüyen foliküllerden salınan östrojenin negatif *feedback* etkisi ile gonadotropin sekresyonunun hızlıca azalması sonucu multifoliküler gelişim engellenir. Klomifen sitrattan daha kısa yarı ömre sahiptir. Östrojen reseptör blokajı yapmaması nedeniyle endometrium üzerine doğrudan antiöstrojenik yan etkisi yoktur.

Spontan menstürel kanama veya progestin kaynaklı kanamayı takiben 3 ile 5. günler arasında herhangi bir günde kullanılmaya başlanabilir (99). Amenore olan kadınlarda endometrial dökülme beklenmeden tedaviye başlanabilir ancak gebelik ekarte edilmelidir. Başlangıç dozu 5 gün boyunca günde 2,5 mg'dır. Ovulasyon meydana gelmezse, doz 5 mg/güne, maksimum 7,5 mg/güne kadar yükseltilebilir.

Letrozol genellikle iyi tolere edilir, en yaygın yan etkileri baş ağrısı, yorgunluk ve kramplardır (88). Ovulasyon indüksiyonunun majör riski, çoğul gebelik meydana gelmesidir. Letrozolün kesilmesini takiben serum FSH seviyesinde hızlı bir düşüş beklense de, monofoliküler gelişim insidansı ve çoğul gebelik riski klomifen ile benzerdir (100). Çoğul gebelik riski yaklaşık %3-7'dir. Hastada multifoliküler gelişim riskinden şüphelenildiğinde (önceki öykü yada yüksek dozda letrozol ihtiyacı) ovaryan yanıtı monitörize etmek ve siklusu iptal etmek tedbirli olacaktır.

2.6. Kontrollü Ovaryen Stimülasyon Protokolleri

İn vitro fertilizasyon yönteminde başarı oranını arttırmak ve birden fazla folikülün eşzamanlı gelişimini sağlamak için kontrollü ovaryen hiperstimülasyon yöntemi

kullanılmaktadır. Bu yöntem tek seferde birden fazla embriyo gelişmesini mümkün kılmaktadır (93). IVF dışı siklularda ovulasyon indüksiyonunda hedef monofoliküler gelişimdir. IVF’de ovaryen stimölasyonu sağlamak için uygulanan birden çok rejim vardır. Bunlar arasında hiç uyarım yapmamak (doğal siklus), selektif östrojen reseptör modölatorlerinin kullanılması, aromataz inhibitörlerinin kullanılması, günlük eksojen foliköl stimöl edici hormon enjeksiyonlarını içeren rejimlerin kullanılması gibi farklı sečenekler mevcuttur (101). Uygulanacak olan ajan ve protokol bireyselleştirilip hastanın yaşı, over rezervi (AMH, antral foliköl sayısı, bazal FSH düzeyi, östradiol düzeyi), vücut kitle indeksi ve önceki tedavi sonuçlarına göre sečilmelidir. İdeal tedavinin maliyet ve siklus iptal oranları düşük, riskleri ve yan etkileri az, tekiz gebelik ihtimali yüksek olmalıdır (102,103).

2.6.1. Doğal (Natural) Siklus

Bu protokolde ovulasyon uyarısı yapmadan ve ilaç vermeden, doğal siklusta gelişen foliköl takip edilir ve bu folikölden elde edilen oosit ile IVF/ICSI uygulaması gerçekleştirilir. IVF ile gerçekleşen ilk doğum, doğal sikludan toplanan tek oosit ile gerçekleşmiştir (72). Doğal siklusta bir oosit toplandığı ve tek bir embriyo oluştuğu için siklus başına gebelik oluşma ihtimali düşüktür. En büyük dezavantajı, prematür LH piki ve prematür ovulasyon nedeni ile siklus iptal oranlarının fazla, başarı şansının az olmasıdır (%7)(104). Avantajları ise daha az maliyet ve ilaç gereksinimi olması; çoğul gebelik ve OHSS (Ovaryan hiperstimölasyon sendromu) riskinin dışlanmasıdır (105).

Modifiye natural protokolde ise siklusla beraber hiçbir tedavi başlanmaz ve FSH’ın endojen etkisi ile foliküllerin oluşmasına izin verilerek önde giden foliköl 12-14 mm boyutuna ulaştıktan sonra 150 IU gonadotropin ve GnRH antagonisti başlanır. Bu protokolde hedef doğal siklusta ortaya çıkan prematür luteinizasyonu ve spontan ovulasyonu engellemektedir. Ovaryen

stimulasyona zayıf yanıt veren ya da her çeşit gonadotropin kullanılmasının sakıncalı olduğu hasta gruplarında doğal sikluslar denenebilir (104).

2.6.2. Klomifen Sitrat/Letrozol ile Birlikte Gonadotropin Protokolü

Gonadotropinler, IVF sikluslarında kontrollü ovaryen stimülasyon için en sık tercih edilen ilaçlardır. Ancak pahalı, invaziv ve artmış OHSS riskiyle ilişkilidir. Bu nedenle son yıllarda oral selektif östrojen reseptör modülatörü olan CC yada aromataz enzim inhibitörü olan letrozol ile gonadotropin kombinasyonu yaygınlaşmıştır. Bu protokol, uzun ve kısa protokollere yanıt vermeyenlerde, daha önceden bu protokole iyi yanıt verenlerde, oligo/anovulatuvar DSÖ grup II hastalarda yada GnRH agonisti kullanmak istemeyen hastalarda uygulanabilir. Siklusun 2-5. günü 50-100 mg/gün CC yada 2.5-5 mg/gün Letrozol kullanılır. Gonadotropinler ise oral tedavinin son günü yada ertesi gün tedaviye eklenir ve hCG gününe kadar devam edilir.

Klomifen (5 gün günde 100 mg) ve ortalama dozda ekzojen gonadotropin (Klomifen tedavisinin son günü veya bir sonraki gün başlanan günlük 150-225 IU) tedavisinin ardarda kullanımı, multifoliküler gelişimi tek başına klomifene göre daha etkili uyarmaktadır (106,107).

Letrozol+rec-FSH (rekombinant FSH) ile yapılan sikluslarda, CC+ rec-FSH sikluslarına göre daha düşük östradiol düzeyi, daha yüksek endometriyal kalınlık ve daha yüksek gebelik oranı elde edilmiştir (108). Letrozol+HMG (Human menopozal gonadotropin) ile CC+HMG siklusları karşılaştırıldığında klinik gebelik oranları arasında fark saptanmamıştır (109). Letrozol sikluslarında OHSS ve çoğul gebelik riski daha düşük bulunmuştur(110). Letrozol+rec-FSH ile CC+rec-FSH siklusları karşılaştırıldığında klinik gebelik oranlarında fark saptanmayan çalışmalar da vardır (111,112).

2.6.3. Uzun (GnRH Agonist Down Regölasyonu ile Gonadotropin Stimölasyonu)

Protokol

Bu protokolde, uzun etkili GnRH agonisti ile down regölasyon ardından ekzojen gonadotropin tedavisi başlanır. Uzun etkili GnRH agonistlerinin kullanımı ile endojen hipofizer gonadotropin stimölasyonu baskılanmış ve prematür LH salınımı engellenmiştir. Bir önceki siklusun mid-luteal döneminde başlanan GnRH analogu ile hipofizer down regölasyon gerçekleştirilir. Overlerin baskılanmasından sonra gonadotropin uyarısı ile folikül gelişimi sağlanır. Böylece folikül kohortu senkronize edilirken, LH'nın erken ve kontrolsüz artışı engellenir (113). Uzun protokolün dezavantajı ise, GnRH agonist tedavisinin gonadotropin stimölasyon yanıtını maskeleyerek, foliküler gelişim için gereken gonadotropin dozunu ve tedavinin süresini arttırmasıdır.

Kullanılan GnRH agonistleri

- ❖ Leuprolid asetat subkutan,
- ❖ Triptorelin asetat subkutan,
- ❖ Nafarelin asetat intranasal,
- ❖ Buserelin asetat subkutan ve intranasal,
- ❖ Goserelin asetat subkutan olarak uygulanır.

GnRH analoguna çoğunlukla mid-luteal dönemde başlanır, en az 14 gün süreyle uygulanır. Takip eden menstruasyonun 1-3. günlerinde yapılan ultrasonografide 10 mm'den büyük folikül yoksa ve E2 düzeyi 30 pg/ml'nin altında ise hipofizer supresyonun tamamlandığı

düşünülür. Ayrıca endometriyal kalınlığın 5 mm'den ince olması ve menstrüel kanamanın başlaması down regülasyonu doğrulayan bulgulardır. Bu süreçte GnRH analoguna ara vermeden tedaviye gonadotropin eklenir. Hastanın yaşı, antral folikül sayısı, vücut kitle indeksi, AMH değeri ve önceki siklusta stimülasyona verilen yanıtına göre bireysel gonadotropin dozu ayarlanır. VKİ düşük olan hastalarda over rezervine ve yaşına göre planlanan doz azaltılırken, VKİ yüksek olan hastalarda ise planlanan doz arttırılabilir.

Kullanılan gonadotropinler ;

1- Üriner FSH (ürofollitropin)

-Saflaştırılmış ürofollitropin (pFSH): 75 IU FSH, 1 IU'den az LH içerir.

-İleri derecede saflaştırılmış ürofollitropin (hpFSH): 75 IU FSH, 0.1 IU'den az LH içerir.

2- Rekombinant FSH

-Follitropin alfa: 75 IU FSH içerir. LH içermez.

-Follitropin beta: 75 IU FSH içerir. LH içermez. Piyasada bulunmamaktadır.

3- Rekombinant LH

-Lutropin alfa: 75 IU LH içerir. FSH içermez.

4-Ekstrakte üriner HMG

- Menotropin: 75 IU FSH ve 75 IU LH içerir.

Seri serum östradiol düzeylerinin ve ultrasonografi ile foliküllerin ölçümleri ile stimülasyona yanıt takip edilir. Tedavi sürecinde serum östradiol düzeyi, gonadotropin eklendikten 3-5 gün sonra yükselmeye başlar. Tedavinin 5-6. gününde 100 pg/ml'nin altında

ölçülen östradiol seviyesi dozun yetersiz olduğunu düşündürür ve doz artışı yapılır. Üç gün aralıklarla östradiol düzeyi (14 mm boyutundaki her folikül için yaklaşık 150-200 pg/ml) ve ultrasonografi ile folikül büyümesi takip edilir. Genelde hedef en az 2 tane 17-18 mm çapında folikül ve 14-16 mm çapında birkaç tane folikül elde etmektir (114). Endometriyal kalınlık da ölçülür. Tetikleme günü endometriyal kalınlığının >8-9 mm ve trilaminar görünümde olması halinde sonuçların daha iyi; < 6-7 mm ve homojen görünümde olması halinde ise sonuçların daha kötü olduğu saptanmıştır (115). Son folliküler maturasyon için 5.000-10.000 IU üriner hCG intramuskuler yada 250 µg rekombinant hCG subkutan uygulanır (116).

2.6.4. Kısa (Flare) Protokol

Bu protokolde GnRH agonist erken foliküler fazda verilmeye başlanır. GnRH agonist'in *flare up* etkisinden foliküler gelişim için yararlanılır, daha sonra da günlük kullanımla hipofizer desensitizasyon etkisinden yararlanılır.

a) Standart kısa protokol: Over rezervinin az olduğu (*poor responder*) olgularda yapılır. GnRH analogu (1.0 mg/gün) siklusun 2-4. günü verilir daha sonra doz 0,5 mg/gün'e düşürülür. Gonadotropine ise siklusun 3. gününde başlanır. Folikül gelişimi takip edilerek hCG uygulama kriterlerine ulaşıncaya kadar tedaviye devam edilir. Bu protokolün dezavantajı korpus luteumun geç kurtarılmasına bağlı serum androjen ve progesteron düzeylerinde belirgin artış olmasıdır. Bu artış da oosit kalitesini, fertilizasyonu ve gebelik oranlarını olumsuz yönde etkileyebilmektedir (117).

b) Mikrodoz flare up protokol: Bu protokolde önceki siklusta oral kontraseptif kullanılarak folikül kohortu sağlanır ve korpus luteum gelişimi engellenir. İlaç bitiminden sonra menstruasyonun 2-3. gününde günde 2 kez 40 µg mikrodoz leuprolid tedavisi başlanır ve

tedavinin 3. gününde hMG yada FSH ile kombine edilir. Folikül gelişimi izlenerek hCG uygulama kriterlerine ulaşıncaya dek tedaviye devam edilir. Analoglar, folikül gelişimine destek olur ve ardından down regülasyon etkileri sayesinde prematür LH artışını engeller. Zayıf over cevaplı serum FSH değeri yüksek hastalar için uygun bir protokoldür. GnRH agonist dozları çok düşük olduğu için ve ön tedavi olarak oral kontraseptif kullanıldığı için bu protokolda androjen ve progesteron düzeylerinde artış beklenmemektedir (118).

2.6.5. GnRH Antagonist + Gonadotropin Stimülasyon Protokolü

GnRH agonistleri reseptör down regülasyonu ile gonadotropinlerin GnRH'a karşı desensitize olmasını sağlar böylece gonadotropin sekresyonu önce stimüle sonra inhibe olur. GnRH antagonistler ise GnRH reseptörlerini doz bağımlı kompetitif bir şekilde bloke eder ve gonadotropinleri baskılar (114).

Antagonistlerin avantajları (119);

- Tedavi süresi agonist siklusa göre daha kısadır.
- Flare etki olmadığı için folikül kisti gelişmez.
- Over yanıtını uzun süreli baskılamadığı için kullanılacak gonadotropin dozu ve süresi azalır.
- OHSS riski daha azdır.
- Kullanım amaçları prematür LH pikini engellemek olduğu için foliküler gelişimin geç döneminde kullanılır. Böylece östradiol seviyesindeki artış engellenmez (119).

Ganirelix ve Cetrorelix klinik pratikte kullanılan GnRH antagonistlerdir. GnRH antagonistleri ile ilgili iki tedavi rejimi vardır ;

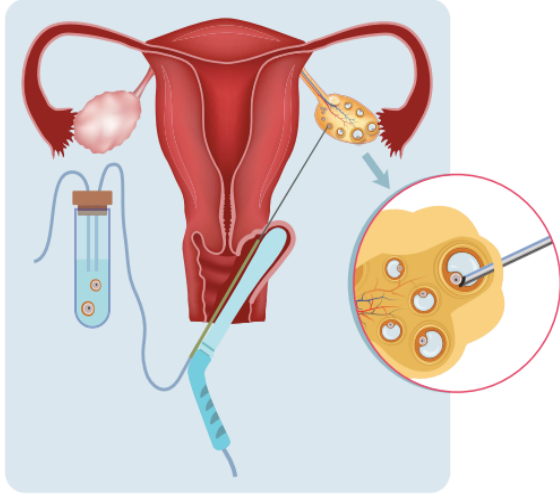
1. **Multiple doz GnRH antagonisti kullanımı:** Gonadotropin tedavisinin 6. günü (sabit protokol) ya da en büyük folikül çapı 13-14 mm'ye ulaşıncaya (endometrium üzerine negatif etkinin en düşük olduğu dönem-değişken protokol), E2 seviyesi 500 pg/ml üzerinde ise 0,25 mg/gün (siklusu baskılayacak en düşük doz) subkutan olarak tedaviye başlanır. Tedaviye hCG gününe kadar hCG günü de dahil olacak şekilde devam edilir (120). Antagonist verilmesinin ardından ganireliks için 4 saat, cetoreliks için 6 saat sonra hipofizer supresyon gerçekleşir. Yapılan çalışmalarda hipofizer baskılanma için günlük 0,25 mg dozun yeterli olduğu saptanmıştır (110).
2. **Tek doz GnRH antagonisti kullanımı;** Çalışmalarda geç folliküler dönemde (7.gün) 3 mg tek doz antagonist kullanımının spontan LH piki geciktirdiği bulunmuştur (120). 3 mg tek doz cetoreliks uygulanırsa LH piki 96 saate kadar geciktirilebilmektedir (121). Eğer gerekli görülürse baskılama süresini daha fazla uzatmak için günlük ek dozlar (0.25 mg) verilebilir (122).

2.7. Ovulasyonun Tetiklenmesi

Foliküllerin matür oosit içerecek büyüklüğe ulaştığına karar verildiğinde ovulasyon tetiklenir. Burada amaç, oluşturulan LH piki sayesinde ovulasyonun gerçekleştirilmesi değil, oositin profaz-1'den metafaz-2 safhasına geçişini sağlamaktır. Oosit maturasyonu için 5.000-10.000 IU hCG ya da 250 mcg rekombinant hCG veya 82,5 ünite rekombinant LH kullanılabilir (116). Antagonist sikluslarda ise *flare* etkisinden yararlanmak amacıyla son aşamada GnRH analogu kullanılarak ovulasyon tetiklenebilir, hCG yerine analog kullanımı OHSS riskini azaltır (123).

2.8. Oosit Toplanması (OPU)

HCG uygulamasından 34-36 saat sonra oosit toplama (*oocyte pick up*-OPU) işlemi yapılır. OPU genellikle intravenöz sedasyon altında, TV-USG eşliğinde gerçekleştirilir. İşlem yapılırken öncelikle vajen steril serum fizyolojik ile yıkanarak temizlenir. Antiseptikler (povidon-iodin) oositler için toksiktir. Aspirasyon iğnesi takılı transvajinal prob steril kılıf içine sarılır ve 16-17 *gauge* iğne yardımıyla ultrasonografi eşliğinde foliküllere girilerek foliküler sıvı ve oositler aspire edilir. Çapı 10 mm üzerinde olan tüm foliküller aspire edilir.



Resim 3: Oosit Toplanması (OPU) (124)

Yeterli sayıda folikül bulunduğu halde oosit elde edilemezse, boş (empty) folikül sendromu oluşmuş demektir. Bu sendromun en sık nedeni, hCG'nin planlanan zamandan daha geç uygulanması ya da uygulanmasının unutulmasıdır (125,126). OPU sırasında bir overde oosit elde edilemediyse, diğer overe geçmeden önce işlemi sonlandırarak, tekrar hCG enjeksiyonu yaptıktan 24-36 saat sonra oosit toplama işlemi yapılmalıdır (127).

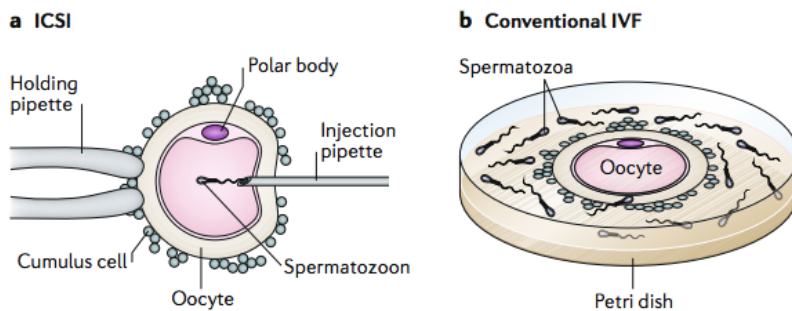
OPU'nun komplikasyon oranı son derece düşüktür. En sık görülen komplikasyon iğnenin geçtiği lateral fornikslerden kanama olmasıdır. Çoğunlukla tamponlama ile durur. Nadiren

komşu organ (barsak, mesane, damar) yaralanmaları oluşabilir. Özellikle endometriomalar OPU esnasında aspire edilirse vajinal flora kistin içerisine taşınabileceği için abse oluşabilir (128).

2.9. Fertilizasyon

OPU sırasında aspire edilen folikül içeriği, embriyolog tarafından diseksiyon veya invert mikroskopta incelenir. Korona-kumulus kompleksine göre oositlerin maturasyonu değerlendirilir. Oositler, germinal vezikülün varlığı veya yokluğu, polar cisimciğin varlığı veya yokluğu açısından değerlendirilir. Ardından kültür mediumunda inkübatörde bekletilirler. Genellikle matür oositler (MII) 4-6 saat sonra fertilizasyon için hazır hale gelir.

OPU günü erkek partnerden de mastürbasyon yöntemiyle sperm alınır. Canlı sperm yok ise uygun cerrahi işlemler yardımıyla sperm elde edilmeye çalışılır. IVF yapılacaksa, oosit başına ortalama 150.000 spermatozoa kültür mediumunda karıştırılır. ICSI yapılacak ise spermier direkt oosit sitoplazmasına enjekte edilir.



Resim 4: ICSI ve IVF yöntemleri (129)

Hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın, 16-18 saat sonra fertilizasyonun olup olmadığı kontrol edilir. İki pronükleus görüldüğünde fertilizasyon gerçekleşmiş demektir. Embriyolar pronükleer fazdan, blastokist oluşumuna kadar herhangi bir dönemde transfer edilebilir.

2.10. Embriyo Transferi (ET)

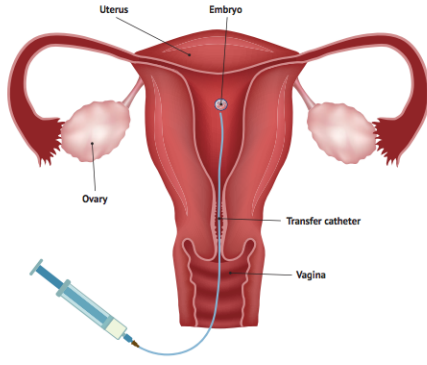
Embriyo transferi, İVF tedavisinde en son ve en önemli basamaktır. Başarılı bir embriyo transferi için embriyolar endometriyal kavite içinde implantasyon olasılığının en fazla olacağı bir yere atravmatik şekilde yerleştirilmelidir.

Embriyolar blastomer sayısına, blastomer nükleuslarına, blastomer büyüklüğüne, blastomer morfolojisine, fragmentasyon varlığına ve fragmentasyon yüzdesine göre inverted mikroskopta değerlendirilir. Embriyo blastomer sayısı ve fragmentasyon oranları embriyo değerlendirilmesinde en önemli kriterlerdir (**Tablo 1**). Transfer edilecek embriyoya karar verilirken embriyoların sınıflandırması yapılır ve %50'den az fragmentasyonu olan embriyolar seçilir.

Tablo 1 – Embriyo Sınıflandırması

Sınıf 1	Blastomerleri eşit büyüklükte ve düzenli. Fragmentasyon yok
Sınıf 2	Blastomerleri eşit büyüklükte. Fragmentasyon %25'in altında
Sınıf 3	Blastomerleri eşit büyüklükte değil. Fragmentasyon %25-50
Sınıf 4	Blastomerleri eşit büyüklükte değil. Fragmentasyon >%50

Pronükleer fazdan blastokist aşamasına kadar herhangi bir zamanda embriyo transferi yapılabilse de en sık oosit toplama işleminden 5 gün sonra blastokist döneminde embriyo transferi yapılmaktadır. Klivaj dönemindeki embriyonun transferi yerine blastokist dönemindeki embriyonun tercih edilmesinin nedeni implantasyon oranlarının daha yüksek olması ve daha iyi gelişen embriyoların seçilebilmesidir.



Resim 5: Embriyo Transferi (ET) (130)

Embriyo transferi ağrısız bir işlemdir. Anestezi yada analjezi rutin olarak önerilmez. Litotomi pozisyonunda mesane dolu iken transabdominal ultrasonografi eşliğinde kateterin serviksten geçişi izlenerek atravmatik bir şekilde embriyoların uterusu yerleştirilmesi amaçlanır. Uterin kontraksiyonların tetiklenmesinden kaçınılır. Bu nedenle embriyolar uterus fundusunun 1-2 cm altına yerleştirilir (131). Fundus hizasına transfer yapmak ektopik gebelik riskini arttırabilir (132). Daha alt bölgelere transfer yapmak ise servikal implantasyonlarla sonuçlanabilir (133). Transfer sonrası hastalar günlük aktivitelerine devam edebilir, fizik aktivite yada diyet kısıtlaması önerilmez. Transfer ardından 14. günde kanda β -hCG ölçümü yapılır.

2.11. Kriyoprezervasyon

Donmuş insan embriyosunun transferi ile gerçekleşen ilk gebelik 1983 yılında bildirilmiştir. O zamandan beri kriyoprezervasyon YÜT'nin önemli bir parçasıdır. Tedavi ile elde edilen ve transfer edilmeyen embriyolar daha sonra kullanılmak üzere dondurularak saklanabilmektedir. Embriyo, gelişimin her evresinde yavaş dondurma yada vitrifikasyon teknikleri ile dondurulabilmektedir. Yavaş dondurmada embriyolar -30°C ve -110°C 'ye soğutulur ardından nitrojen depoları içerisine konur. Vitrifikasyon yönteminde ise embriyolar çok hızlı bir şekilde -196°C 'de soğutulur ve solid cam benzeri görünüm alırlar. Sıvı nitrojen

içerisinde embriyolar uzun yıllar korunabilmektedir. Vitrifikasyon yöntemi, yavaş dondurmaya göre daha yüksek implantasyon ve gebelik oranları ile ilişkilidir (134).

Embriyo kriyoprezervasyonu ;

- Transfer için gereken sayıdan daha fazla embriyo varlığı,
- Ovaryen hiperstimülasyon sendromu riski,
- Embriyo transferi için endometriumun uygun olmaması,
- Transfer günü embriyo için teratojenik etkiye sahip olabilecek bir tedavi gerekliliği,
- Fertilite potansiyelini kaybetmeye neden olabilecek medikal veya cerrahi tedavi gerektiren durumlarda gerçekleştirilebilir.

Oosit kriyoprezervasyonu ise;

- Üreme fonksiyonlarının kaybedilmesine yol açacak olan tedavi öncesi,
- Kemoterapi veya radyoterapi alacak çocuk istemi olan hastalar,
- Düşük over rezervi olduğu kanıtlanan veya ailede erken menopoz öyküsü olan çocuk istemi olan hastalarda gerçekleştirilebilir.

2.12. Luteal Faz Desteği

Kontrollü ovaryan hiperstimülasyon sikluslarında doğal siklustan farklı olarak multiple folikül gelişimi olduğu için, steroid hormon seviyeleri çok daha fazla artmaktadır. Doğal siklusta maksimum 200 pg/ml düzeyine ulaşan östradiol, stimule sikluslarda yaklaşık 1500-3000 pg/ml düzeylerine yükselir. Bu düzeyler endojen gonadotropinlerin, özellikle de LH'nın

negatif *feedback* ile baskılanmasına neden olur. Bunun sonucunda luteinize olmuş granüloza hücrelerinden LH etkisi ile pulsatil olarak salgılanması beklenen progesteron da salgılanamaz. Oosit aspirasyonu aşamasında foliküllerden progesteron üretimi de azalır (135). Bunların sonucu olarak KOH sikluslarında bir luteal yetmezlik durumu oluşur. GnRH analogları hCG uygulama günü kesilse bile LH baskılayıcı etkisi 10 güne kadar devam edebilir (135). Antagonistler de çok kısa etki süresine sahip olsa dahi benzer sonuçlara sahiptir. GnRH antagonist tedavi sikluslarında oosit maturasyonu için hCG yerine GnRH analogu kullanıldıysa luteal faz östrojen ve progesteron değerleri oldukça düşüktür ve luteal faz süresi kısadır (136).

Luteal faz desteğinin optimal bir kullanım süresi yoktur, pozitif yada negatif gebelik sonucu görülene kadar yada gebeliğin 12. haftasına kadar kullanımını savunan çalışmalar vardır (137,138). Luteal faz desteği verilmeyen hastalarda erken dönemde abortusların fazla olduğu bilinmektedir.

Luteal faz desteği için oral progesteronun, karaciğerden ilk geçiş etkisi nedeni ile biyoyararlanımı düşüktür ve ilk basamak tedavide rutin olarak önerilmez. Vajinal, intramusküler veya subkutan yapılan progesteronun daha iyi destek sağladığı çalışmalarda gösterilmiştir. (139). İntramusküler progesteron kullanımı hasta için daha zor ve ağrılıdır, ancak yapılan çalışmalarda canlı doğum oranlarını arttırdığı gösterilmiştir (140). Son yıllarda gündeme gelen sentetik progesteron olan didrogesteronun oral kullanımının (günlük 30 mg) ise vajinal progesteron kadar etkili olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (141). hCG, luteal faz desteği için tek başına yada progesteron ile birlikte kullanılabilir. GnRH analogu ile tetikleme yapılmasının ardından oosit toplama günü 13 ve daha az foliküle sahip hastalarda luteal destek için tek başına hCG kullanımının OHSS riskini arttırmadığı bulunmuştur (142). Meta-analizler, östrojen desteğinin gebelik oranlarını artırmadığını göstermektedir.

2.13. Abortus

Gebeliğin ilk 20 haftası içinde, 500 gramdan az fetüs ve eklerinin uterus kavitesi dışına atılması abortus (gebelik kaybı) olarak tanımlanmaktadır. Abortus gebeliğin ilk trimesterinde görülen en sık komplikasyondur (1). Klinik olarak gebelik tanısı konulmadan önce kaybedilen birçok gebelik olduğundan dolayı abortus insidansını belirlemek zordur. Tanısı konulan gebeliklerin yaklaşık %15-25'i abortus ile sonuçlanmaktadır. IVF tedavisi ile gebe kalanlarda da abortus önemli komplikasyonlardan biridir ve spontan gebeliklerde görülenlerle benzer oranda görülmektedir (2). Spontan gebelik kayıplarının yaklaşık %80'i 1. trimesterde gerçekleşir. Abortus ihtimali her geçen gebelik haftası ile azalır. Fertil yada infertil asemptomatik genç kadınlarda embriyonun kalp aktivitesinin başlaması abortus riskini %12-15'ten %3-5'e azaltır (143).

Abortus, vajinal kanama ve/veya abdominal ağrı olarak bulgu verebilir. Ağrı genellikle kramp tarzındadır sıklıkla vajinal kanama eşlik eder. 4000'den fazla gebe ile yapılan prospektif bir çalışmada, ilk trimester vajinal kanaması olanların yüzde 12'sinde erken gebelik kaybı gösterilmiştir (144).

Anembriyonik gebelik: Embriyo ve yolk sac içermeyen bir gebeliği ifade eder. Spontan abortların yarısı anembriyoniktir. Gestasyonel sac ≥ 25 mm olup embriyo ve yolk sac'ın görülmemesi durumudur (145). Normalde gestasyonel sac 10 mm iken yolk sac'ın görülmesi gerekmektedir. Küretaj materyalinde en sık görülen kromozomal anomali Monozomi X'tir.

Missed Abortus: Fetal kardiyak aktivitenin olmadığı gebelik durumudur. Serviks kapalıdır. Minimal kasık ağrısı yada kanama olabilir. Hasta tedavisiz bırakılmamalı erken zamanda küretaj yapılmalıdır. Tedavisiz bırakılan missed abortus en çok spontan abortusla sonuçlanır

ancak dissemine intravasküler koagülasyon (DIC) ihtimali unutulmamalıdır. Baş popo mesafesinin (CRL) 7 mm üzerinde olmasına rağmen fetal kalp atımı olmaması ile tanı konabilir.

Abortus İmminens: Düşük tehdidi anlamına gelir. Vajinal kanama ve/veya abdominal ağrı olup servikal açıklığın olmaması durumudur. Ayırıcı tanı da servikal polip, vajinit, serviks kanseri, trofoblastik hastalıklar, ektopik gebelik, travma ve yabancı cisim akla gelmelidir. Çoğu abortus imminens abortus ile sonuçlanmaz. Abortus imminensin kesin tedavisi yoktur. Yatak istirahati ve progesteron desteği önerilebilir.

Abortus İncipiens: Önlenemez düşük anlamına gelir. Vajinal kanama ve/veya abdominal ağrıya eşlik eden servikal açıklık vardır.

İnkomplet Abortus: Gebelik ürününün tam olarak atılamadığı abortustur. Uterin kavite içinde fetüs ve eklerinin bir kısmı mevcuttur. Alt karında kramp tarzı ağrı hemen hemen her hastada mevcuttur. Klasik tedavisi kalan dokunun kürete edilmesidir.

Komplet Abortus: Fetüs ve ekleri tamamen kendiliğinden atılmıştır. Ek müdahaleye gerek yoktur.

2.13.1. Abortus Risk Faktörleri

1- Anne Yaşı: Özellikle anne yaşının 18 yaş altında ya da 35 yaş üzerinde olması ile abortus riski artar. Yaş, fetal kromozomal anomaliler ile güçlü ilişkisi nedeniyle en önemli risk faktörüdür (146,147). 35 yaş üzerindeki kadınlarda mayotik iğ formasyonu bozulur ve mayoz bölünmede hata oranı artar, bunun sonucunda anöploid oosit sayısı artar ve abortus insidansında belirgin bir artış olur. 421.000'den fazla gebeliği kapsayan prospektif kohort çalışmasında,

abortus oranı 25 ila 29 yaşındaki bireylerde en düşük (% 10) iken, ≥ 45 yaşındaki kişilerde %57'ye yükselmiştir (146).

2- Abortus Öyküsü: Öykü, anne yaşından bağımsız olarak sonraki gebelik kaybı riskini de artırır (146). Ayrıca abortus öyküsü olan bir anneye sahip olan bireylerde abortus görülme riskinin arttığı gösterilmiştir, bu da abortusun potansiyel bir genetik geçişinin olduğunu düşündürür (148).

3- Enfeksiyon: Bakteriyel, protozoan ve viral enfeksiyon ajanları, abortus riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir; kesin mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir (149). Tedavi edilmeyen sfiliz, fetal kayıp ve ölü doğum riskinde %21'lik bir artışa yol açar (150). Enfekte olmayan hamile bireylerle karşılaştırıldığında, maternal viral enfeksiyonlar, parvovirüs B19 için yaklaşık % 8, Zika virüsü için yaklaşık % 6 ve sitomegalovirüs için % 2.5 fetal kayıp oranları ile ilişkilendirilmiştir (151-153).

4- Maternal Hastalıklar ve Obezite: Kontrolsüz tip 1 ve tip 2 diyabet, erken gebelik döneminde abortusa ve ciddi fetal anomalilere neden olabilir. Yapılan çalışmalarda kan şekeri regülasyonunun, abortus ve diğer komplikasyonların risklerini belirgin olarak azalttığı gösterilmiştir (154). Bir meta-analizde beden kitle indeksinin 25'in üzerinde olmasının, 20. haftaya kadar abortus olasılığını yaklaşık %70 arttırdığı gösterilmiştir (155). Ayrıca hem hipertiroidizm hem de hipotiroidizm artmış abortus riskiyle ilişkilidir. Tiroid bozukluklarında abortus riskinin yaklaşık iki katına çıktığı bildirilmiştir (156).

5- İlaç ve madde kullanımı: Gebelik sırasında madde kullanımı, abortus riskini arttırmaktadır (157). Alkol, sigara ve kafein tüketimi doz bağımlı olarak abortus riskini artırıyor gibi görünmektedir (157,158).

2.14. Ektopik Gebelik

Ektopik gebeliğin insidansı tüm gebeliklerin yaklaşık %1.5-2'sidir (159). Genel olarak, ektopik gebeliklerin yaklaşık %70'i tubal ampullaya, %12'si istmik bölgeye, %11'i fimbrial bölgeye ve %2'si interstisial (kornual) bölgeye yerleşir (160). Ovaryan, servikal, sezaryen skarı ve intraabdominal bölgelere yerleşim nadirdir. Tubanın normal transportunu engelleyen herhangi bir sebep ektopik gebeliğe yol açabilir. Ayrıca endokrin faktörlerin prematür implantasyona eğilim yaratarak ektopik gebelik patogenezi ile ilişkili olabilmeleri mümkündür, ancak kanıtlanmamıştır (161). Klasik triadı menstrüasyonun gecikmesi, alt karın ağrısı ve vajinal kanamadır. Rüptüre ektopik gebeliklerde peritoneal kavitedeki kanın, diyafram iritasyonuna yol açmasına bağlı omuz ağrısı da görülebilir. β -hCG'nin yüksek sensivitesi ve spesifitesi ektopik gebelik, missed abortus, düşük tehtidi, komplet ve inkomplet abortus gibi gebelikle ilgili sorunların ayırıcı tanısında oldukça faydalıdır. β -hCG düzeyinde yetersiz artış olan gebeliklerde ektopik gebelik ihtimali unutulmamalıdır (159).

Ektopik gebeliğin risk faktörleri arasında, geçirilmiş ektopik gebelik, geçirilmiş tubal cerrahi, cinsel yolla bulaşan hastalık öyküsü, multiple partner, rahim içi araç kullanımı, YÜT ile oluşan gebelikler, sigara kullanımı ve alkol tüketimi sayılabilir.

2.15. Kisspeptin

2.15.1 Kisseptinin Tanımı ve Sentezi

Kisspeptinler hipotalamusta eksprese olan Kiss-1 geni tarafından kodlanan peptidlerdir. Kiss-1 geni insan kromozomunda 1q32 üzerinde bulunur ve öncüsü 145 amino asitten oluşan Kiss-1 peptididir (162). İlk olarak 1996 yılında Danny Welch ve ark. tarafından malign melanom hücrelerinde metastaz supresör geni olan Kiss-1 gen ürünü olarak keşfedilmiştir (163). Kiss kelimesindeki ss eki supresör diziyi (*suppressor sequence*) ifade etmektedir (164).

Kiss-1 proteininden, kisspeptin-10, kisspeptin-13, kisspeptin-14 ve kisspeptin-54 oluşur. Kisspeptinler arasında fizyolojik etkileri açısından en güçlü reseptör etkisi olan ve doğal olarak oluşan kisspeptin parçasının Kisspeptin-10 olduğu düşünülmektedir (165). En fazla bulunan tip ise kisspeptin-54'tür (166).

2.15.2. Kisspeptinin Etkileri

Kisspeptin nöronları, hipotalamusta arkuat (infundibular) çekirdekte yer almaktadır (167,168). İnsanlarda GnRH salınımının gerçekleştiği hipotalamusun infundibular bölgesinde, kisspeptin nöronal aksonlarının yoğun perikapiller pleksuslar oluşturduğu izlenmiştir (168). Kisspeptin ve GnRH nöronları arasındaki benzer bağlantılar hayvan çalışmalarında da gösterilmiştir (168-171). Bu bağlantılar, kisspeptinin GnRH salgılanmasında yeri olduğunu göstermektedir. (169)

GnRH nöronları östrojen ve progesteron reseptörü içermezler ancak kisspeptin nöronları östrojen ve progesteron reseptörü içermektedir. Bu nedenle GnRH, seks steroidlerinin serum konsantrasyonlarına kisspeptin reseptörleri aracılığı ile yanıt verir (172,173). GnRH nöronlarının bugüne kadar keşfedilmiş en güçlü aktivatörü kisspeptindir (174). Kisspeptin, pulsatil GnRH salınımının yanı sıra FSH ve LH salınımını da düzenlemektedir (175). Pubertenin başlangıcında kisspeptinin etkili olduğu bilinmektedir. Kisspeptin hormonunu kodlayan *KISS1* genindeki veya kisspeptin reseptörünü (*KISS1R*) kodlayan *KISS1* genindeki mutasyonlar, idiyopatik hipogonadotropik hipogonadizme yol açarak pubertal gelişimi engeller (162,176).

Menstrüel siklus esnasında GnRH ve LH sekresyonunun gonadal steroid hormonların *feedback* etkisi altında olduğu ve siklusun foliküler fazında östrojenin, negatif *feedback*

etkisiyle GnRH ve LH salınımını baskıladığı bilinmektedir. Rometo ve arklarının çalışmasında, postmenopozal kadınlarda infundibular nukleusta kisspeptin nöronlarının hipertrofiye uğradığını Kiss1 mRNA üzerinden göstermiştir (177). Aynı şekilde ovariectomize hayvanlarda kisspeptin reseptörünün bloke edilmesinin LH seviyelerinde gerilemeye neden olduğu izlenmiştir (178). Tüm bu verilerden yola çıkarak östrojenin negatif *feedback* etkisini kisspeptini baskılayarak ve nörokinin B salınımına neden olarak Kisspeptin-Nörokinin B-Dinorfin yolağı üzerinden gösterdiği ortaya çıkmaktadır.

Ancak siklusun midluteal fazında LH pikini sağlayan östrojenin pozitif *feedback* etkisinin olduğu düşünülse de bu mekanizma hala tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. GnRH nöronları üzerinde östrojen reseptörlerinin bulunmaması bu *feedback* mekanizmasında aracı başka bağlantılar olduğunu düşündürmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar bu bağlantının Kisspeptin-Nörokinin B-Dinorfin yolağı olduğunu düşündürmektedir (179).

Foliküllerin gelişmediği erken foliküler fazda, kisspeptin seviyeleri düşüktür. Zhai ve ark. baskın folikülün çapı 1.2 cm'ye ulaştığında kisspeptin düzeylerinin belirgin bir düzeyde arttığını göstermiştir (180). Perioovulator dönemde kisspeptin seviyeleri yükselir ve dominant folikülün gelişimini öngörme potansiyeline sahip olabilir (181).

Foliküler faz sırasında yükselen östrojen seviyelerinin Kisspeptin nöronlarını uyardığından şüphelenilmektedir; bu nöronlar daha sonra GnRH artışı başlatmak için GnRH nöronlarını aktive etmektedir (182). Dhillon ve ark. ekzojen kisspeptin uygulamanın gonadotropin sekresyonunu arttırdığını göstermiştir ve bu yanıt ovulasyon öncesi en güçlüdür (183).

Meczekalski ve ark., kisspeptin ve LH'nin birlikte salgılandığını göstermiştir (184). Sıçan modellerinde yapılan bir çalışmada ise kisspeptini bloke eden bir monoklonal antikor uygulamasının ovulasyonu önlediği gösterilmiştir (185). 2017'de yapılan bir çalışmada, kisspeptin 11. günde, LH ise 14. günde yükseldiğinde ovulasyon ihtimalinin arttığı bulunmuştur (180). Bu çalışmalara bakılarak kisspeptinin ovulasyonu öngörmeye kullanılabilecek bir biyobelirteç olduğu söylenebilir.

Kisspeptin endometriumun epitelyal ve stromal hücrelerinden eksprese edilirken myometriumdan eksprese edilmemektedir (186). Kisspeptin ekspresyonu endometriumda proliferatif ve erken sekretuar fazlarda düşüktür, geç sekretuar fazda ise yüksektir (187,188). Bu bulgu endometrial dokunun implantasyon için hazırlanmasında kisspeptinin rolü olduğunu göstermektedir. Yapılan bir hayvan deneyi çalışmasında implantasyondan hemen sonra kisspeptin düzeylerinin yükseldiği gösterilmiş ve buna bağlı olarak kisspeptinin desidualizasyonda görev aldığı öne sürülmüştür (189).

Kisspeptinin hücrel çoğalma ve büyümedeki görevleri de plasentasyon sürecinin bir parçasıdır. Erken plasenta, trofoblastların istila ve göçünü kontrol altında tutmak için yüksek seviyede kisspeptin içerir (190). Kisspeptin, trofoblast proliferasyonunda yer alan sinyal proteinlerinden kollajenazların, matris metalloproteinazların ve vasküler endotelyal büyüme faktörünün aktivitesini azaltır (191). Plasentasyon sürecindeki bu hassas denge maternal uterin duvarın uygun şartlarda şekillenmesi için önemlidir (192).

2.15.3. Kisspeptin ve Gebelik

Gebelik boyunca periferik dolaşımdaki kisspeptin düzeyi devamlı artmaktadır, hatta son trimesterde gebe olmayan kadınlara göre gebelerde kisspeptin 7000 kat daha yüksek düzeyde

bulunmaktadır (5,175). Maternal kisspeptin düzeylerinin primer kaynağının plasental doku olduğu ve maternal kisspeptin düzeyinin canlı plasental hacmi yansıttığı düşünülmektedir (188,193).

Normal gebelikler ile gestasyonel trofoblastik hastalıkların karşılaştırıldığı bir çalışmada plasental ve serum kisspeptin düzeyinin gestasyonel trofoblastik hastalıklarda normal gebeliklere göre daha fazla olduğu izlenmiştir (190). Gebelik sürecinde kisspeptinlerin fonksiyonu net olarak bilinmemekle birlikte trofoblastik invazyonda görev aldıkları düşünülmektedir (5). Kisspeptinlerin trofoblastik invazyon ile ilişkili olduğunun düşünülmesi nedeniyle plasental disfonksiyon nedeniyle oluşan preeklampsi ve intrauterin gelişme gerilikleri ile kisspeptin arasında bağlantıyı inceleyen klinik çalışmalar yapılmıştır. Cetkovic ve ark.'ların 2012 yılında sağlıklı gebelerden oluşan kontrol grubu ile tip 2 diabetes mellitus, gestasyonel diabetes mellitus, hipertansiyon ve plasental disfonksiyon tanısı olan olgu grubunu karşılaştırdıkları bir klinik çalışmada olgu grubunda serum kisspeptin düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük olduğu saptanmıştır (194). Benzer şekilde Qiao ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada da, preeklampitik gebelerde plasental kisspeptin düzeyinin sağlıklı gebelere kıyasla önemli derece düşük olduğu gösterilmiştir (195).

Romero-Ruiz ve ark. ektopik gebeliği olan hastalarda kisspeptin seviyelerini incelemiş ve ektopik gebelik durumunda kisspeptin düzeyinin azaldığını bulmuşlardır (196). Sullivan ve ark. maternal kisspeptin düzeylerinin gebelik yaşı ve fetal canlılığın devamı ile pozitif korelasyon gösterdiğini doğrulamıştır (197).

Jayasena ve ark. spontan abortus gerçekleşen ve intrauterin gebeliği devam eden kadınları karşılaştırmış ve serum kisspeptin düzeyinin abort eden kadınlarda daha düşük olduğunu göstermiştir (198). Wu ve ark. tekrarlayan gebelik kaybı olan hastaların küretaj materyali ile

tekrarlayan gebelik kaybı olmayıp istemli küretaj gerçekleştirilen hastaların küretaj materyalini karşılaştırmış ve tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda desidual kisspeptin ekspresyonunun azaldığını göstermiştir (199).

2.15.4. Kisspeptin ve IVF

Reprodüktif sistem üzerindeki belirgin rolü nedeniyle, yardımcı üreme teknolojisinde biyolojik ajan olarak kisspeptinin kullanımına ilgi vardır. Final oosit maturasyonu için günümüzde sıklıkla hCG kullanılmaktadır, hCG direkt overler üzerinden etki ederek LH pikini sağlar. OHSS, IVF tedavisi sırasında gelişen ciddi bir olumsuz durum olarak kabul edilir ve tipik olarak oosit olgunlaşmasında tetikleyici olarak hCG kullanımı ile ilişkilidir. Bu sendrom plevral efüzyon, asit, böbrek yetmezliği ve ciddi vakalarda ölümle sonuçlanabilen aşırı vasküler geçirgenlik ile karakterizedir (200).

Jayasena ve ark.'ları ise çalışmalarında, ekzojen kisspeptini preovulatuvar LH pikini sağlayarak final oosit maturasyonunu sağlamak amacıyla IVF tedavisi alan kadınlarda kullanmış ve kisspeptin uygulanmasından 36 saat sonra oosit maturasyonu izlenmiştir (193). Ek olarak çok daha düşük oranda OHSS geliştiği aynı çalışmada raporlanmıştır. Bu sonuçları destekler şekilde Zhai ve ark.'ları da çalışmalarında kisspeptinin ovulasyon indüksiyonunda tetikleyici olarak kullanımı sonrası VEGF üretimini doğrudan inhibe ederek OHSS riskini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir (201).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Bu çalışma; Ekim 2020-Eylül 2021 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Üreme Sağlığı ve İnfertilite Bölümü ve Tüp Bebek Merkezinde gerçekleştirildi. Çalışma için Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurul’undan gerekli onaylar alındı (26.10.2020 tarih ve 5708-GOA protokol numaralı 2020/26-63 karar numarası ile). Çalışmaya dahil olma kriterlerine uyan tüm hastalar çalışma hakkında bilgilendirildi ve tüm hastaların yazılı onamları alındı.

Çalışmaya Dahil Olma Kriterleri:

- 18-40 yaş aralığında olan olgular
- Menstrüel siklusun 2. veya 3. gününde yapılacak olan hormon analizinde FSH değerinin 12’den az olması
- Vücut kitle indeksinin (BMI) 18-30 aralığında olması
- Yapılacak TV-USG değerlendirmesinde pelvik patolojik oluşum izlenmemiş olması

Çalışmadan Dışlama Kriterleri:

- Medikal hastalık öyküsü (Diabetes mellitus, tiroid ile ilgili rahatsızlıklar, Hiperprolaktinemi)
- Endokrin sistem üzerine etki edebilecek ilaç kullanımı (son 3 ay içerisinde)
- Menstrüel siklusun 2. veya 3. gününde yapılan TV-USG değerlendirmesinde 10 mm’den büyük ovaryan folikül izlenmesi

- Menstrüel siklusun 2. veya 3. gününde yapılan bazal TV-USG değerlendirmesinde 2 overde toplam antral folikül sayısının 4 ve daha az olması

3.2. Çalışma Protokolü

Menstrüel siklusun 2-4. gününde tüm gönüllülerden serum folikül stimüle edici hormon (FSH), luteinize edici hormon (LH) ve östradiol düzeyleri bakıldı, kaydedildi. Aynı zamanda olgulardan bazal kisspeptin düzeyinin belirlenmesi amacıyla eş zamanlı venöz kan örnekleri alınarak usulüne uygun olarak saklandı.

Çalışmaya katılma kriterlerine uyan ve KOS başlanması için herhangi bir medikal engeli olmayan *fresh* siklus planlanan hastalara menstrual siklusun 2-4. gününde rekombinant FSH (Gonal-F, Merck) ve/veya HMG (Merional, IBSA) başlandı. Başlangıç ve KOS monitörizasyonu sırasında kullanılan gonadotropin dozları hasta bazlı bireyselleştirilmiş protokollerle 150-300 ünite dozlar aralığında verildi. Menstrüel siklusun belirlenen günlerinde gönüllüler kontrole çağrılarak doz ayarlaması yapıldı. Stimülasyon protokolüne yanıt alınamayan veya embriyo elde edilemeyerek transferi yapılamayan olgular çalışmadan çıkartıldı. Yapılan TV-USG takiplerinde 13 mm boyutlarında folikül izlenmesi durumunda erken dönemde oluşacak LH pikinin önlenmesi amacıyla ovulasyon tetiklemesi yapılana kadar GnRH antagonisti (Cetrotide, Merck) verildi. Ovulasyon tetiklemesi için GnRH agonisti (Gonapeptyl, Ferring) veya rec-hCG (Ovitrelle, Merck) kullanıldı. Ovulasyon tetiklemesinden 34-36 saat sonra TV-USG eşliğinde oosit toplama işlemi yapıldı. Ciddi erkek faktör veya azospermi olguları dışında fertilizasyon için in vitro fertilizasyon yöntemi kullanıldı. Elde edilen embriyolar kültür ortamında klivaj evresine (2. veya 3. gün) ya da blastokist aşamasına kadar takip edildi. Gelişen embriyoların kalite açısından morfolojik değerlendirilmesinin yapılmasının ardından, olguların yaşı ve daha önce geçirilmiş IVF denemeleri varlığına göre

bir veya iki adet embriyo transabdominal ultrasonografi (TA-USG) eşliğinde katater yardımı ile transfer edildi.

Çalışmaya katılma kriterlerine uyan vitrifiye *frozen-thaw* siklus planlanan hastalara menstrual siklusun 2-4. gününde östradiol hemihidrat (Estrofem 2 mg, günde 3 kez, oral) günlük 6 mg dozlarda başlandı. Takiplerinde endometrium kalınlığı 7 mm üzerinde ölçülen hastalarda tedaviye günlük 600 mg olacak şekilde mikronize progesteron (Progestan 200 mg, günde 3 kez, vajinal) eklendi. Her iki ilaca da embriyo transfer gününe kadar devam edildi.

Tüm olgulardan bazal (menstrual siklusun ilk 4 günü), embriyo transfer günü ve embriyo transferinden 14 gün sonra olmak üzere toplam 3 defa brakial venler aracılığı ile 10 cc venöz kan, sarı kapaklı biyokimya tüplerine alındı. Alınan kan örnekleri, 3000 rpm devirde 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üstte kalan serum örnekleri biyokimyasal ölçümler için eppendorf tüplerine konularak analiz yapılana kadar -80 °C’de saklandı. Saklanan örneklerde Human KISS-1(Kisspeptin) (*Katalog no: E-EL-H6099 Elabscience*) seviyeleri, ‘*enzyme linked immunosorbent assay (ELİSA)*’ yöntemi ile üretici önerilerine göre ölçüldü. Bu prosedürde önceden antikorlarla kaplanmış ELİSA plak çukurlarına örnekler eklenerek inkübe edildi. Bağlanmayanlar yıkama ile uzaklaştırıldıktan sonra, biyotinle konjuge edilmiş analite spesifik antikor eklenerek ikinci kez inkübe edildi. Sandviç oluşturamayan fazlalıklar yıkama ile uzaklaştırıldıktan sonra, avidinle konjuge edilmiş peroksidaz eklenerek üçüncü kez inkübe edildi. Bağlanmayanlar yıkama ile uzaklaştırıldıktan sonra eklenen kromojenik substratın katalizlenmesiyle oluşan renk değişimi plak okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Oluşan rengin optik dansitesi örneklerdeki analit konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Örneklerdeki analit konsantrasyonu standart eğriye göre hesaplandı. Human KISS-1 ELİSA kitinin

sensitivitesi 18.75 pg/mL, ölçüm aralığı 31.25-2000 pg/mL, çalışmanın varyasyon katsayısı (CV) <%10' idi.

3.3. İstatistik

Çalışmaya dahil edilmesi planlanan olgu grubu hasta sayısı G-Power 3.1.9.2 programında tekrarlayan ölçüm karşılaştırılmasına yönelik F testi seçilerek düşük etki büyüklüğü (0.25), α : 0,05 ve güç: %80 olması durumunda en az 28 hasta olarak bulundu. Araştırmada değerlendirilen olguların demografik ve klinik özellikleri sayı, yüzde, ortalama, standart sapma ve ortanca gibi betimleyici istatistiksel analizlerle değerlendirildi. Canlı doğum yapan ve yapmayan olgular arasında, ek olarak abortus imminens olan ve olmayan olgular arasında yaş, BMI, FSH, LH, E2, kisspeptin değer ortalamaları mann whitney u testi ile karşılaştırıldı. Canlı doğum yapan olgularda kisspeptin ölçüm ortalamalarının istatistiksel açıdan anlamlı seviyede değişimi friedman testi ile, ölçümler arası ikili karşılaştırmalar ise wilcoxon testine göre yapıldı. Buna ek olarak gebelik kaybı olan olgular arasında kisspeptin ölçüm ortalamalarının değişimi ölçümler arası ikili karşılaştırmalar ise wilcoxon testine göre yapıldı. Tüm analizler için anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak belirlendi. Analizlerin uygulanmasında IBM SPSS 22.0 programı kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmamızda Ekim 2020 ve Eylül 2021 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları Doğum ve Anabilim Dalı Tüp Bebek Merkezine başvuran, tetkik ve tedavisi Tüp Bebek Merkezimizde gerçekleştirilen IVF planlanan ve IVF sonucunda gebelik tespit edilen 28 hastaya ait veriler analiz edilmiştir.

Olguların demografik ve klinik özellikleri **Tablo 2**'de, serum β -hCG ve kisspeptin düzeylerinin ortalamaları **Tablo 3**'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Olguların Demografik ve Klinik Özelliklerinin Ortalamaları

	Ortalama $\pm$ SS	Ortanca	Minimum - Maksimum
YAŞ (yıl)	31,57 $\pm$ 4,69	31,50	23,00 - 39,00
BMI (kg/ m²)	24,04 $\pm$ 2,96	24,00	19,00 - 29,00
FSH (IU/ml)	8,1 $\pm$ 2,3	8,2	3,7 - 12,0
LH (IU/ml)	5,67 $\pm$ 3,82	5,05	1,20 - 22,0
E2 (pg/ml)	45,89 $\pm$ 15,38	40,00	22,00 - 80,0
Max. Endo. K. (cm)	13,18 $\pm$ 1,86	13,15	8,40 - 16,0

Tablo 3. Olguların Serum β -hCG ve Kisspeptin Düzeylerinin Ortalamaları

	Ortalama $\pm$ SS	Ortanca	Minimum - Maksimum
KISS1 (pg/ml)	57,83 $\pm$ 40,55	51,51	14,67 - 227,31
KISS2 (pg/ml)	57,86 $\pm$ 26,91	55,09	18,59 - 161,14
KISS3 (pg/ml)	70,04 $\pm$ 38,69	65,15	16,80 - 137,97
β-hCG (IU/ml)	2150,75 $\pm$ 2131,48	1380,50	65,00 - 7702,00

SS.=Standart Sapma

Olguların yaşlarının ve vücut kitle indekslerinin ortalama değerleri sırasıyla $31,57 \pm 4,69$ (23 ile 29 yaş arası) ve $24,04 \pm 2,96$ (19 ile 29 kg/m² arası) olup arasında değişmekteydi. Olguların bazal kisspeptin, embriyo transfer günü bakılan KISS2 ve embriyo transferinden 14 gün sonra bakılan KISS3 değerlerinin ortalamaları sırasıyla $57,83 \pm 40,55$, $57,86 \pm 26,91$ ve $70,04 \pm 38,69$ olarak değişiklik gösterdi. Ek olarak ölçülen β -hCG değerlerinin ortalaması ise $2150,75 \pm 2131,48$ olarak bulundu.

Olguların infertilite nedenleri ve siklus karakteristikleri **Tablo 4**'de gösterilmiştir.

Tablo 4. Olguların İnfertilite Nedenleri ve Siklus Karakteristikleri

		n	%
İNFERTİLİTE NEDENİ	Açıklanamayan İnfertilite	5	17,9
	Erkek Faktör	5	17,9
	Azalmış Over Rezervi	2	7,1
	Endometriozis	6	21,4
	Anovulasyon	4	14,3
	Tubal Faktör	3	10,7
	Multiple Faktör	3	10,7
EMBRİYO TRANSFER GÜNÜ	D2	1	3,6
	D3	14	50,0
	D5	13	46,4
SİKLUS	Fresh siklus	11	39,3
	Frozen-Thaw siklus	17	60,7

Olguların infertilite nedenleri arasında en sık görülen endometriozis % 21,4 oranında, en az görülen azalmış over rezervi ise %7,1 oranında izlendi.

Olguların 11'ine (%39,3) fresh siklus transferi ve 17'sine (%60,7) frozen-thaw siklus transferi yapılmıştır. Olguların 13'ünde (%46,4) blastokist transferi yapılırken, diğerlerine klivaj evresinde ET yapılmış olup, sadece bir olguda D2 ET yapılmıştır.

Olguların gebelik sonuçları **Tablo 5'**de gösterilmiştir.

Tablo 5. Olguların Gebelik Sonuçları

		n	%
GEBELİK SONUÇLARI	Biyokimyasal Gebelik Oranı	2	7,1
	Klinik Gebelik Oranı	23	82,1
	Canlı Doğum Oranı	18	64,2
	Çoğul Gebelik Oranı	3	10,7
	Ektopik Gebelik Oranı	3	10,7
	Sezaryen ile Doğum	14	50

Yirmisekiz olgunun gebelik sonuçlarına bakıldığında 2 (%7,1) olguda biyokimyasal gebelik, 3 (%10,7) olguda ektopik gebelik saptandı. Olguların 23'ünde (%82,1) ise klinik gebelik izlendi.

Klinik gebelik izlenen 23 olgunun 3'ü çoğul gebelikti. Bu 23 olgunun 5'inde (%17,8) spontan abortus gerçekleşti, abort eden 5 olgunun 1 tanesi iki embriyo transferi yapıp iki ayrı monokoryonik gebelik elde edilen dördüz gebelikti ve 19. haftada dört bebeğin de spontan abortusu gerçekleşti.

Olguların 18'inin (%64,2) gebeliği canlı doğum, 10'unun (%35,8) gebeliği abortus ile sonuçlandı. Canlı doğum yapan olguların 14'ü (%50) sezaryen ile doğum gerçekleştirdi.

Ek olarak canlı doğum yapan 18 olgudan 8'i (%44,4) ilk trimesterde vajinal kanama ile başvurup abortus imminens tanısı alırken geri kalan 10 olguda (%55,6) ise ilk trimesterde herhangi bir gebelik komplikasyonu izlenmedi.

Canlı doğum yapan ve yapamayan olguların klinik ve demografik özellikleri ile serum kisspeptin ile β -hCG değerlerinin ortalamaları sırasıyla **Tablo 6 ve 7**'de gösterilmiştir.

Tablo 6. Canlı Doğum Yapan ve Yapamayan Olguların Klinik ve Demografik Özelliklerinin Ortalamalarının Karşılaştırılması

	Canlı Doğum Yok		Canlı Doğum Var		p ^a
	Ortalama	Ortanca	Ortalama	Ortanca	
YAŞ (yıl)	33,30	35,00	30,61	30,00	0,112
BMI (kg/m²)	24,40	25,00	23,83	23,00	0,546
FSH (IU/ml)	7,8	8,7	8,3	8,0	0,886
LH (IU/ml)	7,16	5,05	4,84	4,60	0,337
E2 (pg/ml)	45,60	44,50	46,04	39,90	0,829

Tablo 7. Canlı Doğum Yapan ve Yapamayan Olguların Serum Kisspeptin ile β -hCG Değerlerinin Ortalamalarının Karşılaştırılması

	Canlı Doğum Yok		Canlı Doğum Var		p ^a
	Ortalama	Ortanca	Ortalama	Ortanca	
KISS1 (pg/ml)	62,70	65,43	55,12	43,26	0,187
KISS2 (pg/ml)	59,24	54,07	57,10	56,94	0,549
KISS3 (pg/ml)	39,81	33,64	86,84	91,26	0,002
β-hCG (IU/ml)	1218,20	675,50	2668,83	2036,00	0,049

p^a =Mann Whitney U testi sonucu

Canlı doğum yapan olguların ortalama β -hCG (p=0,049) ve KISS3 (p=0,002) değerlerinin canlı doğum yapmayanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi. Bununla birlikte her iki grupta yaş, BMI, FSH, LH, E2, KISS1 ve KISS2 ortalamalarında istatistiksel açıdan fark olmadığı bulundu.

Canlı doğum yapan olgular arasında abortus imminens maruziyetlerine göre demografik ve klinik dağılımları **Tablo 8**'de gösterilmiştir.

Tablo 8. Canlı Doğum Yapan Olgular Arasında Abortus İmminens Maruziyetine Göre Demografik ve Klinik Özelliklerin Ortalamaları

	Abortus İmminens Yok		Abortus İmminens Var		p ^a
	Ort.	Ortanca	Ort.	Ortanca	
YAŞ (yıl)	30,78	30,00	30,44	30,00	0,929
BMI (kg/m2)	23,33	23,00	24,33	23,00	0,654
FSH (IU/ml)	8,6	8,4	8,0	7,3	0,353
LH (IU/ml)	5,54	5,90	4,13	3,10	0,144
E2 (pg/ml)	46,67	40,00	45,42	39,80	0,691
KISS1 (pg/ml)	50,24	51,86	60,00	41,18	0,233
KISS2 (pg/ml)	64,92	61,32	49,28	51,86	0,122
KISS3 (pg/ml)	103,99	103,46	69,69	75,18	0,058
β-hCG (IU/ml)	2866,78	1936,00	2470,89	2136,00	0,691

Ort.=Ortalama, p^a =Mann Whitney U testi sonucu

Tablo 9. Olguların Demografik ve Klinik Özellikleri Arasındaki İlişki

		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1-Yaş	r									
	p									
2-β-hCG	r	-,098								
	p	,621								
3-FSH	r	-,092	-,300							
	p	,642	,121							
4-LH	r	-,283	,109	,260						
	p	,144	,582	,181						
5-E2	r	,308	,099	,490	,159					
	p	,110	,615	,008	,418					
6-KISS1	r	-,207	-,209	,192	,159	,081				
	p	,291	,286	,328	,419	,684				
7-KISS2	r	-,230	,229	-,012	,218	-,154	-,015			
	p	,240	,241	,951	,264	,434	,939			
8-KISS3	r	-,145	,405*	-,042	-,048	,062	-,088	,080		
	p	,462	,032	,830	,808	,752	,657	,685		
9-Max.End.K	r	,003	-,144	-,002	-,106	,117	,095	-,081	,113	
	p	,989	,465	,990	,590	,552	,632	,680	,568	
10-BMI	r	,218	-,365	-,021	-,195	-,159	-,075	-,207	-,103	,068
	p	,265	,056	,916	,320	,419	,706	,289	,600	,732

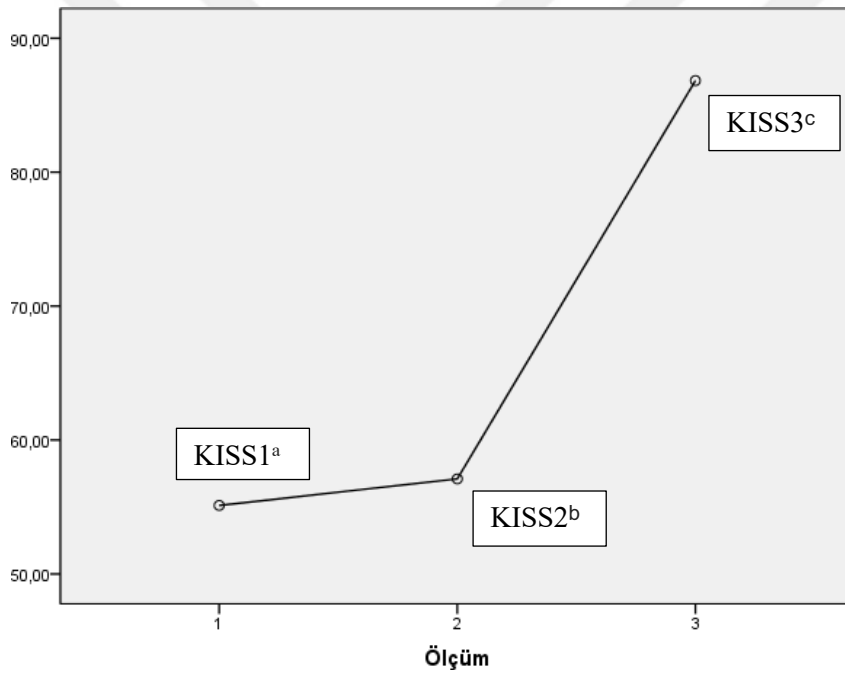
Spearman korelasyon analizi ile olguların β-hCG değerleri ile KISS3 değerleri arasındaki ilişki incelendi ve her iki değer arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede pozitif yönde bir ilişki olduğu ($r=0,405$, $p=0,032$) tespit edildi.

Canlı Doğum Yapan Olguların ve Canlı Doğum Yapmayan Olguların Üç Ölçüm İçin Ortalama Kisspeptin Düzeylerindeki Değişimleri **Şekil 1**'de verilmiştir.

Şekil 1: Şekil 1A ve Şekil 1B

Canlı doğum yapan olguların kisspeptin ortalamalarının değişiminin karşılaştırılması **Şekil 1A**'da verilmiştir.

Şekil 1A. Canlı Doğum Yapanlarda Kisspeptin Ortalamalarının Değişimi



Friedman Testi $p < 0,05$ anlamlı

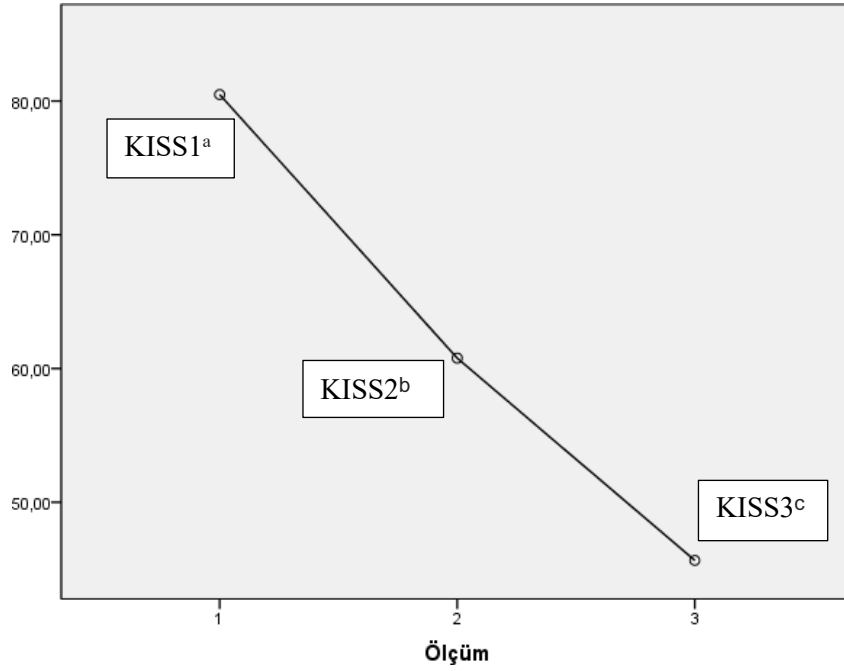
Sonuç: ($\chi^2=11,44$, $p=0,003$)

İkili karşılaştırmalar (Wilcoxon Testi) ; a-b: ($p=0,043$), a-c: ($p=0,010$), b-c: ($p=0,006$).

Canlı doğum yapan olgularda kisspeptin ölçüm ortalamalarının istatistiksel açıdan anlamlı seviyede değiştiği ($\chi^2=11,44$, $p=0,003$) bulundu. İlk ölçümden ikinci ölçüme (a-b) ($p=0,043$), ilk ölçümden üçüncü ölçüme (a-c) ($p=0,010$) ve ikinci ölçümden üçüncü ölçüme (a-c) ($p=0,006$) kisspeptin değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı bulundu.

Canlı doğum yapmayan olgularda kisspeptin ortalamalarının değişiminin karşılaştırılması **Şekil 1B**'de verilmiştir.

Şekil 1B. Canlı Doğum Yapmayan Olgularda Kisspeptin Ortalamalarının Değişimi



Friedman Testi $p < 0,05$ anlamlı

Sonuç: $\chi^2=2,60$, $p=0,273$

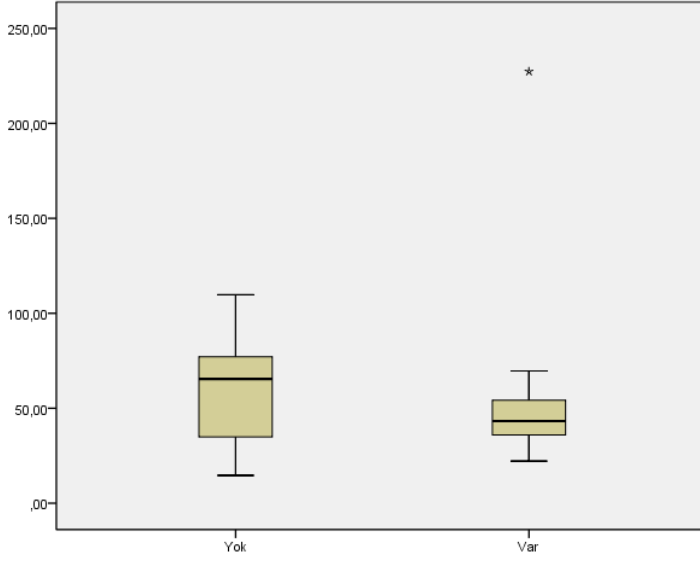
İkili karşılaştırmalar (Wilcoxon Testi) ; a-b: ($p=0,575$), a-c: (**$p=0,017$**), b-c: ($p=0,333$).

Canlı doğum yapmayan olgularda kisspeptin düzeylerinin ortalamalarının istatistiksel olarak anlamlı seviyede değişmediği ($\chi^2=2,60$, $p=0,273$) bulundu. İlk ölçümden üçüncü ölçüme (a-c) kisspeptin değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı ($p=0,017$) ve ek olarak diğer ölçümler arasında anlamlı bir değişim olmadığı bulundu.

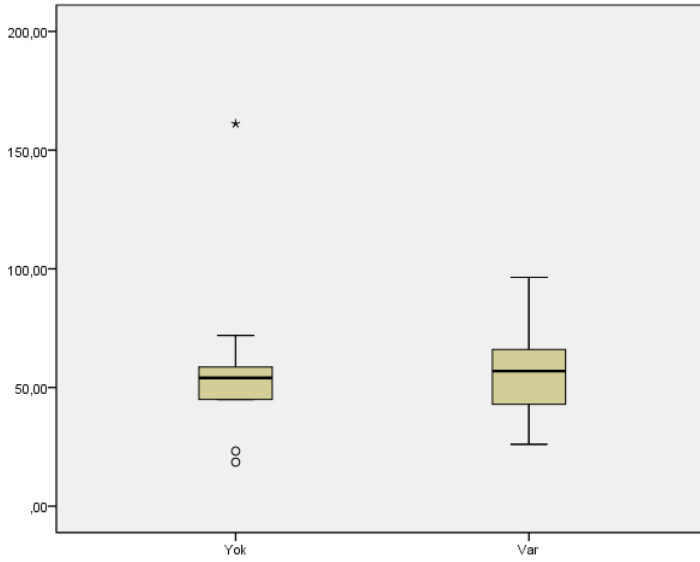
Canlı doğum yapan ve canlı doğum yapmayan olgular arasında sırasıyla KISS-1, KISS-2 ve KISS-3 değerlerinin karşılaştırılması kutu grafiği ile sırasıyla **Şekil 2**'de gösterilmiştir.

Şekil 2: Şekil 2A, Şekil 2B, Şekil 2C

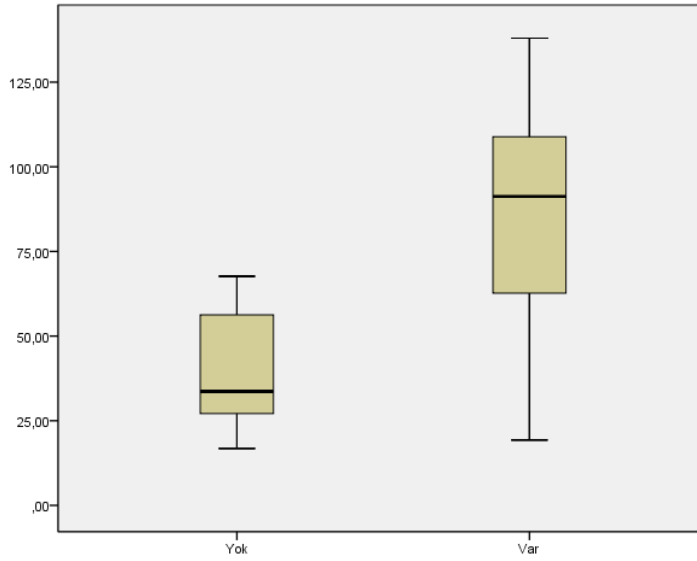
Şekil 2A. Canlı Doğum Yapan ve Canlı Doğum Yapmayan Vakalar Arasında KISS-1 Bazal Değeri Karşılaştırması



Şekil 2B. Canlı Doğum Yapan ve Canlı Doğum Yapmayan Vakalar Arasında KISS-2 Değeri Karşılaştırması



Şekil 2C. Canlı Doğum Yapan ve Canlı Doğum Yapmayan Arasında KISS-3 Değeri Karşılaştırması



Kisspeptin ölçümlerinin canlı doğum ile tek değişkenli regresyon analizi ile bağımsız ilişkisi **Tablo 10**'da gösterilmiştir.

Tablo 10. Kisspeptin Ölçümlerinin Canlı Doğum Yapma Olasılığını Arttırmakla İlişkili Tek Değişkenli Lojistik Regresyon Analizi

	B	S.E.	Wald	df	p	Odds Ratio	%95 CI
KISS1 (pg/ml)	-0,005	0,01	0,22	1	0,63	0,99	0,97-1,01
KISS2 (pg/ml)	-0,003	0,01	0,04	1	0,83	0,99	0,96-1,02
KISS3 (pg/ml)	0,05	0,01	6,87	1	0,009	1,05	1,01-1,09

Nagelkerke R²=0,00 (KISS1 ve KISS2), Nagelkerke R²=0,48 (KISS3)

KISS1 ve KISS2 değerlerinin canlı doğum ile bağımsız ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı değilken, embriyo transferinden 14 gün sonra bakılan KISS3 değerinin canlı doğum ile anlamlı derecede ilişkili olduğu bulundu ($p=0,009$ OR=1,05 [%95 CI 1,01-1,09]).

5. TARTIŞMA

Klinik olarak tespit edilen tüm gebeliklerin %12-15'i 4 ile 20. gebelik haftaları arasında spontan olarak kaybedilmektedir. Bu oran klinik olarak tespit edilmemiş gizli erken kayıplarla beraber yaklaşık 2-4 kat artmaktadır (202). Abortus sıklıkla gelişen embriyonun düzensiz desidualizasyonu, implantasyonu ve plasentasyonu gibi sitogenetik anormallikler ile ilişkili olarak gerçekleşmektedir. (203,204).

In vitro fertilizasyon veya ICSI ile gebelik elde edilen hastalarda, erken gebelik döneminde abortus veya ektopik gebelik gibi olumsuz sonuçlarla gebeliğin sonlanması çiftleri son derece olumsuz etkilemektedir. Ancak erken gebelik sonuçlarını ön görmede kullanılan güvenilir bir biyobelirteç bulunmamaktadır. β -hCG, gebelikte en yaygın kullanılan belirteçtir ancak tek bir ölçümü gebelik kaybı tanısında sınırlı bir değere sahiptir (205).

Kisspeptinler, *KISS1* geni tarafından kodlanan ve G proteini ile kenetlenmiş 'kisspeptin reseptörüne' bağlanan bir peptid ailesidir. Sinsityotrofoblastlarda eksprese edilir ve reseptörü hem sitotrofoblastlarda hem de sinsityotrofoblastlarda bulunur (199). Trofoblastlar tarafından üretildiğinden ve blastokist transferinden 5 gün sonra trofoblast invazyonu devam ettiğinden, implantasyon periyodundaki serum kisspeptin konsantrasyonları, gebelik sonucu ile ilişkili erken gelişimsel olayları yansıtabilir (188). *KISS1* geninin plasental ekspresyonu, özellikle plasentasyon zamanına denk gelen ilk trimesterde yüksektir (206). Kisspeptin, varsayılan bir plasentasyon belirteci olarak ortaya çıkmıştır ve gebelik komplikasyonlarının yeni bir belirteci olarak potansiyeli değerlendirilmelidir (8). Literatür taraması yaptığımızda, IVF ile gebelik elde edilen hastalarda, hastaların bazal kisspeptin değerleri ve kisspeptinin seri ölçümleri ile hastaların gebelik sonuçlarını inceleyen bir çalışma bulunamamıştır. Çalışmamız bu açıdan literatüre katkı sağlamayı amaçlamıştır

Li ve ark. yaptığı vaka-kontrol çalışmasında, tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda hem trofoblastlarda hem de desidua *KISS1* düzeylerinin elektif abortus olan sağlıklı gruba göre anlamlı derecede düşük olduğunu göstermiştir (207). Benzer olarak Colak ve ark. yaptığı prospektif vaka kontrol çalışmasında erken gebelik kaybı yaşayan kadınlarda plasental *KISS1* düzeyi elektif terminasyon yapılan gruba göre anlamlı ölçüde düşük saptanmıştır ve *KISS1*'in gebeliğin implantasyonunda görev aldığı sonucu desteklenmiştir (208).

Son yıllarda serum kisspeptin düzeylerinin erken haftalarda abortus için belirteç olarak kullanımı üzerine çalışmalar yapılmıştır. Sullivan-Pyke ve ark.'nın çalışmasında, serum kisspeptin ve hCG düzeylerinin gebelik için karşılaştırılabilir tanısal değerlere sahip olduğu ve kisspeptin düzeylerinin erken gebelik canlılığı için yeni bir belirteç olarak kabul edilebileceği gösterilmiştir (197). Benzer şekilde Jayasena ve ark. yaptığı kohort çalışmasında kisspeptinin erken gebelik kaybı için β -hCG'den daha yüksek bir tanısal performansa sahip olduğunu göstermiştir (198). Ayrıca tek bir serum kisspeptin ölçümünün 6 hafta ve daha büyük gebeliklerde, düşük riski artmış asemptomatik gebe kadınları tanımlamak için plasenta fonksiyonunu temsil eden yeni bir unsur olduğu öne sürülmüştür (198). Bizim çalışmamızda, bu görüşü destekler şekilde, embriyo transferinden 14 gün sonra erken gebelik döneminde ölçülen kisspeptin ve β -hCG değerlerinin her ikisi de gebeliği abortus ile sonuçlanan olgularda, canlı doğum yapanlara göre anlamlı olarak daha düşük düzeyde bulunmuştur.

ICSI uygulanan kadınlarda yapılan iki çalışmada serum kisspeptin seviyeleri değerlendirilmiş ve düşük kisspeptin düzeyleri implantasyon başarısızlığı ile ilişkilendirilmiştir (209,210). Erkek faktör infertilitesi ile açıklanamayan infertil çiftler karşılaştırıldığında, açıklanamayan grupta serum kisspeptin seviyeleri ve ICSI'yi takiben implantasyon oranları daha düşük bulunmuştur (209). ICSI yapılan 176 hastanın dahil edildiği diğer çalışmada ise,

ovulasyonun tetiklenmesinden önce ölçülen serum kisspeptin seviyeleri embriyo transferini takiben klinik gebelik elde edilemeyen kadınlarda, gebelik oluşanlara göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (210). Çalışmamızda, implantasyonda görev aldığı düşünülen kisspeptinin canlı doğum yapan hastalarda tedavi öncesi, embriyo transfer günü ve transferden 14 gün sonraki ölçümlerinde anlamlı seviyede arttığı bulundu ($p=0,003$). Bu verilerimize göre IVF tedavisi esnasında serum kisspeptin seviyelerindeki artışlar implante olan embriyo/embriyoların canlı doğum ile sonuçlanmasını ön görmede umut vericidir.

Plasentasyondaki rolüne ek olarak, kisspeptin'in immünmodülatör rolü olduğu gösterilmiştir (206-211). *T-suppressor* hücrelerin aracılık ettiği bir süreç olan gebelik esnasında fetal reddi önlemek için annenin immün toleransı gereklidir (212). Kisspeptin, gebelik sırasında gözlemlenen değerlerle orantılı seviyelerde uygulandığında insan naif-T hücrelerinin *T-suppressor* hücrelere farklılaşmasını önemli ölçüde arttırmıştır (211). Bu nedenle, düşük kisspeptin seviyeleri, hipotetik olarak annenin immün toleransının azalmasıyla ve dolayısıyla abortus riskinin artmasıyla ilişkilendirilebilir (213).

Kisspeptinin, abortus riskini belirlemede görev almasına katkıda bulunan bir başka mekanizmanın da oksidasyon olabileceği belirtilmiştir. Gelişmekte olan embriyonun hayatta kalabilmesi için göreceli hipoksiye ihtiyacı vardır ve erken oksidatif strese maruz kalmak düşük riskini artırabilir (214). Kisspeptin, plasental anjiyogenezin düzenlenmesinde rol alır (48). Ayrıca, azalmış kisspeptin seviyeleri, abortus ile ilişkili olduğu bilinen anormal desidualizasyonu ve implantasyonu yansıtabilir (215,216). Öte yandan, kisspeptin heterozigot mutant dişi farelerin anormal plasental fonksiyonu yoktur ve kisspeptin reseptör varyantları olan hastalarda gebelikler terme ulaşabilmiştir (217,218). Bu nedenle, kisspeptinin, abortus

patofizyolojisinde önemli bir aktif role sahip olmasından ziyade, plasental fonksiyonun bir biyolojik belirteci olması da mümkündür (213).

Literatürde kesin bir veri olmasa da abort açısından yüksek risk olduğu düşünülen kadınlarda, progesteronu da içeren bazı tedavilerin faydalı olabileceğini öne süren çalışmalar mevcuttur (219,220). Buna bağlı olarak, abortus riski yüksek olan kadınları sürecin başlarında saptamanın sürecin yönetimine önemli katkı sağladığı düşünülebilir. Kavvasoğlu ve ark.'larının 2012 yılında yaptığı bir çalışmada abortus imminens saptanan hastalarda serum kisspeptin düzeylerinin daha düşük olduğu gösterilmiştir (221). Literatürdeki buna benzer kısıtlı verilerin aksine, çalışmamızda canlı doğum yapan olgularla karşılaştırıldığında, abortus imminensle ilişkili olarak ortalama kisspeptin değerlerinde herhangi bir istatistiksel farklılık bulunmamıştır. Bu durum, literatür verilerinin kısıtlılığından veya çalışmamızdaki örnekleme büyüklüğünden kaynaklanıyor olabilmektedir.

Abbara ve ark.'nın prospektif vaka kontrol çalışmasında intrauterin gebeliği olan kadınlarda tek başına ve/veya β -hCG seviyeleri ile kombinasyon halinde serum kisspeptin düzeyleri incelenmiştir. Gebeliği abortusla sonuçlanan kadınlarda serum kisspeptin düzeyleri daha düşük bulunmuş ve artan gebelik haftası ile kisspeptinin abortusu belirlemedeki performansı artarken β -hCG'nin performansının azaldığı gösterilmiştir (213). Bizim çalışmamızda ise abortus olgularında serum kisspeptin değerleri seri ölçümlerde giderek azalmış fakat bu oran istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Buna karşın, kisspeptinin bazal değerleri ile transferden 14 gün sonra bakılan değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş mevcuttur. Bu nedenle çalışmamızın sonuçlarına göre IVF tedavisi esnasında serum kisspeptinin seri ölçümlerindeki düşüşler abortus gerçekleşecek olguları ön görmeye kısmen yardımcı olabilir.

Son yıllarda yapılan bir diğer çalışmada donma-çözme sikluslarında embriyo transferinden 14 ve 21 gün sonra kisspeptin değerleri ölçülüp karşılaştırılmış ve serum kisspeptin değerinin artan gebelik yaşı ile korele olarak arttığı ancak erken gebelik döneminde bu artışın çok yavaş olduğu gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada erken gebelik döneminde kisspeptin değerinin β -hCG ye kıyasla abortus için düşük bir prediktif değere sahip olduğu bulunmuştur (222). Benzer şekilde Rong Li ve ark.larının 2021 yılında yayınladığı bir makalede serum kisspeptin düzeyinin, β -hCG 'ye ek olarak abortus tanısı için umut verici bir biyobelirteç olduğu ve ilk trimesterin geç gebelik haftalarında kisspeptinin prediktif değerinin β -hCG'den daha üstün olduğu söylenmiştir (11). Sonuç olarak, serum kisspeptin değerinin abortusu ön görmede prediktif değeri yüksek olsa da bu değerin daha çok birinci trimesterde geç gebelik haftalarında önemi kayda değer gibi görünmektedir. Çalışmamızda erken gebelik döneminde seri kisspeptin ölçümleri yapılmamış olsa da β -hCG ile aynı gün ölçülen kisspeptin değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede pozitif yönde bir ilişki olduğu ($r=0,405$, $p=0,032$) ve bu kisspeptin değerinin canlı doğum ile anlamlı derecede ilişkili olduğu bulunmuştur ($p=0,009$ OR=1,051).

Çalışmamızın kısıtlılıkları örneklem boyutunun küçük olmasıdır. Ek olarak IVF/ICSI planlanan hem *fresh* hem de *frozen-thaw* siklus hastalarının çalışmaya dahil edilmesi ve olguların infertilite nedenlerinin dağılımının homojen olmamasıdır. Çalışmamızın güçlü yanları ise bir prospektif kohort çalışma olarak, uygun power analizi ile, IVF/ICSI tedavisi esnasında seri kisspeptin ölçümlerinin, olguların tüm gebelik sürecinde takip edilerek canlı doğum sonuçları ile karşılaştırarak canlı doğumu öngörmeye katkı sağlayan literatürdeki ilk çalışma olmasıdır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

In vitro fertilizasyon planlanan infertil hastalar gebe kalabilme umuduyla son derece stresli ve uzun tedavi süreçleri geçirirler. Bu hastalarda canlı doğum ile sonuçlanan sağlıklı gebelik oranlarını arttırmak için sürekli yeni çalışmalar yapılmaktadır. IVF tedavisinin başarısını yansıtan en önemli sonuç canlı doğum oranıdır. Gebelik elde edilen hem infertil hem fertil hastalarda erken gebelik döneminde gebeliğin abortus ile sonlanması son derece yıpratıcı bir durumdur. Çalışmamızda son yıllarda erken gebelik döneminde abortusu öngörmede yeni bir biyobelirteç olduğu düşünülen serum kisspeptin düzeylerinin IVF tedavisi esnasında seri ölçümleri yapılmıştır. Literatürde spontan gebe kalan hastalarda serum kisspeptin değerlerini inceleyen çok sayıda çalışma olmasına karşın IVF hastalarında yapılan çalışma sayısı son derece azdır. Serum kisspeptin düzeyleri her ne kadar abortusu öngörmede biyobelirteç olarak umut vaat etse de son yapılan çalışmalarda ilk trimesterin erken gebelik dönemlerinde kisspeptin değerinin artış hızının yavaş olması nedeni ile daha geniş hasta popülasyonu ile seri ölçümler yapılarak takip etmek gerekmektedir.

Çalışmamız, IVF tedavisinde kisspeptin değer artışının ve KISS3 değerinin canlı doğum ile pozitif yönde ilişkili olduğunu gösteren literatürdeki ilk ve tek çalışmadır. Çalışmamızda gebeliği canlı doğum ile sonuçlanmayan olgularda ise kisspeptin düzeyleri seri ölçümlerde anlamlı olmasa da azalmıştır. Ek olarak canlı doğum yapmayan olgularda, KISS-1 ölçümünden KISS-3 ölçümüne ortalama değerlerin azaldığı bulunmuştur.

In vitro fertilizasyon tedavisi esnasında serum kisspeptin düzeyinin seri ölçümlerini yaptığımız prospektif kohort çalışmamızın sonuçlarına göre, kisspeptinin abortusu öngörmede bir biyobelirteç olarak kullanılması ayrıca IVF tedavisi esnasında ölçülen kisspeptin değer artışının canlı doğumu öngörmesi ve eşik değerlerinin belirlenmesi açısından daha geniş serili randomize kontrollü prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Wilcox AJ, Weinberg CR, O'Connor JF, Baird DD, Schlatterer JP, Canfield RE, et al. Incidence of early loss of pregnancy. *Obstet Gynecol Surv.* 1989;44(2):147–9.
2. Kamal Sunkara S, Khalaf Y, Maheshwari A, Seed P, Coomarasamy A. Association between response to ovarian stimulation and miscarriage following IVF: an analysis of 124 351 IVF pregnancies. *Hum Reprod.* 2014;29(6):1218–24.
3. Haadsma ML, Groen H, Mooij TM, Burger CW, Broekmans FJ, Lambalk CB, et al. Miscarriage risk for IVF pregnancies in poor responders to ovarian hyperstimulation. *Reprod Biomed Online.* 2010 Feb;20(2):191–200.
4. Jayasena CN, Comninou AN, Nijher GMK, Abbara A, De Silva A, Veldhuis JD, et al. Twice-daily subcutaneous injection of kisspeptin-54 does not abolish menstrual cyclicity in healthy female volunteers. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Nov;98(11):4464–74.
5. Horikoshi Y, Matsumoto H, Takatsu Y, Ohtaki T, Kitada C, Usuki S, et al. Dramatic elevation of plasma metastin concentrations in human pregnancy: metastin as a novel placenta-derived hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Feb;88(2):914–9.
6. Dhillo WS, Savage P, Murphy KG, Chaudhri OB, Patterson M, Nijher GM, et al. Plasma kisspeptin is raised in patients with gestational trophoblastic neoplasia and falls during treatment. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006 Nov;291(5):E878-84.
7. Cartwright JE, Williams PJ. Altered placental expression of kisspeptin and its receptor in pre-eclampsia. *J Endocrinol.* 2012 Jul;214(1):79–85.
8. Savaris RF. Kisspeptin as a biomarker for miscarriage: let's wait! Vol. 109, *Fertility*

and sterility. United States; 2018. p. 67.

9. Trevisan CM, Montagna E, de Oliveira R, Christofolini DM, Barbosa CP, Crandall KA, et al. Kisspeptin/GPR54 System: What Do We Know About Its Role in Human Reproduction? *Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol*. 2018;49(4):1259–76.
10. Preisler J, Kopeika J, Ismail L, Vathanan V, Farren J, Abdallah Y, et al. Defining safe criteria to diagnose miscarriage: prospective observational multicentre study. *BMJ*. 2015 Sep;351:h4579.
11. Li R, Hu K-L. Kisspeptin, a promising biomarker for miscarriage in early pregnancy. Vol. 116, *Fertility and sterility*. United States; 2021. p. 672–3.
12. Taylor GM, Faragher EB, Chantler E, Seif MW. Fecundity in the modern city: A comparison of couples attending antenatal clinics in Manchester (UK) and Melbourne (Australia). *J Obstet Gynaecol (Lahore)*. 1999;19(5):489–95.
13. Dunson DB, Colombo B, Baird DD. Changes with age in the level and duration of fertility in the menstrual cycle. *Hum Reprod*. 2002 May;17(5):1399–403.
14. GUTTMACHER AF. Factors affecting normal expectancy of conception. *J Am Med Assoc*. 1956 Jun;161(9):855–60.
15. Fertility evaluation of infertile women: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2021 Nov;116(5):1255–65.
16. Frank P, McNamee R, Hannaford PC, Kay CR, Hirsch S. The effect of induced abortion on subsequent fertility. *Br J Obstet Gynaecol*. 1993 Jun;100(6):575–80.
17. Diagnostic evaluation of the infertile female: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2015 Jun;103(6):e44-50.

18. Miller JH, Weinberg RK, Canino NL, Klein NA, Soules MR. The pattern of infertility diagnoses in women of advanced reproductive age. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;181(4):952–7.
19. Infertility Workup for the Women’s Health Specialist: ACOG Committee Opinion Summary, Number 781. *Obstet Gynecol.* 2019 Jun;133(6):1294–5.
20. Munro MG, Critchley HOD, Fraser IS. The two FIGO systems for normal and abnormal uterine bleeding symptoms and classification of causes of abnormal uterine bleeding in the reproductive years: 2018 revisions. *Int J Gynaecol Obstet Off organ Int Fed Gynaecol Obstet.* 2018 Dec;143(3):393–408.
21. MÜNSTER K, SCHMIDT L, HELM P. Length and variation in the menstrual cycle—a cross-sectional study from a Danish county. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 1992;99(5):422–9.
22. Taylor H, Pal L SE. Speroff. *Klinik Jinekolojik Endokrinoloji ve İnfertilite.* Güneş Tıp Kitabevleri. 2020. p. 973–1027.
23. Krause W. Computer-assisted semen analysis systems: comparison with routine evaluation and prognostic value in male fertility and assisted reproduction. *Hum Reprod.* 1995 Oct;10 Suppl 1:60–6.
24. Miller PB, Soules MR. The usefulness of a urinary LH kit for ovulation prediction during menstrual cycles of normal women. *Obstet Gynecol.* 1996 Jan;87(1):13–7.
25. Knochenhauer ES, Key TJ, Kahsar-Miller M, Waggoner W, Boots LR, Azziz R. Prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected black and white women of the southeastern United States: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998 Sep;83(9):3078–82.

26. Hamilton-Fairley D, Taylor A. Anovulation. *BMJ*. 2003 Sep;327(7414):546–9.
27. Health and fertility in World Health Organization group 2 anovulatory women. *Hum Reprod Update*. 2012;18(5):586–99.
28. Teede HJ, Misso ML, Costello MF, Dokras A, Laven J, Moran L, et al. Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2018 Aug;110(3):364–79.
29. Koloğlu Endokrinoloji Temel ve Klinik. 2005. p. 820.
30. Phophong P, Ranieri DM, Khadum I, Meo F, Serhal P. Basal 17beta-estradiol did not correlate with ovarian response and in vitro fertilization treatment outcome. *Fertil Steril*. 2000 Dec;74(6):1133–6.
31. Evers JL, Slaats P, Land JA, Dumoulin JC, Dunselman GA. Elevated levels of basal estradiol-17beta predict poor response in patients with normal basal levels of follicle-stimulating hormone undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1998 Jun;69(6):1010–4.
32. van Rooij IAJ, Broekmans FJM, Scheffer GJ, Looman CWN, Habbema JDF, de Jong FH, et al. Serum antimullerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. *Fertil Steril*. 2005 Apr;83(4):979–87.
33. Sowers MR, Eyvazzadeh AD, McConnell D, Yosef M, Jannausch ML, Zhang D, et al. Anti-mullerian hormone and inhibin B in the definition of ovarian aging and the menopause transition. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Sep;93(9):3478–83.
34. Bancsi LFJMM, Broekmans FJM, Looman CWN, Habbema JDF, te Velde ER. Impact of repeated antral follicle counts on the prediction of poor ovarian response in women

- undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2004 Jan;81(1):35–41.
35. Scheffer GJ, Broekmans FJ, Dorland M, Habbema JD, Looman CW, te Velde ER. Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility. *Fertil Steril*. 1999 Nov;72(5):845–51.
 36. Hendriks DJ, Mol B-WJ, Bancsi LFJMM, Te Velde ER, Broekmans FJM. Antral follicle count in the prediction of poor ovarian response and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis and comparison with basal follicle-stimulating hormone level. *Fertil Steril*. 2005 Feb;83(2):291–301.
 37. Lass A, Silye R, Abrams DC, Krausz T, Hovatta O, Margara R, et al. Follicular density in ovarian biopsy of infertile women: a novel method to assess ovarian reserve. *Hum Reprod*. 1997 May;12(5):1028–31.
 38. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update*. 2006;12(6):685–718.
 39. L. W. Effect of pelvic inflammatory disease on fertility. *p. Venereology* 1995; 8(4): 219-22. PMID: 12291198.
 40. Donnez J, Casanas-Roux F. Prognostic factors of fimbrial microsurgery. *Fertil Steril*. 1986 Aug;46(2):200–4.
 41. Diamond E. Lysis of postoperative pelvic adhesions in infertility. *Fertil Steril*. 1979 Mar;31(3):287–95.
 42. Zeyneloglu HB, Arici A, Olive DL. Adverse effects of hydrosalpinx on pregnancy rates after in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril*. 1998;70(3):492–9.
 43. Zhong Y, Li J, Wu H, Ying Y, Liu Y, Zhou C, Xu Y et al. Effect of surgical

- intervention on the expression of leukemia inhibitory factor and L-selectin ligand in the endometrium of hydrosalpinx patients during the implantation window. *Exp Ther Med*. 2012;4(6): 1027.
44. Strandell A, Lindhard A, Waldenström U, Thorburn J. Hydrosalpinx and IVF outcome: cumulative results after salpingectomy in a randomized controlled trial. *Hum Reprod*. 2001 Nov;16(11):2403–10.
45. Daftary GS, Kayisli U, Seli E, Bukulmez O, Arici A, Taylor HS. Salpingectomy increases peri-implantation endometrial HOXA10 expression in women with hydrosalpinx. *Fertil Steril*. 2007;87(2):367–72.
46. Strandell A, Lindhard A. Why does hydrosalpinx reduce fertility? The importance of hydrosalpinx fluid. *Hum Reprod*. 2002 May;17(5):1141–5.
47. Berek, JS NE. Berek & Novak's Gynecology. 14th ed, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. p. 2007; xxii: 1671 p.
48. Coughlan C, Ledger W, Wang Q, Liu F, Demirel A, Gurgan T, et al. Recurrent implantation failure: Definition and management. *Reprod Biomed Online*. 2014;28(1):14–38.
49. Ozkan S, Murk W, Arici A. Endometriosis and infertility: epidemiology and evidence-based treatments. *Ann N Y Acad Sci*. 2008 Apr;1127:92–100.
50. Oral E, Arici A, Olive DL, Huszar G. Peritoneal fluid from women with moderate or severe endometriosis inhibits sperm motility: the role of seminal fluid components. *Fertil Steril*. 1996 Nov;66(5):787–92.
51. Mastroianni L. The Fallopian tube and reproductive health. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 1999;12(3):121–6.

52. Yamashita Y, Ueda M, Takehara M, Yamashita H, Suzuki Y, Hung YC, et al. Influence of severe endometriosis on gene expression of vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in granulosa cells from patients undergoing controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril*. 2002;78(4):865–71.
53. Cirkel U, Ochs H, Mues B, Zwadlo G, Sorg C, Schneider HPG. Inflammatory reaction in endometriotic tissue: an immunohistochemical study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1993;48(1):43–50.
54. AM F. Speroff, *Klinik Jinekolojik Endokrinoloji ve İnfertilite*. p. 2014; 1137-91.
55. Effectiveness and treatment for unexplained infertility. *Fertil Steril*. 2006 Nov;86(5 Suppl 1):S111-4.
56. Guzick DS, Sullivan MW, Adamson GD, Cedars MI, Falk RJ, Peterson EP, et al. Efficacy of treatment for unexplained infertility. *Fertil Steril*. 1998 Aug;70(2):207–13.
57. Collins JA, Rowe TC. Age of the female partner is a prognostic factor in prolonged unexplained infertility: a multicenter study. *Fertil Steril*. 1989 Jul;52(1):15–20.
58. Collins JA, Burrows EA, Wilan AR. The prognosis for live birth among untreated infertile couples. *Fertil Steril*. 1995 Jul;64(1):22–8.
59. Reindollar RH, Regan MM, Neumann PJ, Levine B-S, Thornton KL, Alper MM, et al. A randomized clinical trial to evaluate optimal treatment for unexplained infertility: the fast track and standard treatment (FASTT) trial. *Fertil Steril*. 2010 Aug;94(3):888–99.
60. Hughes EG, Beecroft ML, Wilkie V, Burville L, Claman P, Tummon I, et al. A multicentre randomized controlled trial of expectant management versus IVF in

- women with Fallopian tube patency. *Hum Reprod.* 2004 May;19(5):1105–9.
61. Thonneau P, Marchand S, Tallec A, Ferial ML, Ducot B, Lansac J, et al. Incidence and main causes of infertility in a resident population (1 850 000) of three french regions (1988-1989). *Hum Reprod.* 1991;6(6):811–6.
 62. Tyler JP, Crockett NG, Driscoll GL. Studies of human seminal parameters with frequent ejaculation. I. Clinical characteristics. *Clin Reprod Fertil.* 1982 Dec;1(4):273–85.
 63. Pellestor F, Girardet A, Andreo B. Effect of long abstinence periods on human sperm quality. *Int J Fertil Menopausal Stud.* 1994;39(5):278–82.
 64. Forti G, Krausz C. Clinical review 100: Evaluation and treatment of the infertile couple. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998 Dec;83(12):4177–88.
 65. Esteves SC, Zini A, Aziz N, Alvarez JG, Sabanegh ESJ, Agarwal A. Critical appraisal of World Health Organization's new reference values for human semen characteristics and effect on diagnosis and treatment of subfertile men. *Urology.* 2012 Jan;79(1):16–22.
 66. Cooper TG, Noonan E, von Eckardstein S, Auger J, Baker HWG, Behre HM, et al. World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Hum Reprod Update.* 2010;16(3):231–45.
 67. Miller DC, Hollenbeck BK, Smith GD, Randolph JF, Christman GM, Smith YR, et al. Processed total motile sperm count correlates with pregnancy outcome after intrauterine insemination. *Urology.* 2002 Sep;60(3):497–501.
 68. Van Voorhis BJ, Barnett M, Sparks AE, Syrop CH, Rosenthal G, Dawson J. Effect of the total motile sperm count on the efficacy and cost-effectiveness of intrauterine

- insemination and in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2001 Apr;75(4):661–8.
69. Hernández M, Molina R, Olmedo J, Olmedo SB, Coetzee K, Estofán D. Prognostic value of the strict criteria: an Argentinian experience. *Arch Androl*. 1996;37(2):87–9.
 70. Van Steirteghem A, Liu J, Nagy Z, Joris H, Tournaye H, Liebaers I, et al. Use of assisted fertilization. *Hum Reprod*. 1993 Nov;8(11):1784–5.
 71. Steptoe PC, Edwards RG. Reimplantation of a human embryo with subsequent tubal pregnancy. *Lancet* (London, England). 1976 Apr;1(7965):880–2.
 72. Steptoe PC, Edwards RG. BIRTH AFTER THE REIMPLANTATION OF A HUMAN EMBRYO. *Lancet*. 1978 Aug 12;312(8085):366.
 73. Biljan MM, Buckett WM, Dean N, Phillips SJ. The outcome of IVF-embryo transfer treatment in patients who develop three follicles or less. Vol. 15, *Human Reproduction*. 2000.
 74. Hull MG, Fleming CF, Hughes AO, McDermott A. The age-related decline in female fecundity: a quantitative controlled study of implanting capacity and survival of individual embryos after in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1996 Apr;65(4):783–90.
 75. Ata B, Kaplan B, Danzer H, Glassner M, Opsahl M, Tan SL, et al. Array CGH analysis shows that aneuploidy is not related to the number of embryos generated. *Reprod Biomed Online*. 2012 Jun;24(6):614–20.
 76. Ziebe S, Loft A, Petersen JH, Andersen AG, Lindenberg S, Petersen K, et al. Embryo quality and developmental potential is compromised by age. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2001 Feb;80(2):169–74.
 77. Munné S, Held KR, Magli CM, Ata B, Wells D, Fragouli E, et al. Intra-age, intercenter, and intercycle differences in chromosome abnormalities in oocytes. *Fertil*

- Steril. 2012 Apr;97(4):935–42.
78. Bauer UE, Barfield WD, Morris K, Folger SG, Boulet SL, Chang J, et al. 2015 Assisted Reproductive Technology National Summary Report. Centers Dis Control Prev Am Soc Reprod Med Soc Assist Reprod Technol. 2017;1–80.
 79. Leeton J, Rogers P, Caro C, Healy D, Yates C. A controlled study between the use of gamete intrafallopian transfer (GIFT) and in vitro fertilization and embryo transfer in the management of idiopathic and male infertility. Fertil Steril. 1987 Oct;48(4):605–7.
 80. de Mouzon J, Lancaster P, Nygren KG, Sullivan E, Zegers-Hochschild F, Mansour R, et al. World collaborative report on Assisted Reproductive Technology, 2002. Hum Reprod. 2009 Sep;24(9):2310–20.
 81. Greenhall E, Vessey M. The prevalence of subfertility: a review of the current confusion and a report of two new studies. Fertil Steril. 1990 Dec;54(6):978–83.
 82. Keilany Z. Tandberg A., Textbook of Assisted Reproductive Techniques. Laboratory and Clinical Perspectives. Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica, 2005. 84(10): p. 1027-1027. Rev Soc Econ. 1978;36(2):228–9.
 83. Girsh E. In vitro fertilization. A Textb Clin Embryol. 2021;95–113.
 84. Tarlatzis BC, Bontis J, Kolibianakis EM, Sanopoulou T, Papadimas J, Lagos S, et al. Evaluation of intrauterine insemination with washed spermatozoa from the husband in the treatment of infertility. Hum Reprod. 1991;6(9):1241–6.
 85. Kupka MS, Ferraretti AP, de Mouzon J, Erb K, D’Hooghe T, Castilla JA, et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2010: Results generated from European registers by ESHRE. Hum Reprod. 2014;29(10):2099–113.
 86. Hughes E, Brown J, Collins JJ, Vanderkerchove P. Clomiphene citrate for unexplained

- subfertility in women. Cochrane database Syst Rev. 2010 Jan;2010(1):CD000057.
87. Kettel LM, Roseff SJ, Berga SL, Mortola JF, Yen SS. Hypothalamic-pituitary-ovarian response to clomiphene citrate in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 1993 Mar;59(3):532–8.
 88. Legro RS, Brzyski RG, Diamond MP, Coutifaris C, Schlaff WD, Casson P, et al. Letrozole versus Clomiphene for Infertility in the Polycystic Ovary Syndrome. *N Engl J Med*. 2014;371(2):119–29.
 89. Hancock KL, Pereira N, Christos PJ, Petrini AC, Hughes J, Chung PH, et al. Optimal lead follicle size for human chorionic gonadotropin trigger in clomiphene citrate and intrauterine insemination cycles: an analysis of 1,676 treatment cycles. *Fertil Steril*. 2021 Apr;115(4):984–90.
 90. Andersen AG, Als-Nielsen B, Hornnes PJ, Franch Andersen L. Time interval from human chorionic gonadotrophin (HCG) injection to follicular rupture. *Hum Reprod*. 1995 Dec;10(12):3202–5.
 91. Gysler M, March CM, Mishell DRJ, Bailey EJ. A decade's experience with an individualized clomiphene treatment regimen including its effect on the postcoital test. *Fertil Steril*. 1982 Feb;37(2):161–7.
 92. Mitwally MFM, Casper RF. Use of an aromatase inhibitor for induction of ovulation in patients with an inadequate response to clomiphene citrate. *Fertil Steril*. 2001;75(2):305–9.
 93. Ingerslev HJ, Højgaard A, Hindkjaer J, Kesmodel U. A randomized study comparing IVF in the unstimulated cycle with IVF following clomiphene citrate. *Hum Reprod*. 2001 Apr;16(4):696–702.

94. ACOG Practice Bulletin. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists number 34, February 2002. Management of infertility caused by ovulatory dysfunction. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol.* 2002 Feb;99(2):347–58.
95. Purvin VA. Visual disturbance secondary to clomiphene citrate. *Arch Ophthalmol* (Chicago, Ill 1960). 1995 Apr;113(4):482–4.
96. Naftolin F. Brain aromatization of androgens. *J Reprod Med.* 1994 Apr;39(4):257–61.
97. Naftolin F, MacLusky NJ, Leranth CZ, Sakamoto HS, Garcia-Segura LM. The cellular effects of estrogens on neuroendocrine tissues. *J Steroid Biochem.* 1988;30(1–6):195–207.
98. Palomba S, Oppedisano R, Tolino A, Orio F, Zullo F. Outlook: metformin use in infertile patients with polycystic ovary syndrome: an evidence-based overview. *Reprod Biomed Online.* 2008 Mar;16(3):327–35.
99. Ghomian N, Khosravi A, Mousavifar N. A Randomized Clinical Trial on Comparing The Cycle Characteristics of Two Different Initiation Days of Letrozole Treatment in Clomiphene Citrate Resistant PCOS Patients in IUI Cycles. *Int J Fertil Steril.* 2015;9(1):17–26.
100. Franik S, Eltrop SM, Kremer JA, Kiesel L, Farquhar C. Aromatase inhibitors (letrozole) for subfertile women with polycystic ovary syndrome. *Cochrane database Syst Rev.* 2018 May;5(5):CD010287.
101. Jones HWJ. The use of controlled ovarian hyperstimulation (COH) in clinical in vitro fertilization: the role of Georgeanna Seegar Jones. *Fertil Steril.* 2008 Nov;90(5):e1-3.
102. La Marca A, Sunkara SK. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF

- using ovarian reserve markers: from theory to practice. *Hum Reprod Update*. 2014;20(1):124–40.
103. Van Voorhis BJ, Thomas M, Surrey ES, Sparks A. What do consistently high-performing in vitro fertilization programs in the U.S. do? *Fertil Steril*. 2010 Sep;94(4):1346–9.
104. Pelinck MJ, Hoek A, Simons AHM, Heineman MJ. Efficacy of natural cycle IVF: a review of the literature. *Hum Reprod Update*. 2002;8(2):129–39.
105. Pelinck MJ, Vogel NEA, Arts EGJM, Simons AHM, Heineman MJ, Hoek A. Cumulative pregnancy rates after a maximum of nine cycles of modified natural cycle IVF and analysis of patient drop-out: a cohort study. *Hum Reprod*. 2007 Sep;22(9):2463–70.
106. Dor J, Ben-Shlomo I, Levran D, Rudak E, Yunish M, Mashiach S. The relative success of gonadotropin-releasing hormone analogue, clomiphene citrate, and gonadotropin in 1,099 cycles of in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1992 Nov;58(5):986–90.
107. Diamond MP, Hill GA, Webster BW, Herbert CM, Rogers BJ, Osteen KG, et al. Comparison of human menopausal gonadotropin, clomiphene citrate, and combined human menopausal gonadotropin-clomiphene citrate stimulation protocols for in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1986 Dec;46(6):1108–12.
108. Mitwally MFM, Casper RF. Aromatase inhibition reduces gonadotrophin dose required for controlled ovarian stimulation in women with unexplained infertility. *Hum Reprod*. 2003 Aug;18(8):1588–97.
109. Jee BC, Ku SY, Suh CS, Kim KC, Lee WD, Kim SH. Use of letrozole versus clomiphene citrate combined with gonadotropins in intrauterine insemination cycles: a

- pilot study. *Fertil Steril*. 2006;85(6):1774–7.
110. Olivennes F, Cunha-Filho JS, Fanchin R, Bouchard P, Frydman R. The use of GnRH antagonists in ovarian hyperstimulation *Hum Reprod Update* 2002; 8(3): 279-90.
 111. Badawy A, Elnashar A, Totongy M. Clomiphene citrate or aromatase inhibitors combined with gonadotropins for superovulation in women undergoing intrauterine insemination: A prospective randomised trial. *J Obstet Gynaecol (Lahore)*. 2010;30(6):617–21.
 112. Jovanovic VP, Kort DH, Guarnaccia MM, Sauer M V, Lobo RA. Does the addition of clomiphene citrate or letrozole to gonadotropin treatment enhance the oocyte yield in poor responders undergoing IVF? *J Assist Reprod Genet*. 2011 Nov;28(11):1067–72.
 113. Daya S. WITHDRAWN: Follicle-stimulating hormone and human menopausal gonadotropin for ovarian stimulation in assisted reproduction cycles. *Cochrane database Syst Rev*. 1996 Apr;(1):CD000061.
 114. Bassil S. Changes in endometrial thickness, width, length and pattern in predicting pregnancy outcome during ovarian stimulation in in vitro fertilization. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2001 Sep;18(3):258–63.
 115. Check JH, Nowroozi K, Choe J, Lurie D, Dietterich C. The effect of endometrial thickness and echo pattern on in vitro fertilization outcome in donor oocyte-embryo transfer cycle. *Fertil Steril*. 1993 Jan;59(1):72–5.
 116. Ludwig M, Doody KJ, Doody KM. Use of recombinant human chorionic gonadotropin in ovulation induction. *Fertil Steril*. 2003;79(5):1051–9.
 117. Blockeel C, Baumgarten M, De Vos M, Verheyen G, Devroey P. Administration of GnRH antagonists in case of elevated progesterone at initiation of the cycle: a

- prospective cohort study. *Curr Pharm Biotechnol*. 2011 Mar;12(3):423–8.
118. Surrey ES, Bower J, Hill DM, Ramsey J, Surrey MW. Clinical and endocrine effects of a microdose GnRH agonist flare regimen administered to poor responders who are undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1998 Mar;69(3):419–24.
 119. Ludwig M, Katalinic A, Diedrich K. Use of GnRH antagonists in ovarian stimulation for assisted reproductive technologies compared to the long protocol. Meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2001 Nov;265(4):175–82.
 120. Reissmann T, Schally A V, Bouchard P, Riethmiiller H, Engel J. The LHRH antagonist cetrorelix: a review. *Hum Reprod Update*. 2000;6(4):322–31.
 121. Ron-El R, Raziel A, Schachter M, Strassburger D, Kasterstein E, Friedler S. Induction of ovulation after GnRH antagonists-Hum Reprod Update 2000; 6(4): 318-21.
 122. Olivennes F, Alvarez S, Bouchard P, Fanchin R, Salat-Baroux J, Frydman R. The use of a GnRH antagonist (Cetrorelix) in a single dose protocol in IVF-embryo transfer: a dose finding study of 3 versus 2 mg. *Hum Reprod*. 1998 Sep;13(9):2411–4.
 123. Youssef MAFM, Van der Veen F, Al-Inany HG, Mochtar MH, Griesinger G, Nagi Mohesen M, et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist versus HCG for oocyte triggering in antagonist-assisted reproductive technology. *Cochrane database Syst Rev*. 2014 Oct;(10):CD008046.
 124. Dellenbach P. Ovum Pickup (OPU). *A Textb Clin Embryol*. 2021;(May):89–94.
 125. Khalaf Y, Braude P. “Curing” empty follicle syndrome. Vol. 12, *Human reproduction* (Oxford, England). England; 1997. p. 1601.
 126. Quintans CJ, Donaldson MJ, Blanco LA, Pasqualini RS. Empty follicle syndrome due to human errors: its occurrence in an in-vitro fertilization programme. *Hum Reprod*.

1998 Oct;13(10):2703–5.

127. Hammadeh ME, Wilhelm W, Huppert A, Rosenbaum P, Schmidt W. Effects of general anaesthesia vs. sedation on fertilization, cleavage and pregnancy rates in an IVF program. *Arch Gynecol Obstet*. 1999;263(1–2):56–9.
128. Nargund G, Parsons J. Infected endometriotic cysts secondary to oocyte aspiration for in-vitro fertilization. *Hum Reprod*. 1995;10(6):1555.
129. Esteves SC, Roque M, Bedoschi G, Haahr T, Humaidan P. Intracytoplasmic sperm injection for male infertility and consequences for offspring. *Nat Rev Urol*. 2018 Sep;15(9):535–62.
130. Girsh, E. AĬ. Embryo Transfer. *A Textb Clin Embryol*. 2021;126–43.
131. Schoolcraft WB, Surrey ES, Gardner DK. Embryo transfer: Techniques and variables affecting success. *Fertil Steril*. 2001;76(5):863–70.
132. Nazari A, Askari HA, Check JH, O’Shaughnessy A. Embryo transfer technique as a cause of ectopic pregnancy in in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1993 Nov;60(5):919–21.
133. Bennett S, Waterstone J, Parsons J, Creighton S. Two cases of cervical pregnancy following in vitro fertilization and embryo transfer to the lower uterine cavity. *J Assist Reprod Genet*. 1993 Jan;10(1):100–3.
134. Rienzi L, Gracia C, Maggiulli R, LaBarbera AR, Kaser DJ, Ubaldi FM, et al. Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Hum Reprod Update*. 2017 Mar;23(2):139–55.
135. Pritts EA, Atwood AK. Luteal phase support in infertility treatment: a meta-analysis of

- the randomized trials. Vol. 17, Human Reproduction. 2002.
136. Beckers NGM, Macklon NS, Eijkemans MJ, Ludwig M, Felberbaum RE, Diedrich K, et al. Nonsupplemented luteal phase characteristics after the administration of recombinant human chorionic gonadotropin, recombinant luteinizing hormone, or gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist to induce final oocyte maturation in in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Sep;88(9):4186–92.
 137. Aboulghar MA, Amin YM, Al-Inany HG, Aboulghar MM, Mourad LM, Serour GI, et al. Prospective randomized study comparing luteal phase support for ICSI patients up to the first ultrasound compared with an additional three weeks. *Hum Reprod.* 2008;23(4):857–62.
 138. A Nyboe Andersen, B Popovic-Todorovic, K T Schmidt, A Loft, A Lindhard, S Ziebe, F Hald, B Hauge BT. Progesterone supplementation during early gestations after IVF or ICSI has no effect on the delivery rates: a randomized controlled trial. *Hum Reprod.* 2002;17(2):357–61.
 139. Daya S, Gunby J. Luteal phase support in assisted reproduction cycles. *Cochrane database Syst Rev.* 2004;(3):CD004830.
 140. Devine K, Richter KS, Jahandideh S, Widra EA, McKeeby JL. Intramuscular progesterone optimizes live birth from programmed frozen embryo transfer: a randomized clinical trial. *Fertil Steril.* 2021 Sep;116(3):633–43.
 141. Tournaye H, Sukhikh GT, Kahler E, Griesinger G. A Phase III randomized controlled trial comparing the efficacy, safety and tolerability of oral dydrogesterone versus micronized vaginal progesterone for luteal support in in vitro fertilization. *Hum Reprod.* 2017 May;32(5):1019–27.

142. Humaidan P. Luteal phase rescue in high-risk OHSS patients by GnRHa triggering in combination with low-dose HCG: a pilot study. *Reprod Biomed Online*. 2009 May;18(5):630–4.
143. Rosen GF, Silva PD, Patrizio P, Asch RH, Yee B. Predicting pregnancy outcome by the observation of a gestational sac or of early fetal cardiac motion with transvaginal ultrasonography. *Fertil Steril*. 1990 Aug;54(2):260–4.
144. Hasan R, Baird DD, Herring AH, Olshan AF, Jonsson Funk ML, Hartmann KE. Patterns and Predictors of Vaginal Bleeding in the First Trimester of Pregnancy. *Ann Epidemiol*. 2010;20(7):524–31.
145. Doubilet PM, Benson CB, Bourne T, Blaivas M. Diagnostic Criteria for Nonviable Pregnancy Early in the First Trimester. *N Engl J Med*. 2013;369(15):1443–51.
146. Magnus MC, Wilcox AJ, Morken NH, Weinberg CR, Håberg SE. Role of maternal age and pregnancy history in risk of miscarriage: Prospective register based study. *BMJ*. 2019;364:1–8.
147. Andersen AN, Wohlfahrt J, Christens P, Olsen J, Melbye M, Nybo A. Maternal age and fetal loss: population based register linkage study. *Bmj*. 2000;320(June):1708–12.
148. Woolner AMF, Raja EA, Bhattacharya S, Danielian P, Bhattacharya S. Inherited susceptibility to miscarriage: a nested case-control study of 31,565 women from an intergenerational cohort. *Am J Obstet Gynecol*. 2020 Feb;222(2):168.e1-168.e8.
149. Giakoumelou S, Wheelhouse N, Cuschieri K, Entrican G, Howie SEM, Horne AW. The role of infection in miscarriage. *Hum Reprod Update*. 2016;22(1):116–33.
150. Gomez GB, Kamb ML, Newman LM, Mark J, Broutet N, Hawkes SJ. Untreated maternal syphilis and adverse outcomes of pregnancy: a systematic review and meta-

- analysis. *Bull World Health Organ*. 2013;91(3):217–26.
151. Xiong Y-Q, Tan J, Liu Y-M, He Q, Li L, Zou K, et al. The risk of maternal parvovirus B19 infection during pregnancy on fetal loss and fetal hydrops: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. 2019 May;114:12–20.
 152. Rasti S, Ghasemi FS, Abdoli A, Piroozmand A, Mousavi SGA, Fakhrie-Kashan Z. ToRCH “co-infections” are associated with increased risk of abortion in pregnant women. *Congenit Anom (Kyoto)*. 2016;56(2):73–8.
 153. Hoen B, Schaub B, Funk AL, Ardillon V, Boullard M, Cabié A, et al. Pregnancy Outcomes after ZIKV Infection in French Territories in the Americas. *N Engl J Med*. 2018;378(11):985–94.
 154. Liu B, Song L, Li H, Zheng X, Yuan J, Liang Y, et al. History of spontaneous miscarriage and the risk of diabetes mellitus among middle-aged and older Chinese women. *Acta Diabetol*. 2018 Jun;55(6):579–84.
 155. Metwally M, Ong KJ, Ledger WL, Li TC. Does high body mass index increase the risk of miscarriage after spontaneous and assisted conception? A meta-analysis of the evidence. *Fertil Steril*. 2008;90(3):714–26.
 156. Maraka S, Ospina NMS, O’Keeffe DT, Espinosa De Ycaza AE, Gionfriddo MR, Erwin PJ, et al. Subclinical Hypothyroidism in Pregnancy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Thyroid*. 2016;26(4):580–90.
 157. Sundermann AC, Zhao S, Young CL, Lam LA, Jones SH, Velez Edwards DR, et al. Alcohol Use in Pregnancy and Miscarriage: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Alcohol Clin Exp Res*. 2019;43(8):1606–16.

158. Won S, Han J, Cho H, Kwak H. Smoking exposure in early pregnancy and adverse pregnancy outcomes: Usefulness of urinary tobacco-specific nitrosamine metabolite 4-(Methylnitrosamino)-1-(3-Pyridyl)-1-Butanol Levels. *Gynecol Obstet Invest*. 2018;83(5):520.
159. Taylor H, Pal L SE. Speroff. *Klinik Jinekolojik Endokrinoloji ve İnfertilite*. Güneş Tıp Kitabevleri. 2020. p. 1260–4.
160. Bouyer J, Coste J, Fernandez H, Pouly JL, Job-Spira N. Sites of ectopic pregnancy: a 10 year population-based study of 1800 cases. *Hum Reprod*. 2002 Dec;17(12):3224–30.
161. Attar E. Endocrinology of ectopic pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2004 Dec;31(4):779–94, x.
162. de Roux N, Genin E, Carel J-C, Matsuda F, Chaussain J-L, Milgrom E. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Sep;100(19):10972–6.
163. Gene M, Lee J, Miele ME, Hicks DJ, Karen K, Trent J, et al. KiSS-1 , a Novel Human Malignant Melanoma. *J Natl Cancer Inst*. 1996;88(23):1731–7.
164. Lee DK, Nguyen T, Neill GPO, Cheng R, Liu Y, Howard AD, et al. Discovery of a receptor related to the galanin receptors. *FEBS Lett*. 1999;446:103–7.
165. Ohtaki T, Shintani Y, Honda S. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature*. 2001;613–7.
166. Kotani M, Detheux M, Vandenbogaerde A, Communi D, Vanderwinden JM, Le Poul E, et al. The Metastasis Suppressor Gene KiSS-1 Encodes Kisspeptins, the Natural Ligands of the Orphan G Protein-coupled Receptor GPR54. *J Biol Chem*.

2001;276(37):34631–6.

167. Rometo AM, Krajewski SJ, Voytko M Lou, Rance NE. Hypertrophy and increased kisspeptin gene expression in the hypothalamic infundibular nucleus of postmenopausal women and ovariectomized monkeys. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(7):2744–50.
168. Hrabovszky E, Ciofi P, Vida B, Horvath MC, Keller E, Caraty A, et al. The kisspeptin system of the human hypothalamus: Sexual dimorphism and relationship with gonadotropin-releasing hormone and neurokinin B neurons. *Eur J Neurosci.* 2010;31(11):1984–98.
169. Clarkson J, Herbison AE. Postnatal development of kisspeptin neurons in mouse hypothalamus; sexual dimorphism and projections to gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology.* 2006;147(12):5817–25.
170. Ramaswamy S, Guerriero KA, Gibbs RB, Plant TM. Structural interactions between kisspeptin and GnRH neurons in the mediobasal hypothalamus of the male rhesus monkey (*Macaca mulatta*) as revealed by double immunofluorescence and confocal microscopy. *Endocrinology.* 2008;149(9):4387–95.
171. Smith JT, Coolen LM, Kriegsfeld LJ, Sari IP, Jaafarzadehshirazi MR, Maltby M, et al. Variation in kisspeptin and RFamide-related peptide (RFRP) expression and terminal connections to gonadotropin-releasing hormone neurons in the brain: A novel medium for seasonal breeding in the sheep. *Endocrinology.* 2008;149(11):5770–82.
172. Hrabovszky E. Neuroanatomy of the human hypothalamic kisspeptin system. *Neuroendocrinology.* 2014;99(1):33–48.
173. Leonardi CEP, Dias FCF, Adams GP, Araujo ER, Singh J. Kisspeptin induces

- ovulation in heifers under low plasma progesterone concentrations. *Theriogenology*. 2020 Jan;141:26–34.
174. Han SK, Gottsch ML, Lee KJ, Popa SM, Smith JT, Jakawich SK, et al. Activation of gonadotropin-releasing hormone neurons by kisspeptin as a neuroendocrine switch for the onset of puberty. *J Neurosci*. 2005;25(49):11349–56.
 175. Clarke H, Dhillon WS, Jayasena CN. Comprehensive Review on Kisspeptin and Its Role in Reproductive Disorders. *Endocrinol Metab (Seoul, Korea)*. 2015 Jun;30(2):124–41.
 176. Topaloglu AK, Tello JA, Kotan LD, Ozbek MN, Yilmaz MB, Erdogan S, et al. Inactivating KISS1 mutation and hypogonadotropic hypogonadism. *N Engl J Med*. 2012 Feb;366(7):629–35.
 177. Rometo AM, Rance NE. Changes in prodynorphin gene expression and neuronal morphology in the hypothalamus of postmenopausal women. *J Neuroendocrinol*. 2008;20(12):1376–81.
 178. Roseweir AK, Kauffman AS, Smith JT, Guerriero KA, Morgan K, Pielecka-Fortuna J, et al. Discovery of Potent Kisspeptin Antagonists Delineate Physiological Mechanisms of Gonadotropin Regulation. 2009;
 179. Krajewski SJ, Anderson MJ, Iles-Shih L, Chen KJ, Urbanski HF, Rance NE. Morphologic evidence that neurokinin B modulates gonadotropin-releasing hormone secretion via neurokinin 3 receptors in the rat median eminence. *J Comp Neurol*. 2005;489(3):372–86.
 180. Zhai J, Ding L, Zhao S, Li W, Sun Y, Su S, et al. Kisspeptin: a new marker for human pre-ovulation. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol*. 2017 Jul;33(7):560–3.

181. Smith JT, Popa SM, Clifton DK, Hoffman GE, Steiner RA. Kiss1 neurons in the forebrain as central processors for generating the preovulatory luteinizing hormone surge. *J Neurosci.* 2006;26(25):6687–94.
182. Herbison AE, De Tassigny XDA, Doran J, Colledge WH. Distribution and postnatal development of Gpr54 gene expression in mouse brain and gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology.* 2010;151(1):312–21.
183. Dhillon WS, Chaudhri OB, Thompson EL, Murphy KG, Patterson M, Ramachandran R, et al. Kisspeptin-54 stimulates gonadotropin release most potently during the preovulatory phase of the menstrual cycle in women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Oct;92(10):3958–66.
184. Meczekalski B, Katulski K, Podfigurna-Stopa A, Czyzyk A, Genazzani AD. Spontaneous endogenous pulsatile release of kisspeptin is temporally coupled with luteinizing hormone in healthy women. *Fertil Steril.* 2016;105(5):1345-1350.e2.
185. Kinoshita M, Tsukamura H, Adachi S, Matsui H, Uenoyama Y, Iwata K, et al. Involvement of central metastin in the regulation of preovulatory luteinizing hormone surge and estrous cyclicity in female rats. *Endocrinology.* 2005;146(10):4431–6.
186. Cao Y, Li Z, Jiang W, Ling Y, Kuang H. Reproductive functions of Kisspeptin/KISS1R Systems in the Periphery. *Reprod Biol Endocrinol.* 2019 Aug;17(1):65.
187. Baba T, Kang HS, Hosoe Y, Kharma B, Abiko K, Matsumura N, et al. Menstrual cyclic change of metastin/GPR54 in endometrium. *Med Mol Morphol.* 2015;48(2):76–84.
188. Hu K-L, Chang H-M, Zhao H-C, Yu Y, Li R, Qiao J. Potential roles for the

- kisspeptin/kisspeptin receptor system in implantation and placentation. *Hum Reprod Update*. 2019 May;25(3):326–43.
189. Zhang P, Tang M, Zhong T, Lin Y, Zong T, Zhong C, et al. Expression and function of kisspeptin during mouse decidualization. *PLoS One*. 2014;9(5):1–8.
 190. Janneau JL, Maldonado-Estrada J, Tachdjian G, Miran I, Motté N, Saulnier P, et al. Transcriptional expression of genes involved in cell invasion and migration by normal and tumoral trophoblast cells. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(11):5336–9.
 191. Francis VA, Abera AB, Matjila M, Millar RP, Katz AA. Kisspeptin Regulation of Genes Involved in Cell Invasion and Angiogenesis in First Trimester Human Trophoblast Cells. *PLoS One* [Internet]. 2014;9(6):99680. Available from: www.plosone.org
 192. Radovick S, Babwah A V. Regulation of Pregnancy: Evidence for Major Roles by the Uterine and Placental Kisspeptin/KISS1R Signaling Systems. *Semin Reprod Med*. 2019 Jul;37(4):182–90.
 193. Jayasena CN, Abbara A, Comninou AN, Nijher GMK, Christopoulos G, Narayanaswamy S, et al. Kisspeptin-54 triggers egg maturation in women undergoing in vitro fertilization. *J Clin Invest*. 2014;124(8):3667–77.
 194. Ćetković A, Miljic D, Ljubić A, Patterson M, Ghatei M, Stamenković J, et al. Plasma kisspeptin levels in pregnancies with diabetes and hypertensive disease as a potential marker of placental dysfunction and adverse perinatal outcome. *Endocr Res*. 2012;37(2):78–88.
 195. Qiao C, Wang C, Zhao J, Liu C, Shang T. Elevated Expression of KISS-1 in Placenta of Chinese Women with Early-Onset Preeclampsia. *PLoS One*. 2012;7(11):1–9.

196. Romero-Ruiz A, Avendaño MS, Dominguez F, Lozoya T, Molina-Abril H, Sangiao-Alvarellos S, et al. Deregulation of miR-324/KISS1/kisspeptin in early ectopic pregnancy: mechanistic findings with clinical and diagnostic implications. *Am J Obstet Gynecol*. 2019 May;220(5):480.e1-480.e17.
197. Sullivan-Pyke C, Haisenleder DJ, Senapati S, Nicolais O, Eisenberg E, Sammel MD, et al. Kisspeptin as a new serum biomarker to discriminate miscarriage from viable intrauterine pregnancy. *Fertil Steril*. 2018 Jan;109(1):137-141.e2.
198. Jayasena CN, Abbara A, Izzi-Engbeaya C, Comninou AN, Harvey RA, Gonzalez Maffe J, et al. Reduced levels of plasma kisspeptin during the antenatal booking visit are associated with increased risk of miscarriage. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(12):E2652–60.
199. Wu S, Zhang H, Tian J, Liu L, Dong Y, Mao T. Expression of kisspeptin/GPR54 and PIBF/PR in the first trimester trophoblast and decidua of women with recurrent spontaneous abortion. *Pathol Res Pract*. 2014 Jan;210(1):47–54.
200. Abbara A, Clarke SA, Dhillon WS. Novel concepts for inducing final oocyte maturation in in vitro fertilization treatment. *Endocr Rev*. 2018;39(5):593–628.
201. Zhai J, Liu J, Zhao S, Zhao H, Chen ZJ, Du Y, et al. Kisspeptin-10 inhibits OHSS by suppressing VEGF secretion. *Reproduction*. 2017;154(4):335–62.
202. Taylor H, Pal L SE. Speroff. *Klinik Jinekolojik Endokrinoloji ve İnfertilite*. Güneş Tıp Kitabevleri. 2020. p. 1175.
203. Ilekis J V, Tsilou E, Fisher S, Abrahams VM, Soares MJ, Cross JC, et al. Placental origins of adverse pregnancy outcomes: potential molecular targets: an Executive Workshop Summary of the Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health

- and Human Development. Vol. 215, American journal of obstetrics and gynecology. 2016. p. S1–46.
204. Christiansen OB, Steffensen R, Nielsen HS, Varming K. Multifactorial etiology of recurrent miscarriage and its scientific and clinical implications. *Gynecol Obstet Invest.* 2008;66(4):257–67.
 205. Memtsa M, Jurkovic D, Jauniaux E. Diagnostic Biomarkers for Predicting Adverse Early Pregnancy Outcomes: Scientific Impact Paper No. 58. *BJOG.* 2019 Feb;126(3):e107–13.
 206. Bilban M, Ghaffari-Tabrizi N, Hintermann E, Bauer S, Molzer S, Zoratti C, et al. Kisspeptin-10, a KiSS-1/metastatin-derived decapeptide, is a physiological invasion inhibitor of primary human trophoblasts. *J Cell Sci.* 2004 Mar;117(Pt 8):1319–28.
 207. Li L, Tian J, Zhou L, Wu S, Zhang S, Qi L, et al. Role of kisspeptin/GPR54 in the first trimester trophoblast of women with a history of recurrent spontaneous abortion. *Int J Clin Exp Pathol.* 2017;10(8):8161–73.
 208. Colak E, Ozcimen EE, Erinanç OH, Tohma YA, Ceran MU. Is placental KISS-1 expression associated with first trimester abortion spontaneous? *Obstet Gynecol Sci.* 2020 Jul;63(4):490–6.
 209. Mumtaz A, Khalid A, Jamil Z, Fatima SS, Arif S, Rehman R. Kisspeptin: A potential factor for unexplained infertility and impaired embryo implantation. *Int J Fertil Steril.* 2017;11(2):99–104.
 210. Jamil Z, Fatima SS, Arif S, Alam F, Rehman R. Kisspeptin and embryo implantation after ICSI. *Reprod Biomed Online.* 2017 Feb;34(2):147–53.
 211. Gorbunova OL, Shirshov S V. Molecular mechanisms of the regulation by kisspeptin

- of the formation and functional activity of Treg and Th17. *Biochem Suppl Ser A Membr Cell Biol* [Internet]. 2016;10(3):180–7.
212. Williams Z. Inducing tolerance to pregnancy. *N Engl J Med*. 2012 Sep;367(12):1159–61.
 213. Abbara A, Al-Memar M, Phylactou M, Kyriacou C, Eng PC, Nadir R, et al. Performance of plasma kisspeptin as a biomarker for miscarriage improves with gestational age during the first trimester. *Fertil Steril*. 2021 Sep;116(3):809–19.
 214. Jauniaux E, Poston L, Burton GJ. Placental-related diseases of pregnancy: Involvement of oxidative stress and implications in human evolution. *Hum Reprod Update*. 2006;12(6):747–55.
 215. Brosens JJ, Pijnenborg R, Brosens IA. The myometrial junctional zone spiral arteries in normal and abnormal pregnancies: a review of the literature. *Am J Obstet Gynecol*. 2002 Nov;187(5):1416–23.
 216. Ramaesh T, Logie JJ, Roseweir AK, Millar RP, Walker BR, Hadoke PWF, et al. Kisspeptin-10 inhibits angiogenesis in human placental vessels ex vivo and endothelial cells in vitro. *Endocrinology*. 2010 Dec;151(12):5927–34.
 217. Herreboudt AM, Kyle VRL, Lawrence J, Doran J, Colledge WH. Kiss1 mutant placentas show normal structure and function in the mouse. *Placenta*. 2015 Jan;36(1):52–8.
 218. Pallais JC, Bo-Abbas Y, Pitteloud N, Crowley WFJ, Seminara SB. Neuroendocrine, gonadal, placental, and obstetric phenotypes in patients with IHH and mutations in the G-protein coupled receptor, GPR54. *Mol Cell Endocrinol*. 2006 Jul;254–255:70–7.
 219. Coomarasamy A, Devall AJ, Cheed V, Harb H, Middleton LJ, Gallos ID, et al. A

- Randomized Trial of Progesterone in Women with Bleeding in Early Pregnancy. *N Engl J Med*. 2019 May;380(19):1815–24.
220. Jurkovic D, Overton C, Bender-Atik R. Diagnosis and management of first trimester miscarriage. *BMJ*. 2013 Jun;346:f3676.
221. Kavvasoglu S, Ozkan ZS, Kumbak B, Sımsek M, Ilhan N. Association of kisspeptin-10 levels with abortus imminens: a preliminary study. *Arch Gynecol Obstet*. 2012 Mar;285(3):649–53.
222. Hu K-L, Zhang Y, Yang Z, Zhao H, Xu H, Yu Y, et al. Predictive value of serum kisspeptin concentration at 14 and 21 days after frozen-thawed embryo transfer. *Reprod Biomed Online*. 2019 Jul;39(1):161–7.