



1993

**T.C. BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

**YARDIMLI ÜREME TEKNİKLERİ UYGULAMALARINDA
SERVİKO-VAJİNAL LAVAJ VE SERUMDAN
İMLANTASYON BELİRTECİ OLARAK GLİKODELİN VE
MAKROFAJ-KOLONİ STİMÜLAN FAKTÖR BAKILMASININ
KLİNİK VE PROGNOSTİK ÖNEMİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Serdar KAYA

**ANKARA
2009**



1993

**T.C. BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

**YARDIMLI ÜREME TEKNİKLERİ UYGULAMALARINDA
SERVİKO-VAJİNAL LAVAJ VE SERUMDAN
İMLANTASYON BELİRTECİ OLARAK GLİKODELİN VE
MAKROFAJ-KOLONİ STİMÜLAN FAKTÖR BAKILMASININ
KLİNİK VE PROGNOSTİK ÖNEMİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Serdar KAYA

TEZ DANIŐMANI

Prof. Dr. Hulusi Bülent ZEYNELOĞLU

ANKARA

2009

Bu tez Başkent Üniversitesi araştırma fonu tarafından desteklenmiştir

Proje No: KA08/252

TEŞEKKÜR

Kadın Hastalıkları ve Doğum uzmanlık tezimi sunarken, uzmanlık eğitimimde önemli yeri olan ve tezimin hazırlanmasında bana yol gösteren, sonsuz desteği olan, tez danışmanım Prof. Dr. Hulusi Bülent Zeyneloğlu'na, uzmanlık eğitimim boyunca yetişmemde emekleri olan başta Prof. Dr. Ali Ayhan'a ve Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Esra Kuşku'ya olmak üzere, Prof. Dr. Filiz Yanık'a, eğitimimdeki emeğinin yanı sıra tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Tayfun Bağış'a ve Doç. Dr. Esra Bulgan Kılıçdağ'a, obstetrisinin ve ultrasonun inceliklerini öğretmek için sabırla ve çok büyük yardımları olan Doç. Dr. Ebru Tarım'a, Yrd. Doç. Dr. Barış Mülayim'e, Doç. Dr. Serkan Erkanlı'ya, tezimde ve eğitimimde hep yol gösterici olan Yrd. Doç. Dr. Bülent Haydardedeoğlu'na ve Uzm. Dr. Servet Hacıvelioğlu'na, Yrd. Doç. Dr. Göğşen Önalın'a, Doç. Dr. Cem Baykal'a, Doç. Dr. Derya Eroğlu'na, Yrd. Doç. Dr. Erhan Şimşek'e, Uzm. Dr. Ayşe Parlakgümüş'e, Uzm. Dr. Ayla Üçkuyu'ya, Uzm. Dr. Vural Dağlı'ya, Uzm. Dr. Polat Dursun'a, Uzm. Dr. Tayfun Çok'a, Uzm. Dr. Nilüfer Yiğit Çelik'e, Yrd. Doç. Dr. Emel Özçimen'e ve Başhekimimiz Prof. Dr. Ali Haberal'a, ayrıca tüm eğitimim boyunca olmasa da beraber çalışma imkanı bulduğum süre içinde yetişmemde büyük emekleri olan Doç. Dr. Mesut Öktem'e, Uzm. Dr. İbrahim Esinler'e, Uzm. Dr. İlker Kayhan'a, Uzm. Dr. Işık Üstüner'e, Uzm. Dr. Ümran Küçükgöz'e, Uzm. Dr. Petek Arıoğlu'na, Yrd. Doç. Dr. Erdoğan Arslan'a, Yrd. Doç. Dr. Osman Balcı'ya, Uzm. Dr. Hakan Gürakan'a, Uzm. Dr. Özlem Nisanoğlu'na ve tezimin oluşturulmasındaki büyük yardımlarından ötürü Ankara ve Adana Başkent Hastanesi Tüp Bebek Ünitelerinin tüm çalışanlarına, Biyokimya Ana Bilim Dalı'ndan Uzm. Dr. Nilüfer Bayraktar'a, İstatistik Bölümü'nden Yrd. Doç. Dr. İlknur Özmen ve Yrd. Doç. Dr. Güvenç Arslan'a, asistan arkadaşlarıma, diğer klinik çalışanlarımıza, tezimde gönüllü olan hastalarımıza, hayatımdaki en özel, en büyük destekçim, hayat arkadaşım sevgili eşim Necibe'ye ve bana her zaman destek olan ve beni yetiştiren canım anneme, babama ve sevgili kardeşim Seda'ya da sonsuz TEŞEKKÜR ederim.

Dr. Serdar KAYA

ÖZET

İmplantasyon, endometrium ile embriyo arasında büyüme faktörleri, hormonlar, adezyon molekülleri, ekstraselüler matriks ve prostoglandinler ile oluşan karmaşık bir diyalog çerçevesinde; embriyonun desiduaya yapışması, bazal membrana doğru inmesi ve stromaya invaze olmasıdır. Günümüz Yardımlı Üreme Teknikleri (YÜT)'ndeki en yüz güldürücü nokta olan İntrasitoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI) uygulamalarında dahi ortalama 15 oosite ve %90'luk fertilizasyon oranlarına ulaşılabilmesine rağmen; ortalama canlı doğum oranı %45'i geçememektedir. Bu noktada implantasyon başarısızlıkları ve endometrial reseptivite YÜT'nin en önemli hız kısıtlayıcı basamaklarından birini oluşturmaktadır.

Glikodelin ve Makrofaj-Koloni Stimulan Faktör (M-CSF) implantasyon penceresine uygun dönemde serumdan, endometrium dokusundan ve serviko-vajinal sıvılardan eksprese olmaktadır ve endometrial reseptiviteyi belirlemede önemli belirteçlerdir. Bizim bu çalışmadaki amacımız öncelikle ICSI planlanan hastaların embriyo transfer (ET) günü serum ve serviko-vajinal lavaj örneklerinden Glikodelin ve M-CSF düzeyleri bakılması ile elde edilecek gebelik oranları ilişkisinin gösterilmesidir.

Çalışmamıza Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Ankara ve Adana Tüp Bebek Merkez'lerimize başvuran ve ICSI yapılmasını planladığımız 85 hasta dahil edilmiş; 39 yaş üzeri, kötü yanıt veren, donma-çözme siklusu olan veya zorunlu tek embriyo transferi yapılan hastalar ise hariç tutulmuştur. Örnekler embriyo transfer gününde, hem serumdan; hem de serviko-vajinal lavaj sıvılarından alınıp Biyokimya laboratuvarımızda ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile çalışılmıştır. Serviko-vajinal lavaj sıvılarından bakılan Glikodelin ile M-CSF düzeyleri ve serumdan bakılan M-CSF düzeyleriyle elde edilen gebelik oranları ilişkisi istatistiksel olarak incelenerek klinik prospektif bir araştırma yapılmıştır.

Embriyo transfer günü serviko-vajinal lavajdan (lavaj) bakılan Glikodelin, M-CSF ve serumdan bakılan M-CSF düzeyleri, serum β hCG pozitif olan hastalar ile negatif olanlarda bakıldığında aradaki farklar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır (sırasıyla P: 0,143; P: 0,748; P: 0,115). Ancak sonraki kontrollerde ultrasonda gebelik kesesi saptanan hastaların (n: 37) embriyo transfer günü lavaj Glikodelin düzeyleri ortalama $94,78 \pm 170,95$ ng/ml; ve gebelik kesesi olmayan hastalarda ise (n: 48) ortalama $139,42 \pm 208,23$ ng/ml olup; aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (P: 0,049). Üstelik bir sonraki ultrason kontrollerinde fetal kalp atımı (FKA) izlenen hastalarda (n: 35) embriyo transfer günü lavaj

Glikodelin düzeyleri ortalama $70,95 \pm 143,03$ ng/ml; ve FKA izlenmeyen hastalarda (n: 50) ortalama $153,84 \pm 216,07$ ng/ml olup; ve aradaki fark istatistiksel olarak daha da anlamlı bulunmuştur (P: 0,009). Embriyo transfer günü lavaj Glikodelin düzeyleri ROC eğrisi ile incelendiğinde 4,1 ng/ml'nin altında olan hastalarda; %52,78 duyarlılık, %75 seçicilikte gebelik kesesi var (P: 0,0389) ve %55,9 duyarlılık, %76 seçicilikte de FKA var (P: 0,0039) şeklinde anlam izlenmiştir. Açıklanamayan infertilitesi olan hastaların embriyo transferi günü lavaj Glikodelin değerleri, serum β -hCG'si, ultrasonda gebelik kesesi ve FKA'sı pozitif olanlarda; negatif olanlara göre anlamlı ölçüde (sırasıyla P: 0,016, P: 0,001 ve P: 0,000) daha düşük bulunmuştur. Embriyo transferi günü oosit toplanması (OPU) sonrası 3. gün olan hastaların da lavaj Glikodelin değerleri, ultrasonda gebelik kesesi ve FKA'sı pozitif olanlarda; negatif olanlara göre anlamlı ölçüde (sırasıyla P: 0,049 ve P: 0,020) daha düşük bulunmuştur. Gebelik kesesi tek olan 19 hastadan 2'si (%10,5) aborte ederken; ikiz olan 16 hastada gebelik kaybı yaşanmadı ancak ikizlerden 2'sinin de (%12,5) gebeliği, tek'e düşerek devam etti. Ultrasonda FKA'sı 2 tane olan hastaların (n: 14, ortalama $163,74 \pm 189,90$ ng/ml) ise ET günü bakılan lavaj Glikodelin konsantrasyonları FKA'sı tek olanlara (n: 19, ortalama $5,19 \pm 8,05$ ng/ml) göre anlamlı derecede (P: 0,042) daha yüksek bulunmuştur.

Glikodelin bir implantasyon belirteci olarak çok umut vericidir. Siklus periyoduna göre midsiklus fertil pencerede düşük olan düzeyleri ise fertilizasyona imkan sağlarken; midluteal implantasyon penceresi dönemindeki yüksek düzeyleri ile de implantasyona yardımcı olur. Tekrarlayan IVF başarısızlığı olan hastalarda endometrial reseptivite nedeniyle implantasyon yetmezliği bulunanların tanısında faydalı olabilir. Üstelik Glikodelin'in kontraseptif amaçlı kullanılması da mümkün gözükmektedir.

Anahtar kelimeler: Glikodelin (plasental protein 14 [PP14]), Makrofaj-Koloni Stimulan Faktör (M-CSF, CSF-1), implantasyon başarısızlıkları ve endometrial reseptivite

The Clinical and Prognostic Value of Analysis Glycodelin and Macrophage-Colony Stimulating Factor from the Cervico-vaginal Secretions and the Serum as an Implantation Marker in the Assisted Reproductive Techniques

SUMMARY

Implantation is adhesion of embryo to decidua, burrowing through basal membrane and invasion into the stroma as part of a complex dialogue involving growth factors, hormones, adhesion molecules, extracellular matrix and prostoglandines between the endometrium and the embryo. Currently, the most successful instrument of Assisted Reproductive Techniques (ART) is intra-cytoplasmic sperm enjection (ICSI); despite an average of 15 oocyte retrieval and 90% fertilization ratios, mean live birth rates can not still increase beyond 45% ratio. The problems of the implantation and the endometrial receptivity are considered as the rate limiting steps of ART.

Glycodelin and Macrophage-Colony Stimulating Factor (M-CSF) are being expressed during the implantation period from the serum, the endometrial tissue and the cervico-vaginal secretions and they may play role as markers for endometrial receptivity. In this study, we aimed to point out the relation between the pregnancy ratios and the Glycodelin and M-CSF levels in the serum and cervico-vaginal secretions of the ICSI patients in the embryo transfer day.

In our study we included 85 ICSI patients who applied to the Baskent University Faculty of Medicine, Obstetrics and Gynecology Department in Ankara and Adana Infertility Centers. Patients above 39 years old, poor responders, patients for thaw cycles or underwent mandatory single embryo transfers were excluded from the study. The samples were collected in the embryo transfer (ET) day from the serum and cervico-vaginal flushings (lavage) and assessed in the Biochemistry laboratory by the ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) method. A clinical prospective study was made statistically between the lavage Glycodelin, M-CSF levels, serum M-CSF levels and the pregnancy ratios.

There was no significant statistically difference in the levels of the Glycodelin (P: 0,143) and M-CSF (P: 0,748) in the cervico-vaginal secretions (lavage) and in the serum (P: 0,115) sampled at the embryo transfer day in terms of pregnancy. But when patients with the presence of the gestational sacs (n: 37) were considered, the mean cervico-vaginal flushing Glycodelin level was $94,78 \pm 170,95$ ng/ml compared to level of $139,42 \pm 208,23$ ng/ml in the patients without gestational sac (n: 48); and the difference was statistically

significant (P: 0,049). Moreover, when patients who had (fetal) cardiac activity (n: 35) were considered the mean cervico-vaginal flushing glycodelin level was $70,95 \pm 143,03$ ng/ml compared to $153,84 \pm 216,07$ ng/ml in those patients without cardiac activity (n: 50); which was statistically significant (P: 0,009). By analysing the ROC curves the patients, whose cervico-vaginal flushing Glycodelin levels were below 4,1 ng/ml: had a prediction rate to have a gestational sac with 52,78% sensitivity and 75% specificity (P: 0,0389) and a prediction rate have cardiac activity with 55,9% sensitivity and 76% specificity (P: 0,0039). Cervico-vaginal flushing Glycodelin levels in patients with unexplained infertility were statistically lower when they have a positive pregnancy test (P: 0,016), or gestational sac (P: 0,001) and the cardiac activity (P: 0,000) compared to those were not. The cervico-vaginal flushing Glycodelin levels in the patients whose embryo transfer was the third day were statistically lower if they had positive gestational sac (P: 0,049) and cardiac activity (P: 0,020) in the ultrasonography than the negative ones. In singletons (n: 19), 2 of them (10,5%) had abortion; however in twins (n: 16) no abortion took place, but 2 of them (12,5%) continued as a singleton pregnancy. The cervico-vaginal flushing Glycodelin levels in the patients with twin cardiac activity (n: 14; $163,74 \pm 189,90$ ng/ml as average) were statistically higher than the patients with single cardiac activity (n: 19; $5,19 \pm 8,05$ ng/ml as average) (P: 0,042).

The Glycodelin is well promising as an implantation marker. While the lower rates of Glycodelin in the fertile mid-cycle enables fertilization; then the higher rates of Glycodelin in the mid-luteal phase (implantation window) facilitates the implantation. Glycodelin can help to diagnose the patients with recurrent IVF and implantation failure because of the endometrial receptivity problems. In addition Glycodelin could be feasible in the contraceptive purposes.

Keywords: Glycodelin (placental protein 14 [PP14]), Macrophage-Colony Stimulating Factor (M-CSF, CSF-1), implantation failure and endometrial receptivity

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No:</u>
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1 İnfertilite	3
2.1.1 Erkek İnfertilitesi	4
2.1.2 Kadın İnfertilitesi	7
2.2 İmplantasyon Yetmezliği ve Endometrial Reseptivite	16
2.2.1 İmplantasyona Hazırlık	16
2.2.2 İmplantasyon	20
2.2.3 Endometrial Reseptivite Penceresi ve İmplantasyon Belirteçleri	23
2.2.3.1 Glikodelin	29
2.2.3.2 Makrofaj-Koloni Stimulan Faktör (M-CSF)	35
2.2.4 Yardımlı Üreme Tekniklerinde İmplantasyon Başarısızlığı	38
3. MATERYAL VE METOD	44
4. BULGULAR	49
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	69
6. KAYNAKLAR	76

KISALTMALAR

AC: Amniotik Kavite
 APO: Apolipoprotein
 ART: YÜT (Yardımlı Üreme Teknikleri)
 AUC: ROC Eğrisi Altında Kalan Alan
 AZF: Azospermi Faktörü
 BC: Blastokist Kavitesi
 BMİ: Vücut-Kütle İndeksi
 BV: Kan Damarı
 CC: Klomifen Sitrat
 CCCT: Klomifen Sitrat Challenge Test
 CD: Kompleman
 CFTR geni: Kistik Fibrozis Transmembran iletim Regülatör geni
 CLDN: Klaudin
 COMP: Kıkırdak Oligomerik Matris Proteini
 CP: Serüloplazmin
 CRABP: Hücrel Retinoik Asit Bağlayıcı Protein
 CRH: Kortikotropin Serbestleştirici Hormon
 CRHR1: CRH Reseptör tip-1
 CSRP: Sistein ve Glisinden Zengin Protein
 C4BPA: Kompleman Komponent-4 Bağlayıcı Protein
 DAF: Kompleman bozucu faktör
 DC: Desidual Hücre
 DES: Dietilstilbestrol
 DKK: Dickkopf homologu
 DNA: Deoksiribonükleik Asit
 DS: Desidualize Stroma
 DYNLT: Dynein hafif zincirli Tctex-tipi
 D₃: Erken Folliküler Faz, adet 3. günü
 ED: Embriyonik Disk
 EGF: Epidermal Büyüme Faktörü
 ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
 EFN: Ephrin
 EPF: Erken Gebelik Faktörü
 ET: Embriyo Transferi
 EVT: İnvazif Ekstravillöz Trofoblast
 E₂: Estradiol
 FasL: Proapoptotik Fas Ligandı
 FGF: Fibroblast Büyüme Faktörü
 FSH: Folliküler Stimülasyon Hormonu
 GADD45A: Büyüme Durması ve DNA-hasar-indükleyicisi- α
 GAG: Glikozaminoglikan
 GAST: Gastrin
 GBP: Guanilat Bağlayıcı Protein
 Gd: Glikodelin, PP14 (plasental protein 14), glikozile β -lactoglobulin homologu, gebelikle-ilişkili endometrial α 2 globulin, üremeyle-ilişkili bir lipokalin, PAEP: Progesteron-ilişkili Endometrial Protein
 GGTL: Gamma-glutamyltransferaz-benzeri protein
 GIFT: Gamet İntra-fallopian Transfer
 GLUT: membran Glukoz Taşıyıcıları
 GNLY: Granülizin
 GnRH: Gonadotropin Serbestleştirici Hormon
 Gp: Glikoprotein
 GZMA: Granzim-A
 HBEGF: Heparin bağlayıcı Epidermal Büyüme Faktörü
 hCG: İnsan Koryonik Gonadotropin
 HER: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
 HIV: Human Immun-deficiency Virus
 HLA: İnsan Lökosit Antijeni
 HMG: Human Menapozal Gonadotropin

HRP: Horseradish Peroksidaz
 HSG: Histerosalpingografi
 ICAM: İnterselüler Adezyon Molekülleri
 ICSI: Intra-stoplazmik Sperm İnjesiyonu
 IGF: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
 IGFBP: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein
 IL: İnterlökin
 İnf: İnterferon
 IUI: İntrauterin İnsemimasyon – Aşılama
 IVF: In Vitro Fertilizasyon
 IVM: In Vitro Matürasyon
 kb: kilobase
 kDa: Kilodalton
 KGF: Keratinosit Büyüme Faktörü
 KOH: Kontrollü Ovaryen Hiperstimülasyon
 Konj.: Konjenital
 LAM: Laminin
 LH: Luteinizan Hormon
 LIF: Lökemi İnhibitör Faktör
 LOD: Laparoskopik Ovaryen Drilling
 M-CSF: Makrofaj-Koloni Stimülan Faktör, CSF-1 (Koloni Stimülan Faktör-1)
 MMP: Matriks Metalloproteinaz
 MSX: Msh homeobox
 NK: Naturel Killer Lenfositleri
 OLFM: Olfaktomedin
 P: Progesteron
 PAF: Platelet Aktive edici Faktör
 PAI: Plasminojen Aktivatörü İnhibitörü
 PKOS: Polikistik Over Sendromu
 PDGF: Platelet-kaynaklı Büyüme Faktörü
 PG: Prostoglandin
 PID: Pelvik İnflamatuvar Hastalık
 PLA2G2A: Fosfolipaz A2 grup IIA
 RNA: Ribonükleik Asid
 ROC: Receiver Operative Characteristic
 PRL: Prolaktin
 Send.: Sendrom
 SFRP: Salgılanmış Kıvrılma-ilişkili Protein
 SHBG: Seks Hormon Bağlayıcı Globulin
 SPP: Salgılanmış Fosfoprotein
 S100P: S100 kalsiyum bağlayıcı Protein
 TCN: Transkobalamin
 TGF: Transforme-edici Büyüme Faktörü
 TIMP: Metalloproteinaz doku inhibitörü
 TMB: 3,3' 5,5' Tetrametilbenzidin
 TNF: Tümör Nekroz Faktör
 TSH: Tiroid Stimülan Faktör
 TV-USG: Transvajinal Ultrasonografi
 VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
 XCL: Kemokin (C motif) ligand
 WHO: Dünya Sağlık Örgütü
 ZIFT: Zigot İntra-fallopian Transfer
 α: alfa
 β: beta
 γ: gamma
 n: sayı no
 μ: mikro

1. GİRİŞ

İmplantasyon, embriyonun öncelikle desidua içerisine yerleşip sonra da annenin dolaşım sistemine plasentayı oluşturmak için ulaşmasını kapsayan bir seri işlem olarak tanımlanmaktadır (1). Bu esnada endometrium ile embriyo arasında büyüme faktörleri, hormonlar, adezyon molekülleri, ekstraselüler matriks ve prostoglandinler ile oluşan karmaşık bir diyalog vardır. Embriyo bu etkenlerle epitele yapışmakta bazal membrana doğru inmekte ve stromaya invaze olmaktadır (2).

Günümüzde YÜT'nin gelişmesiyle infertilite tedavisindeki başarı oranları artmış ve daha çok infertil çiftin sağlıklı bir bebeğe sahip olabilmesi sağlanmıştır. YÜT overden direk olarak oositlerin toplanmasını içeren tüm teknikleri ifade etmektedir (1) (ICSI, IVF, gamet intra-fallopian transfer-GIFT ve zigot intra-fallopian transfer-ZIFT, in vitro matürasyon-IVM, thawing). Günümüz YÜT'ndeki en yüz güldürücü nokta olan ICSI uygulamalarında dahi ortalama 15 oosite ve %90'lık fertilizasyon oranlarına ulaşılabilmesine rağmen; ortalama canlı doğum oranı %45'i geçememektedir ve de halen çoğul gebelik oranları istenilen düzeylere düşürülemediği. Çünkü implantasyon hızının düşük olması sebebiyle transfer edilen embriyo sayıları halen yüksek tutulmaktadır. Bu yüzden implantasyon başarısızlıkları IVF'in en önemli hız kısıtlayıcı basamaklarından biridir (3).

IVF'te başarı, hastaların uygun olarak değerlendirilmesine, uygun tedavinin planlanmasına, uygun tekniklerin kullanılmasına ve hasta uyumuna bağlıdır. Halen Yardımlı Üreme Teknikleri'nin başarısını arttırmak için çalışmalar sürmektedir. Son zamanlarda implantasyon başarısızlığında önemli etkenlerden biri olan endometrial reseptivite üzerine pek çok moleküler belirteç araştırılmaktadır: sitokinler (interlökin-1[IL-1], lökemi inhibitör faktör (LIF), makrofaj-koloni stimulan faktör (M-CSF), hücre adezyon molekülleri (integrinler $\alpha_v\beta_3$), glikodelin, polimorfik müsinler (MUC-1), kalsitonin, amphiregulin, epitelyal büyüme faktörü (EGF), HB (heparin binding)-EGF, leptin, selectin-L ligandları (ve sentezinde rol alan N-acetylglucosamine-6-O-sulfotransferase), HOXA genleri, COX (cyclooxygenases 1-2), osteopontin, progesteron reseptörleri, pinopodlar, glutaredoxin...(4; 5). Bu belirteçlerin çoğu siklus bağımlı olarak implantasyon penceresine uygun dönemde eksprese olmaktadır. Ancak bu belirteçlerden hiçbiri, tanı ve tedaviye yönelik günlük klinik uygulamalarda kendilerine henüz net bir yer bulamamışlardır. Özellikle son zamanlarda M-CSF (6; 7) ve Glikodelin (8-10) ile ilgili yapılan çalışmalar ise umut verici sonuçlar göstermektedir.

Glikodelin endokrin-düzenleyici bir glikoprotein olup; immun sistem hücrelerine, apoptoziye, hücre adezyonu ve farklılaşmasına ve kanserde vücudun tümöre yanıt vermesi üzerine katkıları vardır. Reprodüktif sistemde ise kapasitasyona, spermatozoanın immun-korunmasına, akrozom reaksiyonuna, sperm ile oositin tutunmasına ve implantasyona da önemli etkilerde bulunur. Glikodelin implantasyonda immünsüpresif etki gösterir: Natural Killer (NK) aktivitesini baskılayarak embriyoyu koruduğu düşünülmektedir (11). Endometrial genlere bakıldığında Glikodelin preimplantasyon dönemde ve geç sekretuar fazda up-regüle olmaktadır (12).

M-CSF implantasyon sırasında endometriumda üretilen sitokinlerdendir. M-CSF ekspresyonu ve M-CSF reseptörleri insan endometriumunda (desidua), preimplantasyon embriyoda ve de plasentada bulunmaktadırlar. M-CSF geninde inaktive edici mutasyon içeren fareler düşük implantasyon oranları nedeniyle infertildirler (13). M-CSF'nin implantasyondaki rolüne ek, fetal hematopoezi de kapsayan placentada için büyüme faktörü desteği sağlaması özelliği de vardır (1).

Bizim bu çalışmadaki amacımız öncelikle IVF planlanan hastaların embriyo transfer günü serum ve serviko-vajinal lavaj örneklerinden Glikodelin ve M-CSF düzeyleri bakılması ile elde edilecek gebelik oranları ilişkisinin gösterilmesidir. Tekrarlayan IVF başarısızlığı olan, endometrial reseptivite problemleri nedeniyle implantasyon yetmezliği bulunan hastaların tanısında faydalı olunmasıyla; belki de IVF prognozu önceden gösterilebilecektir.

Çalışmamıza Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Ankara ve Adana Tüp Bebek Merkez'lerimize başvuran ve ICSI yapılmasını planladığımız hastalarımızdan 85'i dahil edilmiş; 39 yaş üzeri, kötü yanıt veren, donma-çözme siklusu olan veya zorunlu tek embriyo transferi yapılan hastalar ise çalışmaya dahil edilmemiştir. Örnekler embriyo transfer gününde, hem serumdan; hem de serviko-vajinal lavaj sıvılarından minimal invazif bir yaklaşımla alınmıştır (6). Serviko-vajinal lavaj örneklerinden Biyokimya laboratuvarımızda ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile Glikodelin (14) ve M-CSF (6) düzeyleri çalışılmış; eş zamanlı serumdan da ELISA yöntemi ile M-CSF (6; 7) düzeylerine bakılmıştır. Glikodelin ve M-CSF düzeyleri ile elde edilecek gebelik oranları ilişkisi istatistiksel olarak incelenerek klinik prospektif bir araştırma yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 İNFERTİLİTE

İnfertilite, korunmasız düzenli cinsel ilişkiye rağmen bir yıl boyunca gebe kalınamaması olarak tanımlanmaktadır. Bu, üreme çağı yaş grubundaki çiftlerin yaklaşık %10-15'ini etkilemektedir (1). Fekundabilite, tek bir menstrüel siklusta gebe kalabilme potansiyelidir. Genel popülasyonda fekundabilite oranı %20'tir. Korunma yöntemi kullanmayan fertil çiftlerin %57'si ilk 3 ayda, %72'si 6 ay içinde, %85'i 1 yılda, %93'ü ise 2 yılın sonunda gebe kalmaktadır (1).

Son yıllarda çeşitli sebeplerden ötürü (kadınlar arasında artmış kariyer ve eğitim düzeyi, artmış evlilik yaşı ve boşanma oranı, doğum kontrolü ve aile planlaması servislerinde gelişmeler, gecikmiş doğum yaşı, azalmış aile sayısı) fertilite ve doğum oranları azalmaktadır (1).

1 yıl ve üzerinde korunmasız ilişkiye rağmen gebelik oluşmayan çiftlerde infertiliteye yönelik araştırmalar yapılmalı; kadın ve erkeğin değerlendirilmesine aynı anda başlanmalıdır. Ancak yaş ve infertilite süresinden bağımsız olarak 35 yaşından üzerindeki kadınlarda, pelvik enfeksiyon veya endometriozis öyküsü olanlarda, daha önce geçirilmiş over ve pelvik cerrahisi olanlarda, adet düzensizliği olanlarda, erken menapoz aile öyküsü olanlarda, sigara kullanımı olanlarda, bilinen veya tahmin edilen kötü semen kalitesi olanlarda beklemek mantıklı olmayacağından bir an önce incelenmeye başlanmalıdır (1; 10).

İnfertilite nedenleri: %30-40 erkek infertilitesi, %10 hem erkek hem de kadın faktörü, %40-55 kadın faktörü (%30-40 tubal ve peritoneal patolojiler, %15 ovulatuvar disfonksiyon, %5 diğer yaygın olmayan problemler [uterin, anatomik, enfeksiyöz, servikal ve diğer endokrin patolojiler]) ve %10 da nedeni açıklamayan infertilite'dir (1; 15).

2.1.1 ERKEK İNFERTİLİTESİ

Günümüzde infertil çiftlerin %20'sinde erkekteki anormalliklerin tek neden olduğu; %20-40'ında ise önemli bir etken olarak erkek infertilitesinin eşlik ettiği bilinmektedir (1). Kadına yönelik invazif tanısal testlere başlanmadan önce erkek araştırmasının tamamlanması gereklidir. Erkek faktörünün değerlendirilmesini hikaye, fizik muayene, sperm analizi, genetik ve endokrin testler oluşturur. Erkek infertilitesinde etyoloji Tablo 2.1'de özetlenmiştir (1; 10; 16).

Tablo 2.1: Erkek infertilitesinde etyoloji

Sperm üretim bozuklukları	Sperm fonksiyon bozuklukları	Duktal sistemde anormallikler
Primer testiküler yetmezlik (Hipergonadotropik hipogonadizm)	Antisperm antikolarlar	Obstrüktif
-Genetik	Varikozel	Epididimal-Ejekülatör duktal
Klinefelter Sendromu	İnflamasyon (Prostatit)	Konjenital
Y kromozom delesyonu	Akrozom reaksiyonu olmaması	Enfektif
İmmotil silia sendromu	Biyokimyasal (O ₂ radikalleri)	Vazal (vas deferens)
-Anatomik	Zona pellusidaya yapışma problemi	Konjenital: bilateral yokluğu
Kriptorşidizm (konjenital)	Penetrasyon problemi	Genetik: Kistik fibrozis
Varikozel		Kazanılmış: Vazektomi
Torsiyon		Aksesuar gland enfeksiyonu
Travma		İmmunolojik
-Enfektif		İdiopatik
Kabakulak orşiti		Seküel disfonksiyon
-Gonadotoksinler: Isı, Kemo-Radyasyon, İlaç, Alkol, Toksinler		
-İmmunolojik		
-İdiopatik		
Hipogonadotropik hipogonadizm		
-Hipotalamik		
İsole GnRH yetmezliği		
Kallmann send.		
Tümör		
Eksojen androjen kullanımı		
-Hipofizer		
Konjenital		
Hipogonadotropik send.,		
İzole LH veya FSH eksikliği		
Tümör		
Radyasyon maruziyeti		
Operasyonlar		
Hemokromatozis		

Duktal obstrüksiyon ve hipogonadotropik hipogonadizm kesin tanı konulduktan sonra efektif tedavi ile tamamen düzelebilir. Primer testiküler yetmezlik gibi diğerleri tedaviye yanıt vermez. Ne yazık ki erkek infertilitesinde genellikle neden idiopattiktir (1).

Erkek faktörün değerlendirilmesinde ilk olarak en az 4 hafta ara ile ve uygun olarak alınmış 2 sperm analizinin olması gerekir. Standart sperm analizi; 2-7 günlük cinsel perhizden sonra alınır. Semen analizi Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) önerilerine göre değerlendirilmektedir (Tablo 2.2).

Tablo 2.2: WHO (2002) kriterlerine göre standart semen analizi (17)	
Volum	>2ml
Sperm konsantrasyonu	>20x10 ⁶ sperm/ml
Hareket	>25% a (hızlı ileri hareket) veya >50% a+b (hızlı ileri hareket + ileri hareket)
Morfoloji	>15% normal form
Lökosit	<1x 10 ⁶ /ml
Immunobead veya Mixt aglutinasyon reaksiyon (MAR) test	<10% antikorla kaplanmış sperm

Tablo 2.3: Ejakulo-patoloji terminolojisi (15)	
Normozospermi	Tüm semen parametreleri normal
Oligozospermi	Hafif-Orta: 5-20x10 ⁶ sperm/ml Şiddetli: <5x10 ⁶ sperm/ml
Asthenozospermi	<50% hızlı ileri hareket + ileri hareket(a+b) veya <25% hızlı ileri hareket(a)
Teratozospermi	<15% normal form
Oligoasthenoteratozospermi	Tüm sperm parametrelerinin subnormal olması
Azospermi	Ejakulatta sperm olmaması
Aspermi (anejakulasyon)	Ejakulat olmaması
Lökositospermi	Semende lökositlerin artması
Nekrozospermi	Tüm spermelerin non-viable veya non-motile olması

Ciddi oligospermisi olan erkeklerde endokrin ve genetik değerlendirme yapılmalıdır. Genetik anomaliler sperm üretimi ve taşınmasını etkileyerek infertiliteye sebep olur. Kistik fibrozis gen mutasyonu, kromozomal anomaliler ve Y kromozomu mikrolelesyonları azospermi ve ciddi oligospermimin ötesinde etkilenen çiftlerin çocuklarını da etkileyebileceğinden genetik danışma mutlaka verilmelidir. Konjenital bilateral vas deferens yokluğunda kistik fibrozis transmembran iletim regülatör gen (CFTR geni) mutasyon taraması da yapılmalıdır (18).

Kromozomal anormallikler infertil hastalarda (%7) normal populasyondan (<%1) daha fazla görülmektedir. İnfertil erkeklerde en sık görülen kromozomal anomali (kromozom anomalilerin 2/3'ünü oluşturan) Klinefelter sendromudur 47 XXY; 46XY/47XXY (1/500-1/1000) (19).

Azospermili ya da şiddetli oligospermisi olan erkeklerin %10-15'inde Y-kromozom mikrolelesyonları bulunabilir (20). Oligospermi ya da azospermiye yol açan mikrolelesyonlarının çoğu Y-kromozom uzun kolu boyunca (Yq11) oluşur. Proksimalde AZFa (Azospermi Faktörü a), merkezde AZFb, distalde AZFc bölgeleri bulunur. Bu bölgelerde spermatogenez için gerekli çok sayıda gen bulunur. AZFa mikrolelesyonu azospermik erkeklerin %1'inde görülür. AZFb veya AZFb/AZFc mikrolelesyonu azospermik erkeklerin %1-2'sinde görülür. Bir transkripsiyon faktörünü kodlayan ve normal fertil erkeklerde bulunan DAZ (deleted azospermi) geni AZFc bölgesinde yer almaktadır. AZFc mikrolelesyonu azospermik erkeklerin %13'ünde ve ciddi oligospermik erkeklerin de %6'sında görülür. Yeni bulunan AZFd bölgesi mikrolelesyonu normal spermogenez ile ilişkilidir ve klinik önemi bilinmemektedir. AZFa ve AZFb bölgesinde mikrolelesyon olan erkeklerden sperm elde etme olasılığı oldukça düşüktür. Ancak AZFc bölgesi mikrolelesyonunda sperm üretimi, testiküler biyopsi ile ekstrakte edilebilecek yeterliliktedir (1; 21).

Çoğu infertil erkek ögonadotropik, normal virilizasyon gösteren, oligospermi veya diğer nedeni bilinmeyen sperm parametrelerindeki anormallikler (asthenospermi, teratospermi) dışında sağlık sorunu olmayan erkeklerdir. İdiopatik subfertiliteli erkeklerde fertilitiyi ve sperm parametrelerini düzeltecek kanıtlanmış güvenilir bir medikal tedavi malesef yoktur (1). Hafif semen anormallikleri olan hastalarda intrauterin inseminasyon (IUI) ile; başarısız olduğunda veya ciddi semen anormallikleri olanlarda ise ICSI yöntemleri ile başarıya ulaşılabilir.

2.1.2 KADIN **INFERTİLİTESİ**

Kadın faktörünün değerlendirilmesi hikaye, fizik muayene, endokrin testler, görüntüleme yöntemleri ve genetikten oluşur. Hikayede, yaş tek başına önemli bir etkidir. Özellikle oosit sayısı ve kalitesinde düşmeden ötürü 19-26 yaş arasındaki kadınlarda, 35-39 yaş arası kadınlara göre 2 kat daha fazla spontan gebe kalma oranı vardır. YÜT başarı oranları raporlarında da, başarıyı etkileyen en önemli faktörün yaş olduğu bildirilmiştir. 35 yaş altında embriyo transfer başına canlı doğum oranı %43.4, 35-37 yaşlarında %35.9, 41-42 yaşlarında %14.9, 42 yaş ve üzerinde %5.8'dir (22). Spontan gebeliklerde olduğu gibi YÜT ile elde edilen gebelik kayıpları 35 yaş öncesi %20 altında iken, 40 yaşında %30 ve 44 yaş ve üzerinde %60'ın üzerinde rapor edilmiştir (23).

Fetal yaşamda hızla çoğalan germ hücreleri 16-17.gebelik haftalarında yaklaşık 6-7 milyon oogoniaya ulaşır. Sonra gen ile ilişkili apoptozis başlar. 1. mayoz bölünme sonrası oluşan oositler doğumda 1-2 milyona, puberte başlangıcında 300.000-500.000'e iner. Yaşam boyu 400-500 adet oosit yumurtlanır; geri kalanı ise atreziye uğrayacaktır. Üreme çağı boyu folliküler kayıp 35-38 yaşlarına kadar sabit iken sonraki 10-15 yıl hızlanacak ve 1000'den az sayıda follikül kalması ile menapoza girilecektir. Ortalama kadınlar folliküler kayıpta hızlanma ve fertilitede azalma 30'dan sonra başlar, 35 yaşında hızlanır ve 38 yaşında belirgin hale gelir ve yaklaşık 13 yıl sonra menapoza girilir (ortalama 51 yaş). Kadınların %10'u ise 45 yaş ve öncesinde menapoza girer; bunun nedeni genetik özellikleri açısından daha az follikül havuzuyla doğmaları olduğu belirtilmektedir (1).

Yaştan bağımsız menstrüel düzensizlik ile menapoz arası süre 5 yıldır (24). Erken menapoz (40-45 yaş) ve erken ovaryen yetmezlik genetik özellikleri benzerdir (25). Yaştan bağımsız eksojen gonadotropinlere kötü yanıt veren kadınların siklus özellikleri, yaşlı veya erken menapoza giren kadınların siklus özelliklerine benzerler (26). İlerleyen yaşla birlikte folliküler kayıp hızı artıp, menstrüel düzensizliğin başlamadığı dönemlerde serum Folliküler Stimulan Hormon (FSH) artmaya başlar (adetin 2-3. günü FSH: 11-15 IU/L üzerinde olması anormal kabul edilir). Bu, azalan folliküller ve ovaryen hormonlarla (inhibin-B azalır, inhibin-A azalır, aktivin-A artar) FSH salınımının baskılanmasının azalmasından kaynaklanmaktadır (27). Yaşla birlikte 42 yaşına kadar FSH arttıkça folliküler faz kısalır. Sonraki 8-10 yılda ortalama siklus uzunluk ve değişkenliği, ovulasyondaki azalma ile artmaktadır. Erken dönemlerdeki artmış estradiol (E₂) yükselmeleri siklus başındaki ilerlemiş follikül gelişimi ve dominant follikülün erken

seçilmesinden kaynaklanmaktadır. FSH arttıktan birkaç yıl sonra E₂ düzeylerinde azalma olacaktır (28). Yaşla birlikte ilerleyici follükül azalmasına bağlı menstrüel siklus özelliklerindeki değişiklikler; over hacminde azalma ve erken follüküler fazda (D3) transvajinal ultrasonografi (TV-USG) ile gözlenen antral follükül sayısındaki azalma ile ilişkilidir (29). Kalan follükül sayısı en önemli faktördür.

Düzensiz veya seyrek adet görme öyküsü ovulatuvar bozukluğu göstermektedir. Sistemik hastalıklar (tiroid, diabet vb.), over üzerine toksik etkili olan tedaviler (seks steroidleri, sitotoksik ilaçlar, abdominal radyasyon) mutlaka sorgulanmalıdır. Galaktore varlığı hiperprolaktinomayı, antidepresan, nöroleptik ilaç kullanımını düşündürür. Çalıştığı yer hakkında toksik madde maruziyeti açısından bilgi alınmalıdır. Rekürren vajinal enfeksiyonlar servikal veya vajinal faktörü düşündürür. Dismenore ve dispareni varlığı PID (pelvik inflamatuvar hastalık), endometriozis, tubal faktör ile ilişkili olabilir. Geçirilmiş batın operasyonu (apendektomi, kistektomi vb) adezyon oluşumunu, tubal disfonksiyonu predispoze edebilir. Sekonder infertil hastalardan mutlaka önceki gebelikleri hakkında detaylı bilgi alınmalıdır (18).

Menoraji ve dismenore uterin myomlarla ilişkili olabilir. Yaşla birlikte benign uterus patolojilerinde (leiomyom, endometrial polip, adenomyozis) de artış olmakla beraber; bunların fertiliteye etkisini gösteren çok az kanıt vardır (30).

Yaşa bağlı fertilitate azalması ve spontan gebelik kayıp oranlarının artması, ilerleyici follüküler kayıp ve yaşlı oositlerdeki anormalliklere (artmış anöploidi, mayotik iğne formasyon ve fonksiyonundaki düzenleyici mekanizmalardaki bozukluk) bağlanmaktadır (31). Anormal kromozomlu abortus olasılığı 20 yaşında %35'in altında iken, 42 yaş üzerinde %80'e çıkmaktadır (32). En sık gözlenen kromozomal anormallik trisomilerdir; bunları poliploidiler ve monozomi X (45, X) izler.

Fizik muayende vücut yapısı ve boy değerlendirilmelidir. Turner sendromunda boy kısalığı ve yapısal özellikler göze çarpar. Vücut-kitle indeksinin (BMI) hesaplanması önemlidir. Sekonder seks karakter gelişimi değerlendirilmelidir. Pelvik anatomi mülleryen anomaliler ve çeşitli patolojiler açısından incelenmelidir.

Kadınlarda infertilitateye sebep olan faktörler: %40 ovulatuvar disfonksiyon, %40 tubal ve pelvik patolojiler, %10 açıklanamayan nedenler ve %10 da yaygın olmayan problemler (uterin, anatomik, enfeksiyöz, servikal ve endokrin patolojiler) olarak bilinmektedir (1).

2.1.2.1 Ovulatuvar Faktör

İnfertil çiftlerin %15'inde ovulasyon bozukluğu vardır; kadına bağlı infertilitenin %40'ında da ovulatuvar faktör vardır. Ovulasyonun olup olmadığı ise adet düzeni öyküsü, bazal vücut sıcaklığı eğrisi, üriner LH bakılması, luteal fazda kan progesteron düzeyi ölçümleri, endometrial biyopsi ve yapılan seri TV-USG ölçümleri ile anlaşılabilir. Bozukluk gebeliğe engel olacak şekilde ağır (anovulasyon) veya hafif (oligo-ovulasyon) olabilir. Üreme çağındaki kadınlarda normal, ovulatuvar menstrüel siklus uzunluğu 25 ile 35 gün arasında değişmektedir. Aylık regüler siklusu olan, premenstrüel dönemde meme hassasiyeti, dismenore gibi semptomu olan kadınlar tipik olarak ovulatuvardır. Ovulasyon bozuklukları genelde düzensiz adet periyotları (oligomenore) veya adet görememe (amenore) ile karakterizedir (33). Tiroid hastalıkları, hiperprolaktinemi, adrenal hastalıklar, hipofizer ve ovaryen tümörler, yeme bozuklukları, aşırı kilo kayıpları, aşırı egzersiz, polikistik over sendromu (PKOS) ve obezite anovulasyon ile ilişkili sık durumlardır.

Over rezervi, serum bazal (adetin 3. günü) FSH, bazal östradiol (E_2), bazal inhibin-B, Anti-Mülleryen Hormon (AMH) düzeyleri, CCCT (Klomifen Sitrat Challenge Test: bazal FSH değeri ile siklusun 5. gününden itibaren 5 gün 1×100 mg CC aldıktan sonraki 10. gün FSH değeri toplamıdır) ile bazal USG'de antral follikül sayısı ve over hacmi ile değerlendirilebilir (3; 34). $FSH \geq 15$ mIU/mL (35), $E_2 \geq 80$ pg/ml (36), İnhibin-B < 45 pg/ml (37), AMH < 1 ng/ml (38), CCCT ≥ 26 mIU/mL (39), bazal over ortalama hacmi < 3 cm³ (40), 10 mm altındaki total antral follikül sayısı ≤ 3 (41) ise azalmış over rezervi anlamına gelmektedir.

Günümüzde korpus luteumdan düşük düzeyde progesteron üretimi veya kısa luteal faz ile olan luteal faz yetersizliğinin de ovulatuvar fonksiyonun bir bozukluğu olduğu düşünülmektedir. İmplantasyon aralığı (penceresi) ovulasyon sonrası 5.-9. günler arasında 3-6 gün süren kısıtlı bir dönemdir. Luteal faz yetmezliği olan kadınlardaki düşük progesteron düzeylerinin endometrial matürasyonda gecikme yaparak implantasyon aralığını olumsuz yönde etkilediği ve de erken gebelik kayıplarına neden olduğu düşünülmektedir.

Anovulasyon sebeplerine göre genel değerlendirme yapıldıktan sonra hastalar WHO tanı kriterlerine göre ayrılırlar. WHO sınıflaması kan gonadotropin ve östrojen düzeyine göre

yapılmakta olup hastalar temel olarak üç grupta değerlendirilir. Hiperprolaktinematik anovulasyon ise dördüncü ve kendine has bir durum olarak değerlendirilmektedir.

1. WHO grup 1 anovulasyon (hipogonadotropik hipogonadizm):

Bu gruptaki olgular anovulatuvar infertilitenin %5-10'unu oluştururlar. Östrojen seviyeleri düşüktür, progesteron çekilme kanaması görülmez ve genellikle amenoreiktirler. Prolaktin seviyeleri normaldir. 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; stres, kilo kaybı, aşırı egzersiz, anoreksia nervoza, izole GnRH salınım defekti ve Kallman Sendromu'dur. İlk seçenek tedavi cilt altına yerleştirilen GnRH pompasıdır. GnRH pompasının mevcut olmaması durumunda, hem LH hem de FSH içeren gonadotropin preparatları ile ovulasyon induksiyonu yapılmalıdır. Bu şekilde elde edilen kümülatif gebelik oranları normal fertil popülasyondaki gebelik oranlarına eşit ve, hatta daha yüksektir. Altı siklus Human Menapozal Gonadotropin (HMG) ile %90'lara varan gebelik oranları bildirilmiştir (42).

2. WHO grup 2 anovulasyon (normogonadotropik normoöstrojenik): PKOS

Anovulatuvar olguların %75-85'ini oluşturur. Serum FSH ve östrojen düzeyleri normaldir, serum LH düzeyleri ise normal veya yüksek olabilir. Progesteron çekilme kanaması vardır. Bu grubun tipik örneği PKOS'dur. Özellikle oligomenoreik olan PKOS olguları nadiren ovulasyon gösterirler (43). PKOS tanı kriterleri 2003 yılında tekrar düzenlenmiş olup Rotherdam kriterleri olarak Tablo 2.4'de verilmiştir (44).

Tablo 2.4: Rotherdam PKOS tanı kriterleri

2003 Rotherdam Konsensus Kriterleri (Tanı için üç kriterden ikisi gereklidir)	
1.	Oligo- ve/veya anovulasyon (menstrual siklusun >35 gün olması)
2.	Hiperandrojenizm'in klinik (<i>hirsutismus, akne, alopesi [erkek-patern] ve aşikar virilizasyon</i>) ve/veya biyokimyasal (<i>yüksek total testosteron ve androstenodion, ve artmış serbest androjen indeksi: total testosteronun seks hormon bağlayıcı globuline [SHBG] oranı: >5</i>) belirtileri
3.	Ultrasonografide polikistik over bulguları (her hangi bir overde 2-9 mm çapında ≥ 12 follikül sayısı ve/veya >10 mm artmış over hacmi) Diğer etyolojiler (Konjenital Adrenal Hiperplazi, Androjen-salgılayıcı tümörler veya Cushing hastalığı) ekarte edilmeli.

PKOS olgularında tedavi seçenekleri (45; 46):

- I-** Diyet, egzersiz, kilo verme (obez olgularda $\%5 \leq$ menstrüel düzeni ve ovulasyonu sağlayabilir)
- II-** Klomifen sitrat (CC) (tedavisi ile $\%75$ ovulasyon, $\%36$ gebelik ve $\%25$ eve tek canlı bebek götürme oranlarına ulaşılmıştır (47))
- III-** Gonadotropinler (artmış çoğul gebelik riski, sıkı takip gerekir; genelde kronik low-doz step-up protokolü tercih edilir)
- IV-** Metformin tedavisi (insülin rezistansı olan olgularda)
- V-** Aromataz inhibitörleri (servikal mukus ve endometrium üzerine anti-östrojenik etkisi yoktur; santral negatif feed-back mekanizma ile intakt-multifoliküler gelişme prevalansında azalma sağlar; fakat ovulasyon induksiyonunda kullanımının önerilmesi ve güvenilirliği konusunda yeterli veri yoktur)
- VI-** Ovulasyon indüksiyonu ile gebelik gelişmeyen, servikal mukus sorunu olan veya hafif erkek faktörü olan hastalarda intrauterin inseminasyon (IUI) tedaviye eklenebilir.
- VII-** Laparoskopik Ovaryen Drilling (LOD: CC'ye dirençli PKOS hastalarında, persistan olarak yüksek LH'ı olan hastalarda, laparoskopik değerlendirme yapılacak hastalarda, ovulasyon induksiyonu takibi olamayacak hastalarda endikedir; $\%84$ ovulasyon ve 1 yıl içinde $\%49$ spontan gebelik oranlarına sahip; adezyon oluşumu ve normal over dokusu hasarı da akılda tutulmalıdır)
- VIII-** IVF

3. WHO grup3 anovulasyon (hipergonadotropik hipoöstrojenik): Ovaryen Yetmezlik

Anovulasyon olguların $\%10-30$ 'unu oluşturur. Gonadotropin düzeyleri yüksek, serum östrojen seviyeleri düşüktür. Primer nedenleri prematür ovaryen yetmezlik (idiopatik, radyoterapi/kemoterapiye sekonder, cerrahiye sekonder, genetik veya otoimmün yetmezlik sonucu olabilir) veya ovaryen rezistans sendromudur (folliküler form). Folliküler formun nedenleri; intraovaryen modülatör bozukluğu, azalmış gonadotropin reseptör aktivitesi, follikül uyarıcı hormon reseptör geninde defekt olabilir. Bunun yanında Turner Sendromu (45,X) ve androjen duyarsızlığı sendromu (46,XY) gibi kromozomal nedenlerde grup 3 anovulasyona neden olabilir. Çoğu olgu amenoreik olup genellikle anovulasyon tedavisine cevap vermez. Bu olgulardaki tek tedavi yaklaşımı oosit bağıdır (43).

2.1.2.2 Tubo-peritoneal Faktör

Tubal ve peritoneal faktörler infertil çiftlerin %30-35'inde görülmekte olup; kadın infertilitesinin de %40'ından sorumludur. Tuba-peritoneal faktör genellikle daha önce geçirilmiş rüptüre apendisit, ektopik gebelik, septik abortus, pelvik veya tubal cerrahi, pelvik inflamatuvar hastalık (PID) veya endometriozis sonrası gelişen peritubal-periovaryen adezyonlar; tubal harabiyet ve obstrüksiyonlardır. Bir PID atağı sonrasında bile tubal infertilite insidansının 7 kat, iki atak sonrası 16,2 kat ve üç atak sonrası da 28,3 kat arttığı gösterilmiştir (48). Tuba-peritoneal faktörü olanların bazılarında PID öyküsü bulunmazken; bunlarda en sık nedenin sessiz asendan enfeksiyonlar olduğu ve (49) bu kadınların çoğunda, klamidya antikoru olduğu gösterilmiştir.

Tubal faktörde sperm ile ovumun karşılaşmasına engel olan anatomik problemler söz konusudur. Proksimal tubal tıkanıklıklarda spermin fertilizasyonun gerçekleşeceği tubanın ampulla bölgesine geçişinde sıkıntı varken; distal tıkanıklıklarda ise ovumun fimbria tarafından tutulması veya ampullaya transportunda problem vardır. Distal obstrüksiyon hafif (fimbrial aglutinasyon), orta (fimbrial fimozis) veya ağır (tam tıkanıklık) olabilmektedir. Şiddetli distal tubal obstrüksiyonlarda tubal sekresyonların lümende birikip; tubal distansiyon oluşması ile hidrosalpenks gelişir ve tubo-epitelyal silya hasarı oluşur. Hidrosalpinkis sıvısının, embriyoya ve endometriuma toksik etkileri ile veya sıvının mekanik etkisi ile implantasyonu etkilediği düşünülmektedir. Zeyneloğlu ve arkadaşlarının retrospektif çalışmaları inceleyerek yaptığı meta-analizde gebelik oranlarının hidrosalpinkis varlığında %50 azaldığı, spontan abortus oranının ise iki kat arttığı gösterilmiştir (50). Ayrıca hidrosalpinkisi olan infertil kadınların endometriumunda reseptivite belirteçlerinden biri olan LIF ekspresyonu düşük bulunmuştur (51). Hidrosalpinkisi olan infertil çiftlere ICSI uygulamaları gün geçtikçe artmaktadır. Ancak hidrosalpinkis varlığında IVF sonuçları daha düşük olmaktadır. ICSI planlanan bu hastalarda salpenjektomi sonrası endometrial LIF ve HOXA10 ekspresyonu ile birlikte IVF implantasyon oranlarında da önemli ölçüde artış saptanmıştır (52).

Endometriozis fertil kadınlarda %0,5-5 oranlarında ve infertil kadınlarda da %25-40 oranlarında mevcuttur (53). Hastalığın şiddeti, evresi önemlidir. Overleri tutan endometriomaların ve ilerlemiş endometriozisin infertiliteye etkisi kesinken; orta-hafif düzeyde hastalığın etkisi tartışmalıdır. Endometriotik lezyonların, gelişen in situ

menstürasyonun adezyon formasyonu, fibrozis ve proksimal tubal obstruksiyon oluşturmaları ile ovulasyon sonrası ovum yakalanmasını inhibe eden bozulmuş bir adneksiyal anatomiye neden olduğu düşünülmektedir (1; 54). Yine bu lezyonlara yakın bölgelerde gelişen inflamatuvar yanıt sperm transportunu (55), tubal motiliteyi (56), oosit gelişimini (57) veya erken embriyogenezi (1) bozar. Endometriozisli kadınların endometriumlarında azalan endometrial reseptiviteyle ilişkili immun hücre infiltrasyonunda artış (58) gösterilmiş; ve de glikodelin (59), $\alpha_v\beta_3$ integrin (60), HOXA10 ve HOXA11 (61) gibi implantasyon belirteçlerinin ekspresyonunda ise azalma rapor edilmiştir.

İnfertil kadınlarda tubo-peritoneal yeterliliğin değerlendirilmesinde histerosalpingografi (HSG), selektif salpingografi, falloposkopi, sonohisterografi, transvajinal hidrolaparoskopi (fertiloskopi), klamidyaya antikor testi ve laparoskopi kullanılabilir (1). Tubal faktörlerin tedavisi cerrahidir. Tanı konulduğu esnada tedavi olanağını da sağlayan laparoskopi en uygun yaklaşımdır. YÜT'ndeki başarı oranlarının giderek artmasıyla birlikte, tubal faktör infertilitesindeki cerrahi yaklaşım endikasyonları giderek azalmaktadır (15); fakat bazı hastalarda ise transvajinal ultrasonografik oosit toplanması (OPU)'ya kolaylık sağlanabilmesi için IVF uygulaması öncesinde; laparoskopi ile hidrosalpenksi olan tüplerin alınması ve de adezyolizis yapılması gerekmektedir (62).

2.1.2.3 Açıklanamayan infertilite

İnfertilitenin %10-30'undan sorumlu olan açıklanamayan infertilite tanısı, bir çiftin 24-36 ay boyunca gebeliği elde edememesi ve tam bir infertilite değerlendirmesi (normal semen analizi, ovulasyonun objektif kanıtları, normal uterin kavite, bilateral tubal açıklık) sonucunda infertilite nedeni olabilecek bir sebep bulunmaması ile konulur. Nedeni açıklanamayan infertilite normal reproduktif etkinliğin alt sınırını (aylık fekundabilite %2-4) veya standart değerlendirme metodlarıyla tanısı konulamayan sperm veya oosit fonksiyon anormallikleri, fertilizasyon, implantasyon veya pre-embriyo gelişim bozukluklarını içerir. Açıklanamayan infertilitesi olan çiftler IVF ile tedavi edildiğinde, tubal faktör infertilitesi olan çiftler ile karşılaştırıldıkları zaman; azalmış oosit fertilizasyon oranları ve azalmış embriyo klivaj hızları gösterirler (63). Bu da oosit ve sperm fonksiyonunda küçük fonksiyonel anomaliler olduğunu düşündürmektedir (63). Spontan gebelik olasılıkları yaş ve infertilite süresiyle ters orantılıdır: 3 yıllık infertiliteden sonra aylık %1-2 olan spontan gebelik oranları, 5 yıllık infertiliteden sonra ise aylık %1'in altına

düşmektedir (1). Bu bulguların ışığında açıklanamayan infertilite tanısı almış hastalarda öncelikle ampirik tedavilere (ovulasyon indüksiyonu, IUI, IVF) başlanmalıdır. Bu hastalarda 2-3 follikül geliştirecek şekilde kontrollü ovaryen hiperstimulasyon yapılması ve IUI'nin eklenmesi gebelik oranlarını, beklentisel olan %1-2'den %8-15 aralığına çıkarmaktadır (64). Minimal-hafif düzeyde endometriozisin infertiliteye etkisi olduğu düşünülmektedir, her ne kadar bazı çalışmalar bu endometriozis odaklarının ortadan kaldırılmasının gebelik oranlarını artırdığı gösterse de (65; 66); bu konudaki tartışmalar devam etmektedir (67).

2.1.2.4 Servikal Faktör

Servikte bulunan östrojene duyarlı bezler tarafından preovulatuvar dönemde miktarı ve akışkanlığı artan servikal mukus, vajina ve ejakulattan spermleri yakalayıp, diğer seminal proteinleri ayırır; anormal morfolojik spermleri ve mikroorganizmaları filtre eder. Spermler için rezervuar görevi (72 saat) yapar ve spermleri biyokimyasal olarak hazır hale getirir (kapasitasyon spermin servikal mukus ile temasıyla başlar).

Servikal faktör nadiren bir infertilite nedenidir. Spekulum muayenesi ve gerektiğinde servikal kültür ve mikroskopik incelemeler ile servisit'e yönelik tedaviler verilebilmektedir. Mukusun reseptivitesi, spermin bu mukus içine penetre olup olmadığı ve buradaki yaşama yeteneğini değerlendiren postkoital test (Sims-Huhner testi) bakılabilir. Bu testte bozulmuş, hareketsiz veya pıhtılaşmış spermlerin izlenmesi sonrası antisperm antikorlar araştırılabilir. Standart yöntemi veya yorumu bulunmayan bu postkoital testin kanıtlanmış tanısal bir değeri olmamakla birlikte, tedavi seçimini de etkilemediği için artık kullanılmamaktadır. Nedeni açıklanamayan infertilitede olduğu gibi bir tedavi yaklaşımı (ovulasyon indüksiyonu, IUI veya IVF) ile tanısı konulamamış servikal faktör nedenli infertilitede de başarılı sonuçlar alınmaktadır (1).

2.1.2.5 Uterin Faktör

Kadına ait infertilite nedenlerinin %2-5'ini oluşturmaktadır. Uterin patolojiler konjenital malformasyonlar, leiomyomlar, intrauterin adezyonlar, kronik endometrit ve poliplerdir. Embriyonun implantasyonunu engellemeleri haricinde 1.-2. trimester spontan gebelik kayıpları, preterm doğum, servikal yetersizlik, prezentasyon anomalileri ve intrauterin

gelişme geriliği ile ilişkili olup; tespit edilmeden IVF yapılan hastaların gebelik sonuçlarını olumsuz etkileyebilmektedirler. Bu anomalilerden bazılarının düzeltilmesiyle gebelik oranlarında artma gösterilmiştir (15).

Konjenital defektler (Mülleryan anomaliler) uterus, fallop tüpler, serviks ve üst vajenin anatomik yapısını üstlenen müllerien kanalların komplet (Rokitansky-Küster-Hauser Sendromu) veya parsiyel agenezisi, hipoplazileri, vajinal septum, unikornu uterus, uterin didelfis, bikornu uterus, septat uterus, arkuat uterus ve dietilstilbestrol (DES) ilaç ilişkili uterin anomalileri şeklinde olabilmektedir (68). Bu anomaliler genellikle gebelik kayıpları ve obstetrik komplikasyonlarla ilişkilidirler; gebe kalma potansiyelini genelde etkilememektedirler. Tüm konjenital uterin anormallikler arasında septat uterus en sık görülen ve reproduktif yetersizlik ve obstetrik komplikasyonlarla en sık ilişkili olan durumdur (%80 gebelik kaybı, %10 preterm doğum, %10 term doğum). Sıklığı infertil ve fertil kadınlarda benzer oranlarda iken (%3) (69); tekrarlayan gebelik kaybı olanlarda (%5-10) (70) ve geç abortus ile immatür doğum yapanlarda ise (>%25) daha yüksektir (71). Septum tedavisi günümüzde histeroskopi ile kolaylıkla yapılabilmektedir. Tedavi ile septumun giderilmesi gebelik prognozunu %75'lere kadar olumlu yönde etkilemektedir (%80 term doğum, %5 preterm doğum, %15 gebelik kaybı) (1; 72). Uterus agenezi veya hipoplazisinde hastalara IVF ile kendi oositleri kullanılarak oluşan embriyonun taşıyıcı anne uterusuna transferi yapılabilir. Uterus bikornusta Strassman operasyonu ile deformasyon düzeltilebilir. Uterus arkuatus; fundustaki minimal bikornus oluşumudur, gebelik prognozunu etkilememektedir (73).

Edinsel nedenler arasında myoma uteri, endometrial polipler, uterin sineşiler ve endometrit yer almaktadır. Gebelik ve implantasyon oranları submuköz myomlarda düşükken (74); endometrial kaviteye bası yapmayan ve orta düzeyde büyüklüğü olan (≤ 4 cm) intramural myomlarda (75) ve subseröz myomlarda da normaldir (76). Endometrial kavitede myom varlığında bir implantasyon belirteci olan HBEGF (heparin binding epidermal growth factor) düşük bulunmuştur (77). Zeyneloğlu ve arkadaşları bölümümüzden yayınladıkları bir makalede IVF tedavisi sırasında myomların büyüdüğü ve proliferatif büyüme faktörleri saldığı gösterilmiş, bunun da implantasyonu olumsuz etkilediğini öne sürmüşlerdir (78). İnfertil kadınlarda %3-5 sıklıkta karşılaşılan endometrial poliplerin asemptomatik ve iyi tanımlanmış küçük çaplı olanlarının tedavi edilmesi gerektiği konusunda henüz elde kanıt yoktur. Semptomatik olan (anormal kanama), geniş çaplı poliplere ise histeroskopi

uygulanmalıdır. Genellikle iyatrojenik travma sonrası oluşan; bazen de kronik enflamatuvar durumlar neticesinde endometrial damarlanma ve fonksiyonunda bozulma ile oluşan intrauterin adezyonların (Asherman Sendromu) tedavisinde histeroskopi uygun bir yaklaşımdır. Prognoz lezyon şiddeti ile orantılı olup, tedavi sonrası başarılı gebelik ve doğum oranları %25-70 arasındadır (1). Kronik endometrit, reproduktif yetersizliğin nadir nedenlerinden birisi olup; klinik servisit, kronik veya rekürren bakteriyel vajinozis veya pelvik enfeksiyonu düşündüren kadınlarda ayrıntılı inceleme ve tedavi yöntemleri uygulanmalıdır.

Bir diğer uterin faktör ise açıklanamayan infertilitede de kısmen bahsedilen, endometrial faktör içinde yer alan implantasyon yetmezliği ve endometrial reseptivite anormallikleridir.

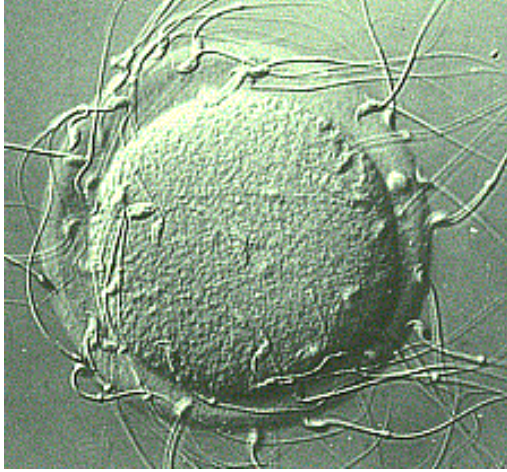
2.2 İMPLANTASYON YETMEZLİĞİ VE ENDOMETRİAL RESEPTİVİTE

İmplantasyon, endometrium ile embriyo arasında oluşan karmaşık bir diyalog (79) çerçevesinde embriyonun desiduaaya yapışması, bazal membrana doğru inmesi ve stromaya invaze olmasıdır. Bu diyalogu sağlayan büyüme faktörleri, hormonlar, adezyon molekülleri, ekstraselüler matris proteinleri, sitokinler, prostoglandinler ve immunolojik faktörleri kapsayan komplike bir sistemdir. Bu sistemde meydana gelen herhangi bir aksaklık, implantasyonu engellemektedir. İmplantasyon mekanizmaları tam olarak aydınlatılmadıkça endometrial uygunluğun kesin bir tanımını yapmak zordur.

2.2.1 İMPLANTASYONA HAZIRLIK

Midsiklus Luteinizan Hormon (LH) pikinden 10-12 saat sonra oluşan ovulasyondan, 2-3 dakika içinde oosit fallop tüpünün ampullasına ulaşır. Oosit salınımından sonra yaklaşık 8-24 saat fertilize olabilme yeteneğine sahipken (80); sperm için bu süre 3-5 gündür. Döllenme yeteneğine kavuşmak için spermatozoa önce vajende kapasitasyona uğramalı yani fertilizasyon yeteneğini kazanmalıdır. Bunlar akrozom reaksiyonuna girme yeteneği, zona pellusidaya bağlanma yeteneği ve hipermotilitenin kazanılması şeklinde olur. İn vitro olarak kapasitasyon yaklaşık 2 saat kadar sürer (81). Sperm ve oosit teması genellikle tuba uterinanın ampulla bölgesinde olur. Oositin hemen yanında oosit hücrelerinden veya inkübasyon sonrası follikül sıvısı içinde salgılanan maddelerin etkisiyle; sperm, korona

radiata hücreleri arasında kuyruk hareketleri ile girerek bir yandan mekanik olarak oosite doğru ilerlerken diğer yandan kapasitasyon sonucunda akrozomal reaksiyonun ortaya çıkardığı hiyaluronidaz enzimi ile korona radiata hücrelerin dağılmasını sağlar (82) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1; Fertilizasyon

Bir veya daha çok spermatozoa zona pellusidayı deler. Ancak tek bir spermatozoa kendi kuyruğunu kaybederek oolemma ile kendi membranı füzyona uğrar. Bu milisaniyelerle olan olay sırasında oolemma'dan kalsiyum akışı olmasıyla oolemma geçirgenliğini kaybeder (zona reaksiyonu) ve böylece polispermi önlenir. Birleşme sadece akrozom reaksiyonu geçiren sperm ile olur. Spermatozoanın oosit stoplazması içine girmesiyle lizozomal enzimler içeren kortikal oosit granülleri serbest kalır. Spermatozoa için özgül olan reseptörler yok edilir. Bu arada sekonder oosit (M2 oosit), 1. Polar cisimciğini atmış durumda olarak II. mayozun metafazında duraklamış durumdadır. Penetrasyonla birlikte II. Mayoz tamamlanır ve ikinci polar cisimcik atılır. Döllenmenin 16-20. saatinde dişi ve erkek pronükleuslar karşı karşıya gelir (pronüklear oosit) 18-26 saatlerde birleşir (syngamy), ve daha sonrasında da crossing over ile zigot oluşur (83) (Şekil 2.2).



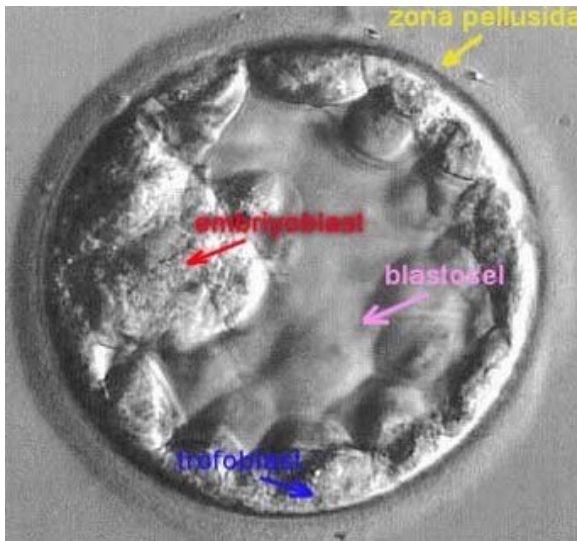
Şekil 2.2; Zigot

Daha sonra zigotta tekrarlayan mitoz bölünmeleri ile yarıklanmalar oluşur, buna bağlı olarak hücre (blastomer) sayısında hızlı bir artış olur. 26-42. saatte 2 hücreye, 45. saatte 4 hücre, 66-72. saatte 8 hücre olur. Başlangıçta zigot iki blastomere ayrılır, daha sonra yarıklanmalar ardarda devam eder. Fertilizasyondan sonraki 3. günde 8-30 blastomerli morula evresine (Şekil 2.3) ulaşıncaya; ovaryen steroidler, otonom sinir sistemi, ve embriyonun kendi gelişimi sayesinde uterusu giriş (gonadotropin pikinden 4 gün, ovulasyondan 3 gün sonra) yapar (84).



Şekil 2.3 Morula (3. gün)

Morula uterusu ulaştığında, uterus boşluğundaki sıvı zona pellusidayı geçip morula içinde toplanmaya başlar. Giderek genişleyen hücrelerarası boşlukların birleşmesiyle blastosöl denilen tek bir boşluk oluşur. 4-5. günde 30-200 hücreli embriyoya ulaşır ve blastokist (preimplantasyon embriyosu) adı verilir. Blastokistte, uyuyan 500 üzerinde gen eksprese olup; transkripsiyone olmaya başlar (68). Blastokist yapısının dış kısmını, ince, plasental yapıların kaynağını oluşturan trofoblastlar (trophektoderm); ve iç kısmını da embriyonik yapıların kaynağını oluşturan embriyoblastlar oluşturur (84) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4; Blastokist (4.-5. gün)

Fertilizasyondan sonraki yaklaşık 5. gün veya 5. günün sonunda aktive blastokistin zona pellusidası, blastokistten salınan sytripsin ve endometriumdan salınan triptaz ve benzeri proteolitik enzimler ile genellikle anembriyonik polden lizise uğrayarak yırtılır ve blastokist hatching oluşur (Şekil 2.5). Sonrasında embriyo implantasyona hazır hale gelir. Bazen de hatching öncesinde veya sırasında trofoblastların zonal penetrasyonları ile stoplazmik projeksiyonlar ortaya çıkabilir (85).

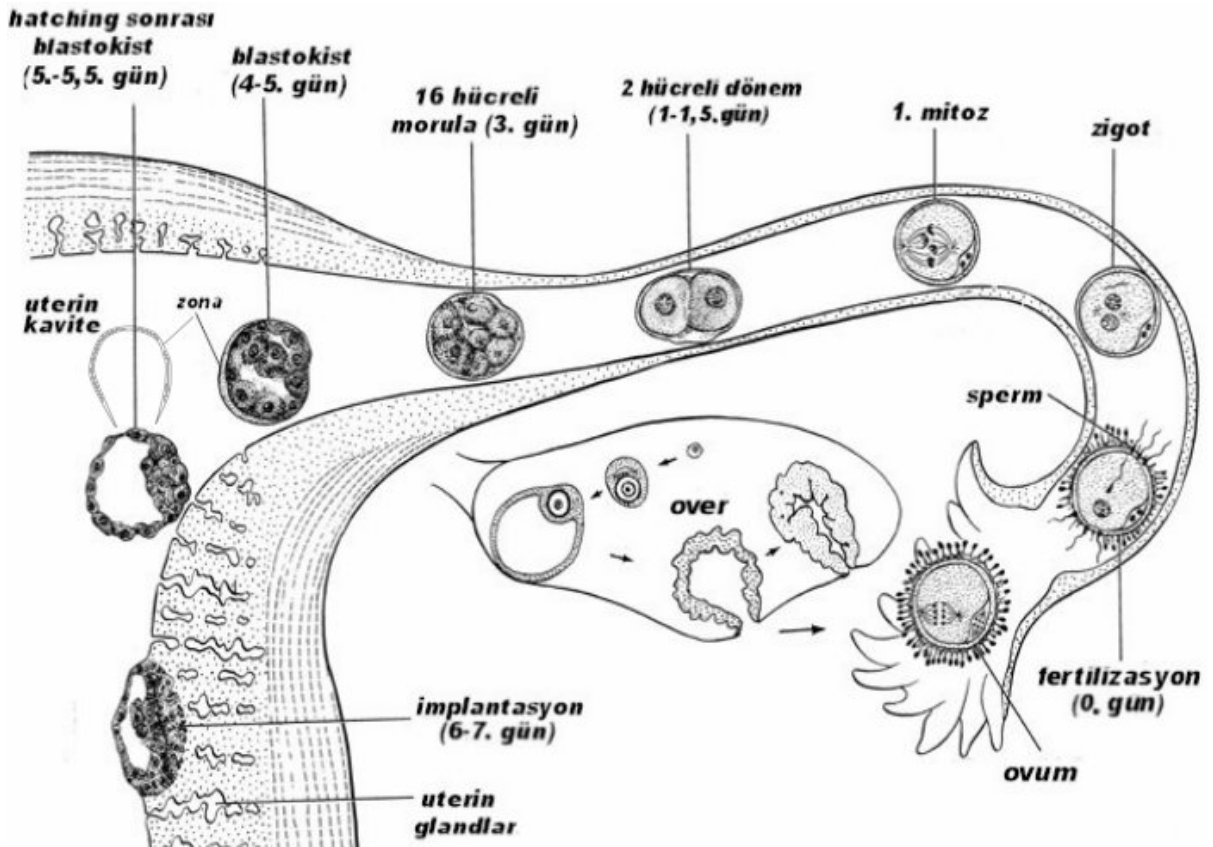


Şekil 2.5; Blastokist hatching, 5-5,5. gün

Reseptif bir endometrium oluşması için, endometrium da kendini implantasyona hazırlar. Önceden östrojene maruz kalmış proliferatif endometrium, ovulasyon sonrası korpus luteumdan salınan progesterona yanıt olarak epitel hücrelerince glandüler sekretuar transformasyonuna uğrar. Geleneksel olarak bu sekretuar transformasyon, midluteal fazda alınan biyopsinin histolojik olarak incelenmesiyle de gösterilebilir. Ancak histolojik olarak normal olan endometrial biyopsi, fonksiyonel ve reseptivitenin normal olup olmadığını yansıtmamaktadır. Devamlı östrojen varlığına rağmen preovulatar dönemde sabit olan (5-6 mm) endometrial yükseklik ile birlikte progesteron etkisiyle ovulasyondan 3 gün sonra epitelyal proliferasyon durur. Karakteristik endometrial hücre farklılaşması ve immun hücre infiltrasyonu olur (86). Stromal elemanlar ise büyümeye devam eder; böylece bezlerde ve spiral damarlarda intussepsiyon ve sıkı-sarmal yapılanmalar ile angiogenez ve vasküler remodeling (87); kıvrılmalar ve ödem oluşur. Glandüler hücrelerden kaviteye sekresyon (glikoprotein ve peptidlerin) başlar. Siklusun 17-18. günlerinde glikojen ve lipid vakuelleri intrasellüler alanda oluşarak intralüminer alana ilerler. Postovulatar 6-7. günde stromal ödem ve sekresyon en tepe noktaya gelir (endometrium da 10-14 mm kalınlığına ulaşır) ki bu da blastokist implantasyonu ile aynı zamana denk düşmektedir (1).

2.2.2 İMPLANTASYON

İmplantasyon, hem embriyonik hem maternal aktif katılımın söz konusu olduğu sıkı koordine edilen bir olaydır. Blastokist hatching sonrası, LH pikinden 7-8 gün sonra, fertilizasyonun 5-7. günlerinde; morulanın uterin kaviteye girişinin 1-4. gün sonrasında gerçekleşir (Şekil 2.6).

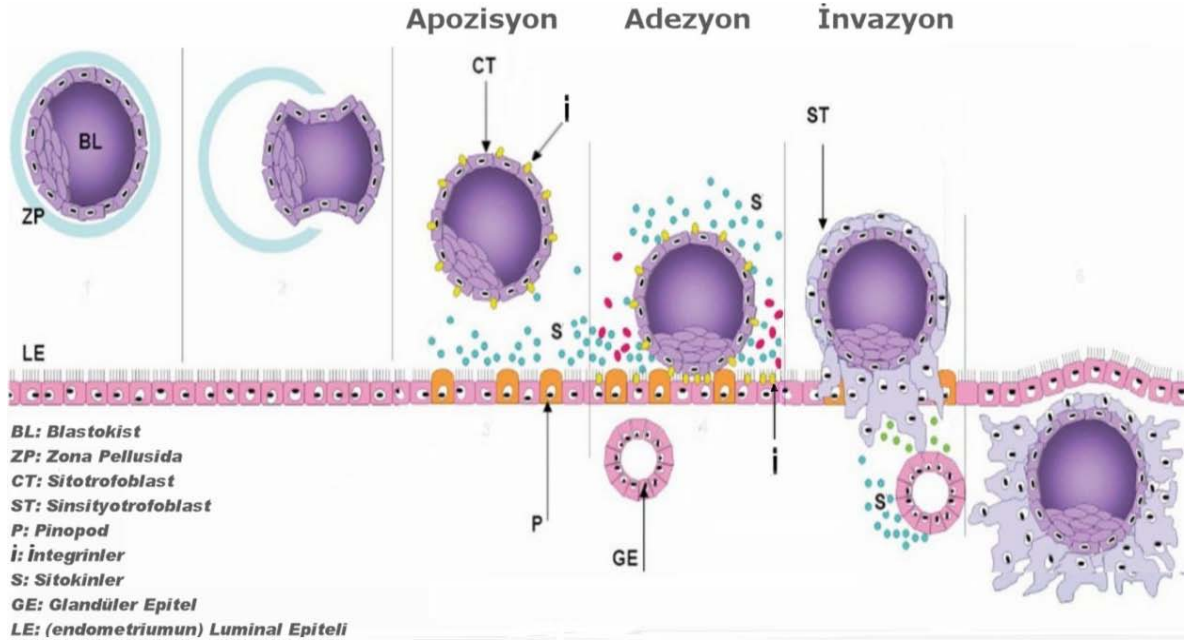


Şekil 2.6; İmplantasyon

Genellikle implantasyon sahası olan endometrial kavitenin üst-arka duvarına parakrin sinyallerle gelen blastokist; embriyonik kutbundan (embriyoblastlara yakın bölgesi) desidual (orta-geç sekretuar endometrial) epitele tutunur. Embriyonik kutup üzerindeki trofoblastlar, salgıladıkları proteolitik enzimlerle desidual epitel hücreleri arasından penetre olmaya başlarlar. Sonrasında embriyo bazal membrana doğru inerek, stromaya invaze olur (2).

İmplantasyon 3 aşamadan oluşur (88) (Şekil 2.7);

- 1) **Apozisyon** (hazırlık): Blastokistin embriyonik kutbuyla endometriuma teması
- 2) **Adezyon**: Blastokistin endometriuma yapışması
- 3) **İnvazyon**: Gömülme süreci



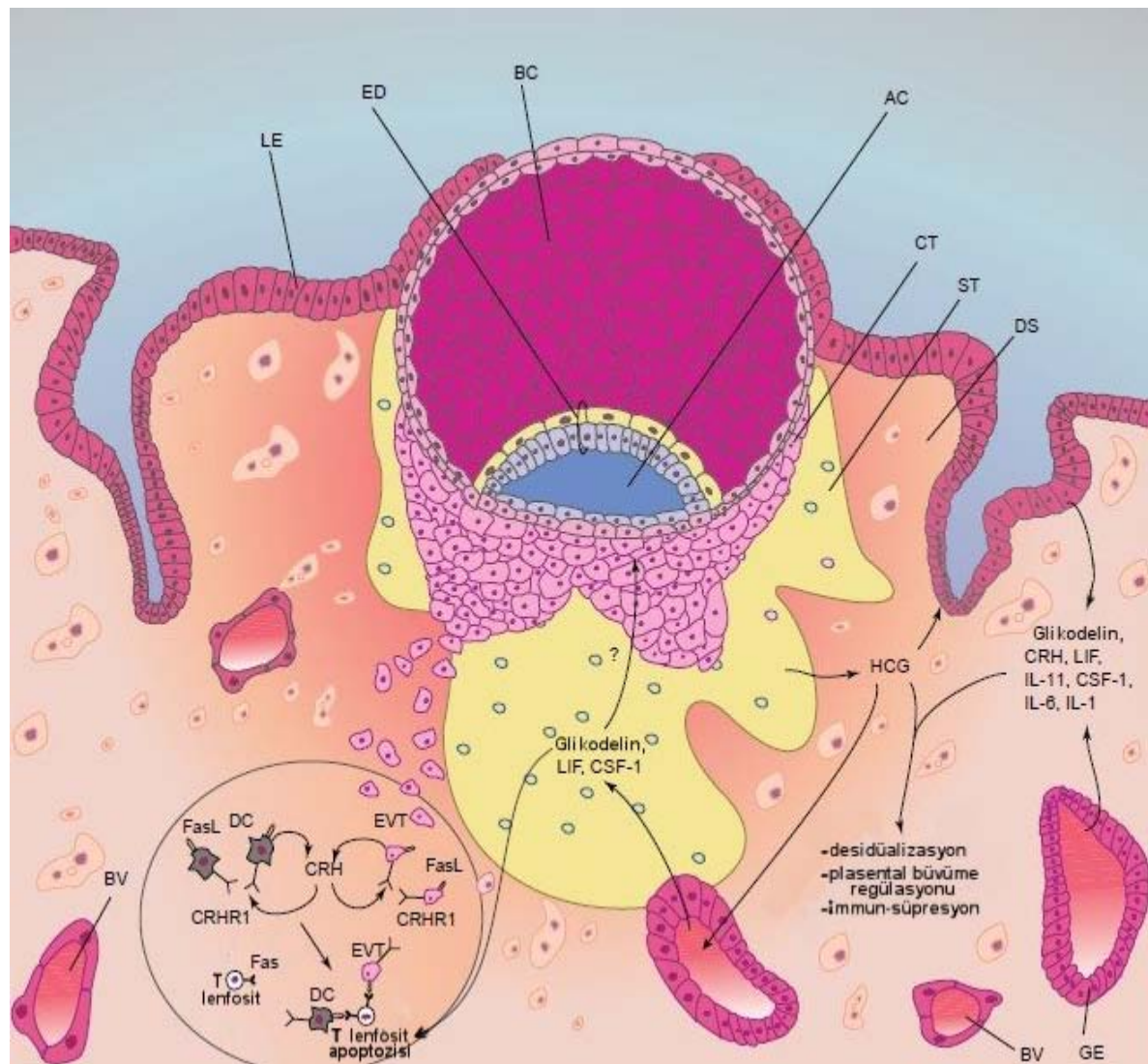
Şekil 2.7; İmplantasyon aşamaları

İmplantasyon için embriyo yüzeyinin matürasyonunun olması gerektiği gibi uterin sıvı hormonal-protein içeriğinin de uygun olması ve doğru sinyallerin de üretilmesi gerekir. Sitokinler, büyüme faktörleri ve reseptörleri ilişkili blastokist trofoblastlarının desidual hücrelere teması sonrası membranlar arasında junctional kompleksler oluşur. Sonra integrinler ve selektinler gibi adezyon molekülleri, salgılanan enzimler ve ekstrasellüler-intersellüler matriks komponentleri üzerinden blastokistin adezyonu ve invazyonu başlar.

Trofoblastlar sinsityo ve sito-trofoblastlara farklılaşırken; embriyoblastlar da epi ve hipoblastlara farklılaşır. Trofoblastlar enzimlerin desteğiyle ve hareketleriyle, yer yer epitel altına ve bazal membran arasına girerek, yer yer epitel hücrelerine füzyon ile; bazen de fagozitoz ile invaze olmaya başlar. Ayrıca desidual hücreler kontakt inhibisyonla da trofoblastlardan uzaklaşırlar (1). Maternal damar invazyonu spiral arter duvarları yıkılarak endovasküler trofoblastlar ile sinüzoidal sak oluşması şeklinde sağlanarak; ovulasyonun 14. gününde plasenta oluşmaya başlar (89). Büyüme faktörleri, sitokinler ve enzimlerin

teşvik edici ve kısıtlayıcı etkilerinin dengelenmesiyle de; trofoblastik invazyon sınırlandırılarak kontrol altında tutulmuş olur (90).

Bütün bu implantasyon öncesi ve implantasyon aşamaları, desidua ile embriyo arasında, çözünür büyüme faktörleri, sitokinler, kemokinler, reseptörler, hormonlar, adezyon molekülleri, enzimler, ekstraselüler matriks proteinleri, peptidler, lipidler, prostoglandinler ve immunolojik faktörleri kapsayan ve endometrial reseptiviteyi oluşturan çok hassas bir denge ve kompleks bir diyalog (79) çerçevesinde gerçekleşmektedir (Şekil 2.8).

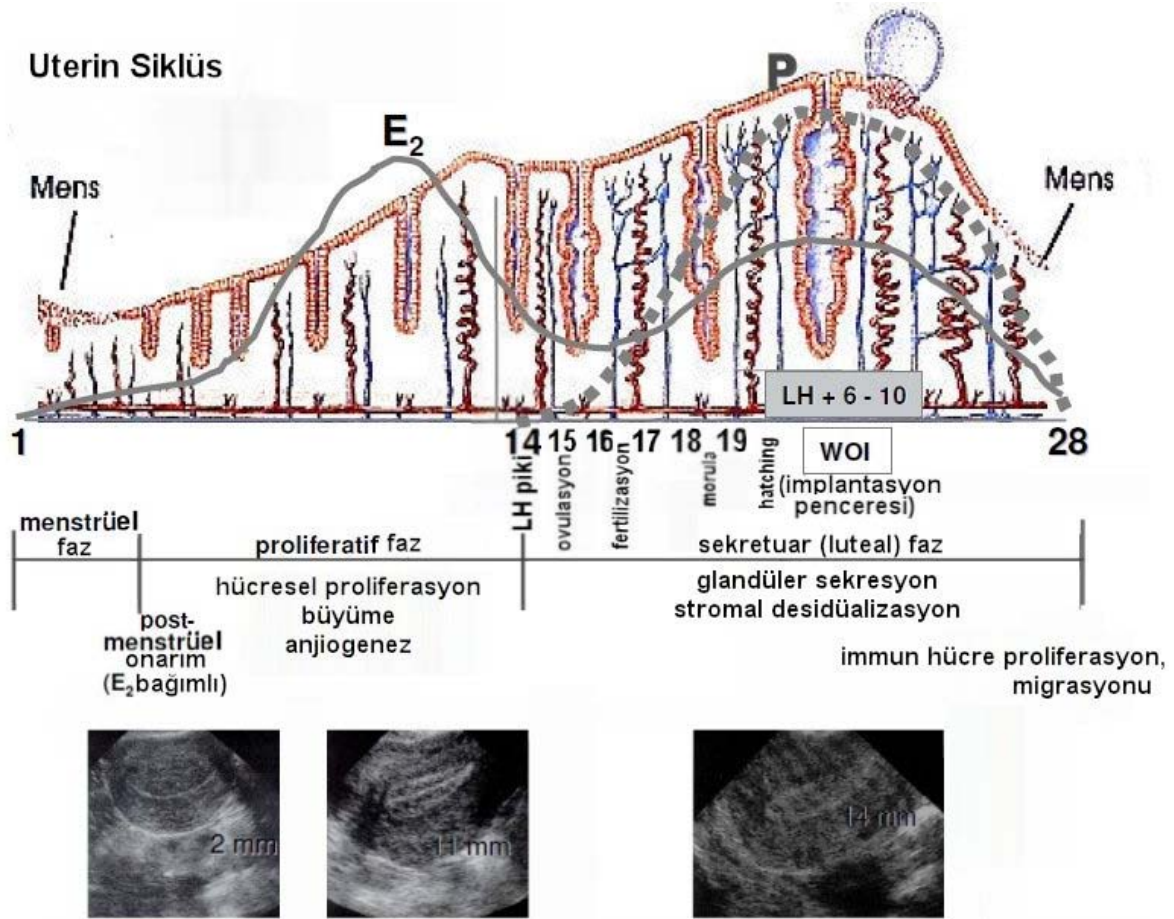


Şekil 2.8; İmplantasyon embriyo-endometrium diyalogu (91)

AC: Amniotik Kavite, BC: Blastokist Kavitesi, BV: Kan Damarı, CRH: Kortikotropin Serbestleştirici Hormon, CRHR1: CRH Reseptör tip-1, DC: Desidual Hücre, DS: Desidualize Stroma, ED: Embriyonik Disk, EVT: İnvazif Ekstrasellüler Trofoblast, FasL: Proapoptotik Fas Ligandı

2.2.3 ENDOMETRİAL RESEPTİVİTE PENCERESİ VE RESEPTİVİTE (İMLANTASYON) BELİRTEÇLERİ

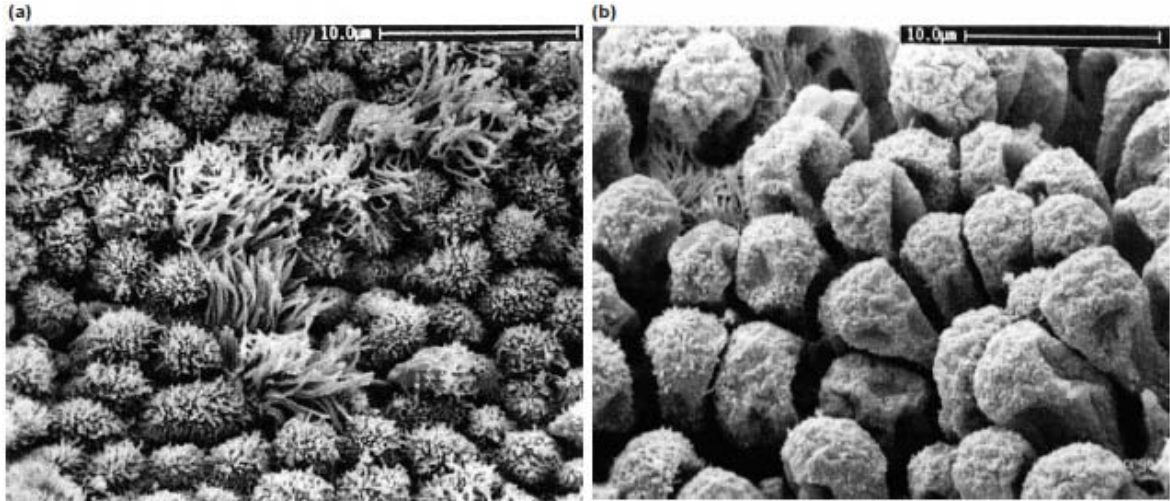
Endometrial reseptivite penceresi 28 günlük normal bir siklusun 19-24. günleri arasına sınırlandırılmıştır (92; 93) (Şekil 2.9).



Şekil 2.9; İmlantasyon penceresi (reseptif dönem) (94)

Allen ve arkadaşlarının bir çalışmasında ovulasyon sonrası 8.-9. ve 10. günlerde idrarda hCG (insan Koryonik Gonadotropini) saptanması ile implantasyonların %84'ünün gerçekleştiği bir reseptif fazın varlığı (implantasyon penceresi) gösterilmiştir. Bu çalışmada idrar hCG'si en erken 6. ve en geç de 12. günlerde saptanmış olup; daha geç saptanan hastaların erken gebelik kayıplarında anlamlı bir artış olduğu belirtilmiştir (95).

Endometrial reseptivite (alıcılık), progesteron etkisi altındaki luminal epitel hücrelerinin apikal mikrovillilerinin düzleşerek yerine; reseptivite penceresi boyunca oluşup sonra kaybolan yumuşak çıkıntılar olan pinopodlar tarafından sağlanmaktadır (96) (Şekil 2.10). Pinopodlar, implantasyon bölgesindeki endometrial kavite sıvı konsantrasyonunu etkileyerek; gerekirse bir miktar absorbe ederek blastokistin adezyon ve invazyon süreçlerine yardımcı olur (97).



Şekil 2.10; Endometriumun elektron mikroskopisi ile incelenmesi (a) prereseptif fazda ovulasyon sırasında sekretuar hücreler dense mikrovillilerle kaplı (b) reseptif fazda implantasyon penceresi döneminde desidua, sekretuar hücreler projeksiyonlar (pinopodlar) oluşturmuş (98)

İmplantasyon penceresi boyunca temel hormon olan progesteron, genellikle stromal komponentte bulunan PR-B (progesteron reseptör-B) üzerinden etki gösterir (86). Proliferatif fazda integrinler üzerine negatif etkili β -östrojen reseptörleri, luteal faz progesteron artışı ile azaltılmış olur (99). Stromal hücre desidualizasyonu ile birlikte prolaktin (PRL), doku faktörü ve IGFBP-1 (insulin-benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-1) gibi desidual proteinlerin salgılanması ve sentezi de olur (100). Orta-geç sekretuar fazda desiduada, %70'i büyük granüler NK (naturel killer) hücreleri olmak üzere, T lenfositleri ve makrofajlardan oluşan kemik iliği kaynaklı immun hücre infiltrasyonu olur. Fertilizasyon sonrası endometriumda midluteal fazda implantasyon öncesi olan değişim; fekdasyon olmayan sikluslarda ise olmamaktadır (101; 102). Hormonal gereksinim açısından primatlarla yapılan çalışmalarda implantasyon için östrojen gerekmemekte; sadece progesteron yeterli olmaktadır (103). İnsanda ise desidualizasyon için fertilizasyon sonrası overlerden salınan östrojen ve progesteron kombinasyonu kritiktir. Uterustaki mast hücreleri ve embriyoda sentezlenen histamin ile de desidual yanıtın başlatılabileceği çalışmaları yapılmıştır (104).

Morfolojik değişikliklerden ayrı olarak, son zamanlarda luteal fazın değişik evrelerini gösteren pek çok moleküler belirteç tanımlanmıştır; bu implantasyon penceresinde salgılanan faktörlere reseptivite (implantasyon) belirteçleri denilmektedir (Tablo 2.5) (5; 12; 86; 105).

Tablo 2.5; İmplantasyon Belirteçleri (5; 12; 86; 105):

Glikoproteinler, Proteinler, Lipidler	Sitokinler, Hormonlar, GAG	Büyüme Faktör-leri	Adezyon molekülleri, Reseptörler	Pinopodlar, Enzimler	Genler (up-regüle olanlar, down-regüle olanlar)
Glikodelin	M-CSF (CSF-1)	HB-EGF	İntegrinler $\alpha\beta_3$, $\alpha\beta_1$, $\alpha_4\beta_1$	Pinopodlar	PAEP geni
MUC-1	LIF	TGF- α , β	L-selektin		HOXA-10,11 geni
	IL-1 α , β ,6,11,15	IGFBP-1	E-kaderin		DKK1 geni
	TNF- α	IGF-1,2	ICAM-1 (CD54)	PAI	DAF CD55 geni
Laminin (LAM)	İnterferon- γ (inf- γ)	VEGF		Histon deasetilaz inhibitörü	Osteopontin (SPP1) geni
Fibronektin	PAF	EGF		COX-1,2	GADD45 geni
GLUT-1		PDGF	Osteopontin	Katepsin	APO-D,E genleri
Amphiregülin		FGF	HER -1,4	Glutaredoksin	MAOA geni
O-glikozile proteinler	Progesteron	KGF	Progesteron reseptörü-B	MMP-2,9	MAP3K5 geni
Galektin-1,3,9	Prolaktin	EPF	LIF reseptörü	TIMP-1	IL-15 geni
Ephrin peptidleri	CRH		CXCR-1 reseptörü		C4PBA geni
α -SMA	hCG		Fibronektin reseptörü		EFNA1 (Ephrin A1) geni
Doku Faktörü	Kalsitonin		LAM-2,4 reseptörü		CLDN4 geni
	Leptinler		IL-1Rt1		TCN1 geni
			CRHR-1 reseptörü		LAM β 3 geni
Prostaglandin E ₂			Gp-130 reseptörü		COMP geni
Tromboksanlar	Hyaluroran				S100P geni
					GAST geni
					CP geni
					PLA2G2A geni
					GZMA geni
					GNLY geni
					GGTL2 geni
					XCL2 geni
					KIAA0367 geni
					DYNLT3 geni
					CRSP2 geni
					CRABP2 geni
					MSX2 geni
					SFRP4geni
					MMP7 geni
					OLFM1 geni

APO: Apolipoprotein, CD: Kompleman, CLDN4: Klaudin 4, (CPE reseptörü), COMP: Kıkırdak Oligomerik Matriks Proteinini, CP: Serüloplazmin (ferroksidaz), CRABP2: Hücresel Retinoik Asid Bağlayıcı Protein-2, CSRP: Sistein ve Glisinden Zengin Protein-2, C4BPA: Komplamen Komponent-4 Bağlayıcı Protein, DAF: Kompleman bozucu faktör, DKK1: Dickkopf homologu-1(Xenopus laevis), DYNLT3: Dynein hafif zincirli Tctex-3, EPF: Erken Gebelik Faktörü, FGF: Fibroblast Büyüme Faktörü, GADD45A: Büyüme Durması ve DNA-hasar-indükleyicisi- α , GAG: Glikozaminoglikan, GAST: Gastrin, GBP2: Guanilat Bağlayıcı Protein-2 (interferonla-indüklenebilen), GGTL2: Gamma-glutamilttransferaz-benzeri protein-2, GLUT: membran Glukoz Taşıyıcıları, GNLY: Granülizin, GZMA: Granzim A(1) (sitotoksik T-lenfosit-ilişkili serin esteraz-3), hCG: human Koryonik Gonadotropin, HER: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü, ICAM: İnterselüler Adezyon Molekülleri, IL1-Rt1: İnterlökin-1 Reseptör tip-1, KGF: Keratinosit Büyüme Faktörü, MMP: Matriks Metalloproteinaz, MMP7: Matrilysin, MSX2: Msh homeobox 2, OLFM1: Olfaktomedin-1, PAEP: Progesteron ilişkili Endometrial Protein (PP-14, Glikodelin), PAF: Platelet Aktive-edicisi Faktör, PAI: Plazminojen Aktivatör İnhibitörü, PDGF: Platelet-kaynaklı Büyüme Faktörü, PLA2G2A: Fosfolipaz A2 grup IIA, SFRP4: Salgılanmış Kıvrılma-ilişkili Protein 4, SPP1: Salgılanmış Fosfoprotein 1 (osteopontin), S100P: S100 kalsiyum bağlayıcı Protein, TCN1: Transkobalamin-1, TGF: Transforme-edicisi Büyüme Faktörü, TIMP: Metalloproteinaz Doku İnhibitörü, TNF: Tümör Nekroz Faktör, VEGF: Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü, XCL2: Kemokin (C motif ligand 2, α -SMA: α -smooth muscle actin.

Blastokistin yüzey epiteline adezyonu öncesinde ve hatta hatching öncesinde bile anne ile fetus arasında bu diyalog başlamıştır. Fertilizasyon sonrası ilk 6-24 saat içinde maternal serumda, bir otokrin büyüme faktörü ve immun-süpresan olan Erken Gebelik Faktörü (EPF) (chaperonin-10 homoloğu) tespit edilebilmiştir (106). İmplantasyon öncesi overlerden, muhtemelen embriyo kaynaklı bir sinyale sekonder olarak üretilirken; implantasyondan sonra ise embriyo tarafından üretilmektedir. Blastokist üzerinde büyümeyi ve zona hatching'i başlatan EGF için de reseptörler bulunur.

Bir başka sinyal de overlere anti-luteolitik etki (korpus luteumun kurtarılmasıyla serum progesteronunun artması) gösteren; ve endometriumda da stromal hücrelerin desidual farklılaşmasını (107) sağlayan insan koryonik gonadotropindir (hCG). Fertilizasyondan 2 gün sonra, 6-8 hücreli embriyolarda β -hCG RNA transkripsiyonu saptanmış (108) olup; fertilizasyonun 8. gününde de in vitro hCG salgılandığı gösterilmiştir (109). Anne serumunda daha hCG saptanmazken bile yükselmiş olan östradiol ve progesteron düzeyleri; preimplantasyon dönemde blastokist tarafından uterin kaviteden overe, doğrudan salgılanan hCG ile korpus luteumun uyarıldığını göstermektedir (110). Primatlarda anti-hCG serumu ile erken gebelik kayıpları gösterilmiştir (111). Gebe olmayan babunlara eksojen hCG verilmesiyle, ovulasyon sonrası 18-25. günlerde uterus lümeninde bir implantasyon belirteci ve immun-süpresan olarak düşünülen Glikodelin up-regülasyonu gösterilmiştir (112). hCG verilmesiyle sinyal transduksiyonda etkili ve progesteron üzerinden desidual farklılaşmada önemli olduğu düşünülen bir sitoskeleton protein olan alfa-smooth muscle actin (α -SMA)'in stromal hücrelerden salınımı da indüklenmektedir (113). Geçirgen bir mikrodializ membranı ile insan uterin kavitesine hCG infüzyonu ile yapılan çalışmalarda; desidual farklılaşmada yardımcı IGFBP-1 ve PRL'nin, remodeling ajanı olan ve matriks yıkımında anahtar rolü olan MMP-9 (matriks metalloproteinaz-9)'un, LIF ve M-CSF gibi başka implantasyon belirteçlerinin ve neoanjiogenetik bir sitokin olan VEGF'in de arttığı gösterilmiştir (114). Bunun dışında hCG'nin kontrol için invazyon sınırlandırılması amacıyla proteaz inhibisyonu özelliği de vardır (115). İmplantasyon için önemli rolü olan anjiogenezin düzenlenmesinde VEGF'den başka FGF (fibroblast büyüme faktörü) ve seks steroidleri de etkilidir (1).

İmplantasyon esnasında maternal değişikliklerin önceliklerinden biri de blastokistten gelen sinyallere sekonder yüzey epitelinin HB-EGF ekspresyonu ile blastokist etrafındaki artan kapiller permeabilitedir (116). Preimplantasyon embriyolardan üretilen vasküler

permeabilite artışı yapan ve immun-süpresan olan PAF (platelet aktive edici faktör) (1) ve büyüme faktörleri olan IGF-1 (insülin benzeri büyüme faktörü-1) ve TGF- α (transforming büyüme faktörü- α) (117) da bildirilmiştir. Tavşanda PAF'ın EGF uyarımını da arttırdığı gösterilmiştir (118). CRH invazif ekstravillöz trofoblastlar (EVT) ve desidual hücrelerde T lenfositleri için proapoptotik Fas ligand (FasL) ekspresyonunu indükler (91). İnflamatuvar cevabın benzeri şekilde, implantasyona eşlik eden doku cevabı tarafından implantasyon bölgesinde blastokistler ve sekretuar endometrium tarafından salgılanan özellikle immun-süpresif etkileri de olan prostoglandin E₂ düzeylerinde de artış saptanmıştır (119; 120). Ratlarda prostoglandin sentez inhibitörleri verildiğinde vasküler permeabilite artışı ve desidual reaksiyonun inhibe edildiği gösterilmiştir (121). İnsan blastokisti apozisyon fazında estrogen ve progesteron hormonların da etkisiyle endometrial MUC-1'i artırırken; adezyon fazında ise endometrial anti-adhezif gibi etki gösteren MUC-1'i implantasyon bölgesinden temizlemesi gerekir (122). Endometriumdan ve blastokistlerden salınan bir sitokin olan IL-1 etkisi ile bir implantasyon belirteci olan endometrial β 3-integrin up regülasyonu meydana geldiği in vitro olarak gösterilmiştir (123). Farelerde IL-1 blokajı implantasyonu engellemektedir (124). Endometriumdan salınan diğer bazı sitokinlerden M-CSF (13) veya LIF (125) gen mutasyonuna sahip farelerde de implantasyon başarısızlığı gösterilmiştir. Blastokist ve desidua haricinde makrofajlar ve T lenfositlerden de sitokinler ve büyüme faktörleri salınımı mevcuttur (1). Erken embriyogenez boyunca trofoblastik dokunun yüksek proliferatif fazı da bu sitokinlere ve büyüme faktörlerine bağlıdır. Sonraki penetrasyon ve devamı maternal immun sistemin paternal antijenlere karşı olan yanıtı baskılamalarıyla ilişkilidir. Desidual doku, blastokist implantasyonu öncesi salgıladığı proteinlerle hem büyüme faktörleri aktivasyonuna; hem de immun sistemin baskılanmasına önemli katkılarda bulunur (126). Desidual NK hücreler ve diğer lenfositlerden salınan bazı sitokinlerle, trofoblastik HLA (insan lökositik antijeni) ekspresyonu ve bazen de trofoblast lizisi ile invazyon sınırlandırılarak kontrol altında tutulur (127).

Desidualize endometrium ve embriyo, adezyon moleküllerine (selektinler, integrinler) aracılık eden laminin ve fibronektin gibi ekstrasellüler matriks komponentlerini eksprese eder (89). Hücre-hücre, hücre-matrix bağlantılarında önemli olan integrinler, aynı zamanda kollajen, fibronektin ve laminin için de hücre yüzey reseptör topluluklarıdır. Laminin ve fibronektinlerin integrinlere bağlanmasıyla hücresel sinyal yolları aktive olur, enzimleri aktive eder, hücresel gen transkripsiyonuyla birlikte adezyon başlar. Özellikle implantasyon penceresinde pik yapan α 4 β 1 ve α v β 3 endometrial integrinleri (128) ve

trofoblast yüzeyinden eksprese olan integrinler çok önemlidir (129). Desidual büyüme uyarımı, proliferasyonu veya inhibisyonu, trofoblast invazyonu aktivasyonu veya engellenmesi aşamaları integrinlerin farklı subgrupları ekspresyonları ile sağlanır (130). İnvazyon aşamasındaki integrin ekspresyonu trofoblastik IGF-2 ve desidual IGFBP-1 ile aktive olurken; desidual TGF- β ile de inhibe edilir (131). TGF- β ayrıca sitotrofoblastların non-invazif sinsityotrofoblastlara farklılaşmasına da etki eder. IGFBP-1 integrin reseptörleri ve aktive kinaz yoluyla invazyonu uyarır (132). İmplantasyon penceresi sırasında integrin ekspresyonu noksanlığı infertiliteye neden olabilir (133). Trofoblast invazyonu sırasında bağlayıcı laminin 2 ve 4 isoformları içeren reseptörlerin desiduada arttığı gösterilmiştir (134). Ekstrasellüler matriksin proteinaz degradasyonu ile trofoblast migrasyonu (invazyonu) sağlanır. Endometrial hücrelerde ve blastokistlerde hücre-hücre iletişimde tirozin kinaz hücre membran reseptörlerine bağlanan ephrin peptidleri de gösterilmiştir (135). Preimplantasyon blastokistinin desiduaya tutunmak için, tropoektodermik yüzeyine lektin konkavalin A'yı bağlayarak yüzeyel glikoproteinlerinde bazı değişiklikler oluşturduğu düşünülmektedir (136). Trofoblastlardan integrin aracılı adezyon sonrası aktive olarak salınan matriks metalloproteinazlar (kollajenaz, jelatinaz ve stromelizinler), plazminojen aktivatörü (137), ürokinaz, serin proteaz gibi enzimler; invazyon boyunca intersellüler matriksin kollajen, elastin, jelatin, fibronektin, laminin ve glikoprotein içeriklerinin yıkımında çok önemlidir (138). Serin proteazlar ve plazminojen aktivatörleri ekstrasellüler matriksin proteolitik yıkımı için plazmin sağlarlar. Plazminojen aktivatörü, trofoblastlar üzerindeki kendi reseptörlerine bağlanarak limitli bir plasmin proteolizisi olur (139). MMP'lar Plazminojen aktivatörleri, sitokinler ve TIMP (MMP doku inhibitörleri) kombine etkileri ile üretilirler. Trofoblastlardan türetilmiş GnRH (gonadotropin serbestleştirici hormon) TIMP'i baskılayarak trofoblastik invazyonu artırır (140). Sitokinler ve büyüme faktörleri ile düzenlenen desidual major ürün PAI-1 (plazminojen aktivatörü inhibitörü) ile de trofoblastik invazyon kısıtlanır. Trofoblast göçünü takiben maternal vasküler invazyon serin proteazlar, MMP ile ve sitokinleri de içeren inflamatuvar sinyallerle uyarılan selektinler sayesinde olur (89). Yüzey molekülleri olan selektinler sadece implantasyon alanındaki desidual vasküler endotel hücrelerde görülürler.

Embriyo yokluğunda preimplantasyon blastokistinin ürettiği sinyaller olmadan, fonksiyonel olarak reseptif olan bir endometriyumun gelişimindeki bazı önemli basamaklar gerçekleşmiyor olabilir. Donör oosit sikluslarındaki yüksek reseptivite oranları daha

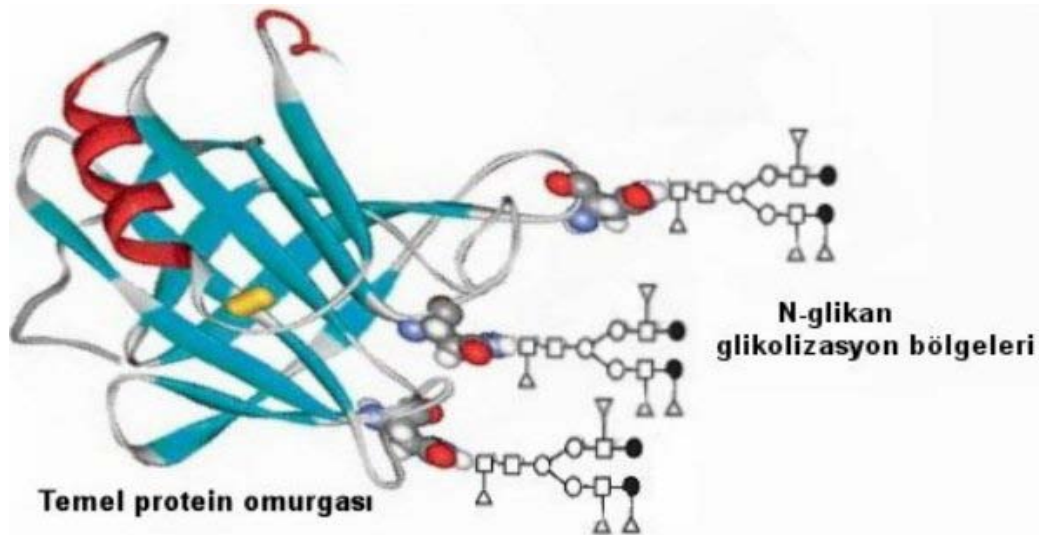
yüksek fertilité potansiyeli ile birlikte KOH (Kontrollü Ovaryen Hiperstimülasyon)'daki yüksek E₂ seviyelerinden daha fizyolojik olan bir hormonal mikroçevreden kaynaklanıyor olabilir (141). Reseptivite kazanıldığında endometrium, desidualizasyon reaksiyonunun başlatılması ve blastokistin yapışması olanağını sağlar (142; 143). Genetik olarak anormal embriyoların reddedilmesi de sinyal üretmemeleriyle alakalı olabilir (1).

2.2.3.1 GLİKODELİN

Yapısal özellikleri:

İnsan plasental organ spesifik $\alpha 2$ globulin, $\alpha 2$ -gebelikle-ilişkili endometrial globulin, zona-bağlanma önleyici faktör, PAEP (Progesteron-ilişkili Endometrial Protein) ve plasental protein 14(PP14) olarak da bilinen Glikodelin; glikozile β -lactoglobulin homoloğu olup (112), insan lipokalinler ailesine ait endokrin-düzenleyici bir glikoproteindir.

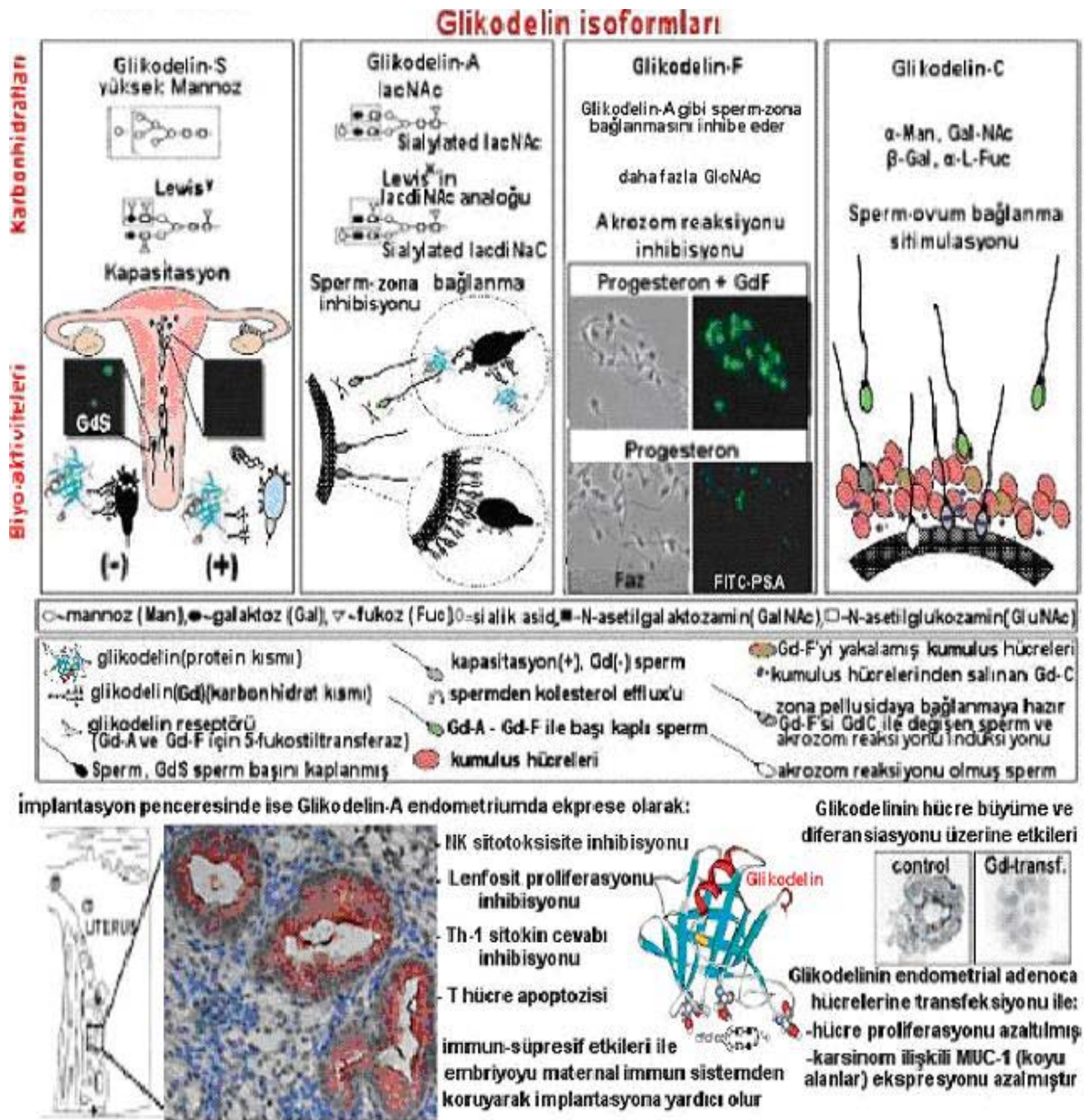
Glikodelin, 180 aminoasitten oluşan molekül ağırlığı 28 kilodalton (kDa) olan bir glikoproteindir (144); ve aynı temel protein omurgasını paylaşır. İçerdiği major kompleks tip N-glikan (Şekil 2.11); yani glikolizasyon bölgelerindeki değişikliklere göre farklı Glikodelin isoformları oluşur.



Şekil 2.11; Glikodelinin yapısı

Endometrial genlere bakıldığında PAEP (Glikodelin) geni 9q34 kromozom bölgesinde yer almaktadır (145). 7 ekson, 6 intron (146) ve promoter bölgesinden de glukokortikoid/progesteron üretimine cevap verdiği düşünülen 4 adet elementer bölgeden oluşmaktadır.

Fertilizasyonu etkileyen bu biyo-aktiviteleri Glikodelin glikolizasyonundaki değişikliklerin sağladığı güçlü post-translasyonel mekanizmalar ile regüle edilmektedir (147). Reprodüktif dokulardan S, A, F, C olmak üzere 4 glikoformu sınıflandırılmıştır (Tablo 2.6) (Şekil 2.12).



Şekil 2.12: Glikodelinin yapısı ve isoformları (147-150)

Tablo 2.6; Glikodelin isoformlarının biyo-aktiviteleri (151)

İsoform	Bölge/biyolojik sıvı	Fonksiyonu	Referanslar
Glikodelin-S	Seminal plazma	Kapasitasyonu inhibe eder	(150)
Glikodelin-A	Oosit	Sperm-zona bağlanmasını inhibe eder	(152)
	İmplantasyon bölgesi	İmmünsüpresyon	(4; 11) (153-155)
Glikodelin-F	Fallop tüpü	Akrozom reaksiyonunu inhibe eder	(156)
	Oosit	Sperm-zona bağlanmasını inhibe eder	(156)
Glikodelin-C	Oosit	Sperm-ovum bağlanmasını aktive eder	(157)

Glikodelin genel olarak reproduktif dokulardan eksprese olmakta olup (158); amniotik sıvı (159), endometrium (160) ve desiduada (161) bulunmaktadır. Kavite içine uterin sıvıya veya gebelikte de amnion sıvısına salgılanan (158) Glikodelin, ayrıca serumda da tespit edilebilir. Glikodelin eksprese eden diğer organ ve dokular; fallop tüpleri, over, meme dokusu, seminal vezikül, kemik iliği, ter bezleri ve bazı tümörlerdir (162).

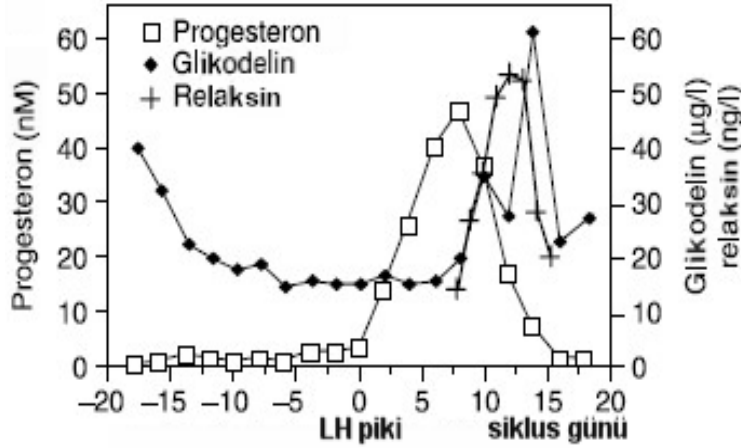
Endometriumda Glikodelin :

Glikodelin sentezi, sekretuar ve desidualize endometrial glandüler ve lüminer epitelden progesteron regülasyonu ile olmaktadır (163) ve siklus bağımlıdır. Proliferatif fazda down-regüle olan PAEP geni, sekretuar fazda, preimplantasyon ve implantasyon penceresi döneminde (12; 164) up-regüle olmakta; ve sonra geç sekretuar dönemde tekrar down-regüle olmaktadır (165). Buna mukabil Glikodelin düzeylerine bakıldığında proliferatif fazda, periovulatar fertil dönemde (166) ve erken luteal fazda düşük düzeylerde iken; implantasyon penceresine uyan midluteal fazda LH pikinden 6 gün sonra ve geç sekretuar dönemde iyice yükseldiği görülmüştür (167; 168).

Glikodelin salgılanması komplekstir. Glikodelin sentezi için over varlığı veya kontrolü gerekmektedir (169). Glikodelin-A ve Glikodelin-F progesteron ile regüle edilmektedir (151); ve tubal Glikodelin sentezi hem östrojen, hem de progesteron stimülasyonu ile olmaktadır (147). Temel olarak progesteronla indüklenmesine rağmen Glikodelin zamanlaması serum progesteron düzeyleriyle uyumlu değildir (170); Glikodelin ekspresyonu progesteron salgılanması başlangıcından göreceli olarak gecikmektedir (171).

Diğer hormonlarla etkileşimi:

Serum östrojen ile endometrial Glikodelin-A ekspresyonu arasında ve (170) serum hCG ile serum glikodelin konsantrasyonları arasında (172) korelasyon mevcuttur. Endometriumun Glikodelin sekresyonunu stimüle eden hCG reseptörleri vardır (173). Başka bir ovaryen faktör olan relaksin, Glikodelin-A transkripsiyonunu aktive eder (174). Glikodelin ve relaksin serum konsantrasyonları arasında da kuvvetli bir ilişki mevcuttur ve relaksin uygulanan kadınlarda siklusun herhangi bir zamanında glikodelin yapımında bir artış izlenmiştir (171) (Şekil 2.13). Ayrıca progesterona benzer şekilde (175) histon deasetilaz inhibitörleri de Glikodelin gen ekspresyonunu sağlayarak; hücre büyümesi, arresti ve farklılaşmasını indükler (176; 177).



Şekil 2.13; Glikodelin, Progesteron ve Relaksin'in siklus günlerine göre serum düzeyleri

Genel özellikleri:

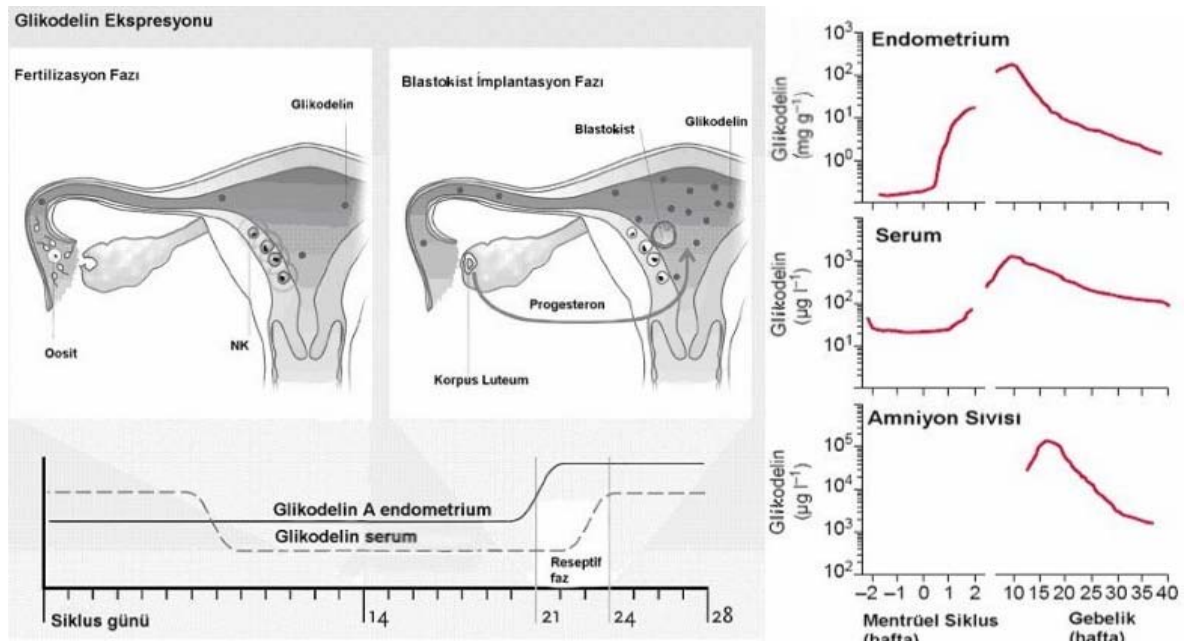
- Seminal vezikül bezlerinden ve vas deferensin ampuller kısmından seminal sıvıya salgılanan Glikodelin-S, spermatozoanın baş kısmına bağlanarak servikse ulaşmamış spermelerin kapasitasyonunu inhibe eder.
- Sperm servike ulaştınca Glikodelin-S de-glikoze olarak spermatozoadan ayrılır ve kapasitasyona izin verir (150).
- Uterin kavitede spermere bağlanan Glikodelin-A'nın da spermatozoayı maternal lenfositlerden koruduğu düşünülmektedir (168).
- Overin luteinize granüloza hücrelerinden perioovuluar follüküler sıvıya salgılanan Glikodelin-F (156) ile birlikte tubal epitelden salınan Glikodelin-F ve Glikodelin-A sperme bağlanarak; spermın zona pellusidaya (oosite) bağlanmasını inhibe etmiş olur (152). Fertil midsiklusta spermın başına bağlanarak, sperm ile oositin tutunmasını inhibe edebilir (kontraseptif etki) (178).
- Fallop tüpünde sperm başına bağlı Glikodelin-F, progesteronla-indüklenmiş prematür akrozom reaksiyonunu inhibe eder.
- Fertilizasyon öncesi kumulus hücrelerince, Glikodelin-F de-glikoze edilir; böylece Glikodelin-F spermatozoadan ayrılır ve akrozom reaksiyonu gerçekleşir (156).
- Kumulus hücreleri ayrıca inhibitör isoformlar olan Glikodelin-A ve Glikodelin-F'i, Glikodelin-C'ye dönüştürerek sperm-oosit bağlanma kapasitesini attırır (157).
- Glikodelin-A'nın östrojen-domine proliyeratif fazda ve fertil pencerede, siklusun 5. ile 19-20. günler arasında endometrial düzeyleri düşüktür. Bu perioovuluar dönemde fertilizasyona izin verir.

- Postovulatar 5. günden (siklusun 19-20. günü) itibaren (168) implantasyon penceresinde ve geç luteal fazda endometrial ekspresyonu iyice artan Glikodelin-A (179), T lenfositler üzerine apoptotik (153) ve anti-proliferatif etkileri (154; 155) ile ve Natural Killer (NK) lenfositleri üzerine olan immünsüpresif etkileri ile bunların aktivitelerini baskılar. Glikodelin-A'nın böylece fetal semi-allogrefti (embriyoyu) maternal immun sistemden koruyarak, implantasyona izin verdiği düşünülmektedir (4; 11) (Tablo 2.7).

Tablo 2.7; Glikodelin-A'nın implantasyon ve plasentasyon aşamalarındaki immünsüpresif etkileri

Etkilediği hücre	Fonksiyonu	Referanslar
Lenfositler	Proliferasyon inhibisyonu	(180)
-T lenfosit	Proliferasyon inhibisyonu	(181)
	Th-1 tip sitokin cevabı inhibisyonu	(181)
	Apoptozis indüksiyonu	(182)
-NK lenfositler	Sitotoksisite inhibisyonu	(11)
-B lenfosit	B lenfosit cevabını regüle eder	(183)
Monosit	Monositler üzerinde glikodelin reseptörleri bulunmuştur	(184)

Gebe olmayan bir siklusta Glikodelin serum konsantrasyonları, postovulatar 4-5. günde artar. Sonraki siklus 1-3. gününe kadar yüksek kalır (185) ve mid-foliküler fazda da minimuma iner (Şekil 2.14).



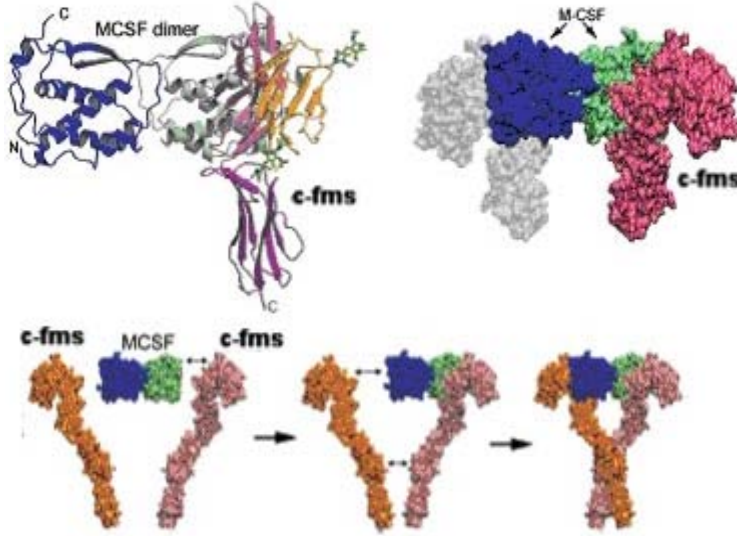
Şekil 2.14; Menstrüel siklus ve gebelikte endometrium, serum ve amniyondaki glikodelin düzeyleri (10)

Diğer özellikleri:

- Eğer konsepsiyon meydana gelirse, Glikodelin-A gebeliğin başında da maternal-fetal bileşkede eksprese olarak embriyonun immun korunmasına yardımcı olur (186). 4 hafta içinde serum düzeyleri maksimuma ulaşır; 8-10. haftalarda ise duraklayarak sonrasında serum hCG ile paralel bir şekilde azalmaya başlar (170). Desidual dokularda da 6-12. haftalarda, amnion sıvısında da 12-20. haftalarda maksimuma ulaşır (187; 188) (Şekil 2.14).
- Prematür ovaryen yetmezlik olup ovum donasyonu ile gebeliği sağlananlarda da normal over fonksiyonu olanlara göre daha düşük seviyede serum Glikodelin düzeyleri saptanmıştır (169); yani Glikodelin sentezi için over varlığı veya kontrolü gerekli gibi gözükmemektedir.
- Anovulatuvar sikluslarda serum glikodelin düzeyleri düşük seyrederek (147). PKOS hastalarında preimpantasyon ve erken gebelik dönemlerindeki glikodelin düzeylerinde saptanan azalmanın, erken gebelik kayıplarına neden olabileceği ileri sürülmüştür (189).
- Açıklanamayan infertilitesi olan (190) veya rekürren abortusları olan (191) kadınların LH pik sonrası 10 ve 12. günlerde endometrial sıvı glikodelin düzeyleri, fertil kadınlara göre belirgin düşük bulunmuştur; bu iki çalışmada da gruplar arasında serum glikodelin düzeyleri açısından fark bulunamamıştır.
- Endometriozis hastalarında perioovulatuvar fertilizasyon döneminde artmış olan (192) Glikodelin düzeyleri, implantasyon penceresi döneminde ise azalmıştır (164).
- Tümör gelişiminde ve embriyogenezdeki VEGF ekspresyonu (193) ve neovaskularizasyon aşamaları açısından da önemli rol üstlenir (194).
- Hücre adezyonu ve glikolizasyondan bağımsız olarak glandüler morfogenezin indüksiyonu, epitel farklılaşması ve tümör süpresyonu (148; 195) özellikleri vardır.
- Kimyasal modifiye Glikodelin-A ve Glikodelin-S'nin anti-HIV etkisi de gösterilmiştir (196).
- Progesteron içerikli kontraseptifler; Rahim İçi Araç (RİA) ile veya oral yolla LH piki öncesinde alındığında, fertil midsiklusta hem serum hem de endometrial Glikodelin-A düzeylerinin artarak potent gamet adezyon inhibitör aktivitesiyle kontraseptif etkiye katkı sağladığı ve midluteal endometrial Glikodelin-A düzeylerinin de daha düşük olduğu gösterilmiştir (197; 198). Glikodelin-A'nın kontraseptif amaçlı rekombinant isoformu da üretilmiştir (199).

2.2.3.2 Makrofaj Koloni Stimulan Faktör (M-CSF)

Hemapoetik bir büyüme faktörü olan M-CSF (CSF-1)'in asıl görevi monosit-makrofaj hücre grubunun kemotaksisi (200), seçimi, sağkalımı, proliferasyonu (201) ve farklılaşmasını desteklemektir (202). Moleküler boyutu 47–76 kDa olan glikozile disülfid bağlı homodimerden oluşur. Biyolojik aktivitesi bu disülfid band formasyonundan gelmektedir (203) (Şekil 2.15).



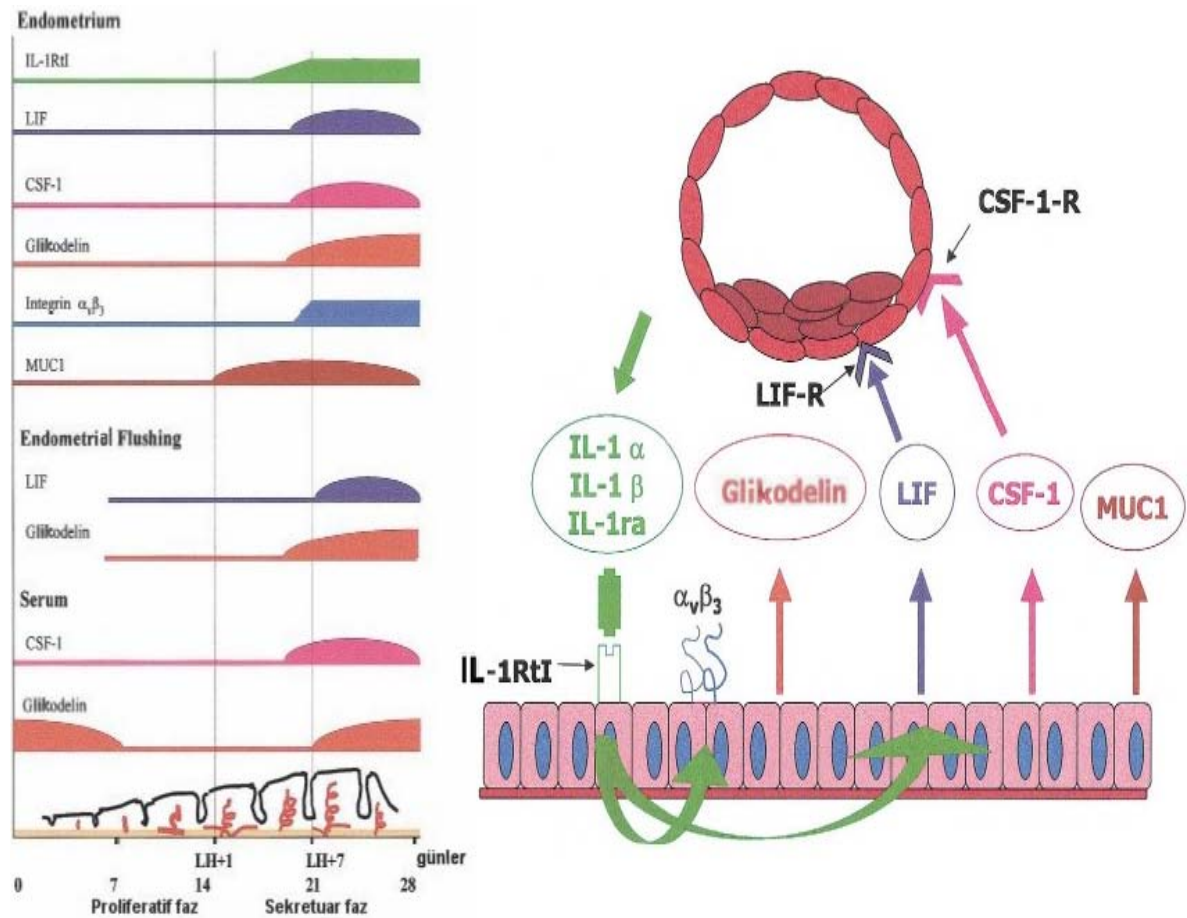
Şekil 2.15; Dimerize-aktif M-CSF+FMS kompleksi oluşumu (204), c-fms: M-CSF reseptörü

M-CSF geni 20 kilobase (kb) kapsayan 10 ekson ve 9 intron içerir. Transmembran reseptör tirozin kinazı olan M-CSF reseptörü c-fms proto-onkogeni ile kodlanmıştır (205). M-CSF reseptörü (c-fms) transkripsiyonu preimplantasyon gelişen embriyoda olmaktadır (206). Bu şekilde artan üretimi, otokrin ve parakrin sinyaller ile c-fms üzerinden desidualizasyon, implantasyon ve plasenta regülasyonu etkilerini gösterir (4).

Foliküler fazda folliküllerin matürasyonunda (207), ovulasyonda ve luteinizasyonda üterilen intraovuluar bir faktör olarak M-CSF (208); ovaryen makrofajlarla birlikte çok önemlidir (7) ve LH ve hCG ile indüklenmektedir (209). Serumda, overlerde, monosit-makrofajlarda, folliküler sıvılarda, desiduada ve placentada bulunur (210). Folliküler sıvılarda (208) ve özellikle dominant follikülde serumdan yaklaşık 4 misli daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur (209).

M-CSF geninde inaktive edici mutasyon içeren osteopetrotik ($Csfm^{op}/Csfm^{op}$) fareler düşük ovulasyon oranları, antral folliküllerdeki granüloza hücrelerinin azalmış proliferasyon kapasitesi ve uzamış östrus siklusu nedeniyle infertildirler (13). Bu farelere rekombinant M-CSF uygulanmasıyla antral folliküllerdeki granüloza hücre ve makrofaj sayısı ile ovulasyon oranları artırılmıştır (211). IVF planlanan normo-gonadotropinli poor-responder hastalarda özellikle erken folliküler fazda serum M-CSF değerleri düşük olanlarda tedaviye M-CSF eklenmesiyle folliküler gelişmede artma sağlanmıştır (212).

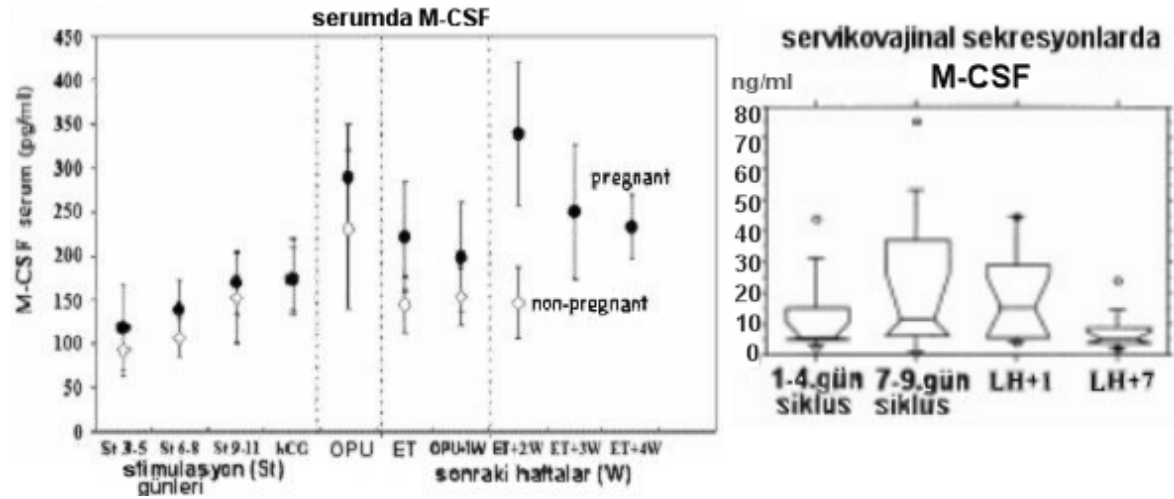
Endometriumda progesteronla up-regüle olarak salgılanan M-CSF (213) desidualizasyon sürecine de katılır (214). Folliküler sıvı ve serum M-CSF düzeyleri ile progesteron düzeyleri arasında korelasyon vardır (4). M-CSF ekspresyonu ve M-CSF reseptörleri desiduada, preimplantasyon embriyoda ve plasentada bulunmaktadır. Gonadal steroidlerin kontrolü altındaki lokal immun hücreler; endometriumda, endokrin ve immun sistemler arasındaki bir bağlantıyı göstermektedir (215). İmplantasyon sırasında endometriumda üretilen sitokinlerdendir (4) (Şekil 2.16).



Şekil 2.16; Menstrüel siklus ile blastokist-endometrium arasındaki sitokinler (4)

Normal menstrüel siklularda endometrial glandlarda sekretuar (luteal) fazda proliferatif faza göre daha fazla miktarda M-CSF bulunur. 1. trimester desiduada da daha fazla M-CSF eksprese olur. M-CSF reseptörü (c-fms) tüm endometrial ve 1. trimester desidual dokularda ve invazif trofoblastlarda bulunmaktadır (216). Trofoblast büyüme, farklılaşma ve çoğalmasında, blastokist kavite formasyonunda (217), implantasyonda, peri-implantasyon embriyo, plasenta ve de fetüsün gelişmesinde önemli bir sitokin olup (218; 219); fertilize oositlerden embriyogenezin erken aşamalarında salınır. M-CSF'nin plasentadan fetal hematopoeze destek özelliği de vardır (1). Ayrıca utero-plasental bileşkedeki bakteriyel enfeksiyonlara karşı maternal immunitenin oluşması için duyarlı trofoblastların M-CSF'ye cevabı da önemlidir (220).

IVF sikluslarında yapılan bir çalışmada (7); gebe kalan hastaların serum M-CSF düzeyleri embriyo transferi (ET) ile implantasyondan itibaren artarak luteal fazda yüksek seyretmiştir. ET sonrası 2. haftada maksimuma ulaşmış, ardından ET sonrası 3-4. haftalara kadar plato çizmiştir. Bu artış invazyonla birlikte olan inflamatuvar süreci yansıtır olabilir. Gebe kalamayan hastalarda ise muhtemelen embriyonun desiduaya invazyonu olmaması nedeniyle serum M-CSF düzeylerinde bir değişiklik olmamıştır (Şekil 2.17).



Şekil 2.17; M-CSFdüzeyleri: serumda (7); servikovajinal sekresyonlarda (6)

Açıklanamayan tekrarlayan abortuslarda, prekonsepsiyonel ve konsepsiyonel serum M-CSF değerlerinin düşük olması (221); veya feto-maternal bileşkedeki T lenfositlerin defektif M-CSF üretimi (222) arasında bir ilişki saptanmıştır.

2.2.4 Yardımlı Üreme Tekniklerinde İmplantasyon Başarısızlığı

Yardımlı Üreme Teknikleri, laboratuvar, kültür mediumları gün geçtikçe gelişmekte ve içerdiği işlemler dereceli olarak kolaylaşmaktadır. Günümüz ICSI uygulamalarında ortalama 15 oosite ve %90'lık fertilizasyon oranlarına ulaşılmasına rağmen; transfer edilen iyi kalitede bir blastokist de bile implantasyon olasılığının halen %60,9 (223) oranında olması ve ortalama canlı doğum oranlarının %45'i geçmemesi, implantasyon konusunda aydınlatılması gereken daha pek çok şeyin var olduğunu göstermektedir. Endometrium ile implante olan blastokist arasındaki hücresel ve moleküler etkileşimler hala tam olarak anlaşılmamıştır. Bu yüzden implantasyon başarısızlıkları IVF'in önemli hız kısıtlayıcı basamaklarından biridir (3).

Tablo 2.8; IVF'de İmplantasyon başarısızlığında etyolojik faktörler ve yönetimi (3)

Etyoloji	Faktörler	Tedavi
Maternal yaş, oosit ve embriyo kalitesi	Kötü ovaryen rezerv ve yaş ile ilişkili kromozomal anöploidiler Parental dengeli mutasyon PKOS	İleri yaşta yumurta ya da embriyo bağışi (i) KOH protokolü modifikasyonları Preimplantasyon anöploidi taraması ve blastokist transferi (ii) Preimplantasyon anöploidi taraması olmaksızın blastokist kültürü (ii) Asiste hatching (iii) İnsülin direnci olan PKOS'lu hastalarda Metformin tedavisi (i)
İmmunolojik faktörler	Antifosfolipid antikolar, Trombofil Otoimmün hastalıklar Endometrial sitokinlerin ve NK lenfositlerin anormal ekspresyonu Paylaşılmış parental HLA	Heparin ya da aspirin tedavisi (iii) Steroid tedavisi (iii) İntravenöz immunoterapi (iii)
Endometrial reseptivite	Endometrial östrojen ve progesteron reseptörlerinin anormal ekspresyonu Endometrial belirteçlerin (integrin, pinopod v.s) anormal ekspresyonu Luteal faz defektleri	KOH protokolü modifikasyonları (i)
Uterin, tubal ve peritoneal faktörler	Endometrial polipler ve submüköz myomlar İntramural myomlar Hidrosalpinks Endometriozis Enfeksiyon	Histeroskopik polipektomi (ii) Histeroskopik submüköz myomektomi (ii) İntramural myomektomi (5 cm'den küçük olsa bile) (ii) Unilateral ya da bilateral salpenjektomi (i) Minimal ve orta derecede endometriozisin cerrahi tedavisi (ii) Uterin sineşilerin histeroskopik adezyolizisi (ii) Tekrarlayan IVF başarısızlığı sonrası rutin diagnostik histeroskopi (ii)
Stimülasyon protokolleri ve kültür ortamı		KOH protokolü modifikasyonları Ko-kültür Asiste hatching (iii)

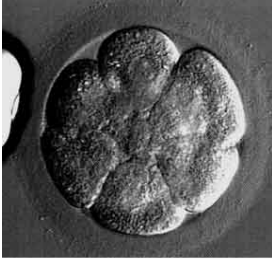
(i): Kanıtlanmış yararı olan müdahaleler, (ii): Olası yararları olan müdahaleler, (iii): Yararı kanıtlanamamış müdahaleler, KOH: Kontrollü Ovaryen Stimülasyon

IVF’de implantasyon başarısızlığında muhtemelen sorunun tek bir nedeni yoktur. Olası faktörler vardır; maternal yaş, oosit ve embriyo kalitesi, immunolojik faktörler, endometrial reseptivite, luteal faz defektleri, uterin, tubal, peritoneal faktörler, uygulanan stimülasyon protokolü ve embriyo kültür mediumları (3) şeklindedir (Tablo 2.8). Etyolojik faktörlere ve yönetimine yönelik araştırmalar yapılmaya devam edilmektedir. Her ne kadar bazı tedavilerin yararlı olduğu bildirildiyse de, diğer bazı tedaviler için henüz yeterli kanıt ve fikir birliği yoktur (Tablo 2.8).

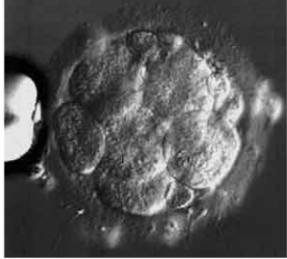
Embriyonik faktörler, implantasyonun ve gebeliğin meydana gelip gelmeyeceğini belirleyen temel faktörlerdendir (224). Embriyo transferi için embriyoları seçerken mikroskopik olarak değerlendirilmiş morfolojik kriterler yaygın olarak kullanılmaktadır (Tablo 2.9).

Tablo 2.9; Genel embriyo değerlendirilmesi (225);

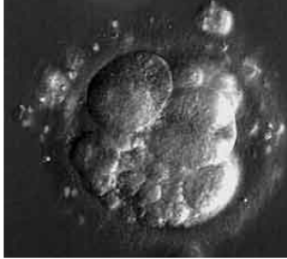
Grade	Blastomerler	Fragmantasyon
Grade 1 embriyo	Eşit büyüklükte, homojen blastomerler	fragman içermezler
Grade 2 embriyo	Eşit büyüklükte, homojen blastomerler	< %20
Grade 3 embriyo	Blastomerleri eşit veya eşit olmayan büyüklükte	%20-50
Grade 4 embriyo	Blastomerleri eşit veya eşit olmayan büyüklükte	> %50



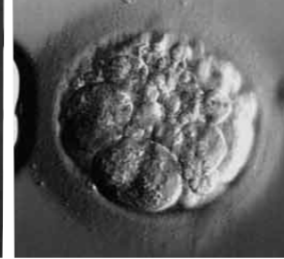
Grade 1



Grade 2

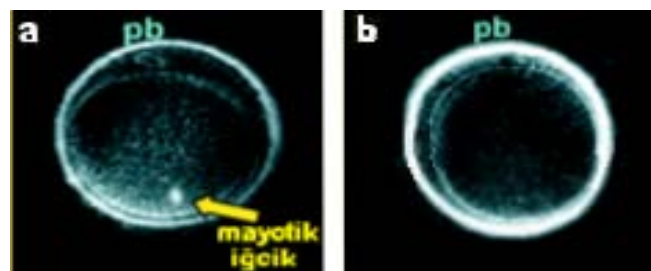


Grade 3



Grade 4

IVF’de başarı şansını arttırmak için, implantasyon potansiyeli yüksek yani gelişmesi devam eden, eşit büyüklükte düzenli blastomerlere sahip ve fragman içermeyen embriyoları transfer etmek gerekir. ICSI öncesi polskop ile oositin metafaz II aşamasındaki mayotik iğciğin görülmesinin; embriyo gelişimi, fertilizasyon ve gebelik oranlarını arttırdığı belirtilmiştir (226; 227) (Şekil 2.18).



Şekil 2.18; Polskop ile mitotik iğcik görülmesi, a: mayotik iğcik var, b: mayotik iğcik yok, (pb: polar cisim)

Günümüzde kullanılan ardışık seri mediumlarla embriyolar 5. güne kadar laboratuvar koşullarında takip edilerek yeterli sayıda blastokist elde edilebilmektedir (228). Blastokist transferi, tekrarlayan implantasyon başarısızlığında kullanılabilecek bir yöntemdir; ancak 2-3. gün embriyo transferleriyle karşılaştırıldığında implantasyon, gebelik oranları ve çoğul gebelikler açısından anlamlı bir avantaj sağlayamamıştır (229). Ardışık 3. gün ve 5. gün blastokist double embriyo transferi ile 3. gündeki embriyoların endometriyumla etkileşerek blastokist implantasyonu için daha uygun bir ortam sağlayabileceği düşünülmüştür (230). İyi kalitede embriyo ve tekrarlayan IVF başarısızlıkları olan hastalarda 2. gün ile 4-5. gün ardışık double embriyo transferi yapıldığında %60'lara varan gebelik oranları bildirilmiştir (231).

Embriyonun, otolog endometrial veya granüloza hücreleri gibi bazı yardımcı hücreler ile birlikte kültüre edilmesi olan ko-kültür; blastokiste ilerleyen embriyo oranlarını arttırmakla birlikte (232-234); tekrarlayan IVF başarısızlığı için alternatif bir yöntem olarak kullanılıyor olsa da (235); oosit donasyonu olan vakalar dışında gebelik ve implantasyon oranlarında henüz anlamlı bir artış ortaya koyamamıştır (236). Ayrıca yeni yayınlarda ko-kültürden çok biyopsi sırasında yapılan endometrial hasar ve uyarının bir sonraki siklusda yapılan IVF başarısını artırdığı iddia edilmektedir (233). İmplantasyona katkısı olduğu düşünülen Hyaluronan'ın (237), embriyo transfer ve kültür mediumlarına yüksek konsantrasyonda eklenmesi ile (*EmbryoGlue®*, *Vitrolife-USA*) implantasyon ve gebelik oranlarında artış bildirilmekle birlikte (238); bu mediumun etkinliğini gösterecek daha fazla çalışmalara ihtiyaç vardır (239).

Zonası kalın olan embriyoların zona pellucidadan sıyrılmakta güçlük çektiği ve implantasyon oranlarının düştüğü gözlenmiştir (240). Mekanik yöntemlerle, asit tyrode solüsyonu veya lazer yardımıyla parsiyel zona diseksiyonu, yani Assited Hatching (AH) yapılarak (Şekil 2.19); zonası kalın olan, ileri yaşta (241), dondurulmuş embriyolarda (242) veya önceden başarısız IVF siklusları olan hastalarda artmış gebelik oranları bildirilmekle birlikte; Seif ve arkadaşlarının yaptığı bir meta-analize göre AH önermek için henüz elde yeterli kanıt bulunmamaktadır. Üstelik çoğul ve özellikle de monokoryonik ikiz gebelik oranlarında da artış gösterilmiştir (243).



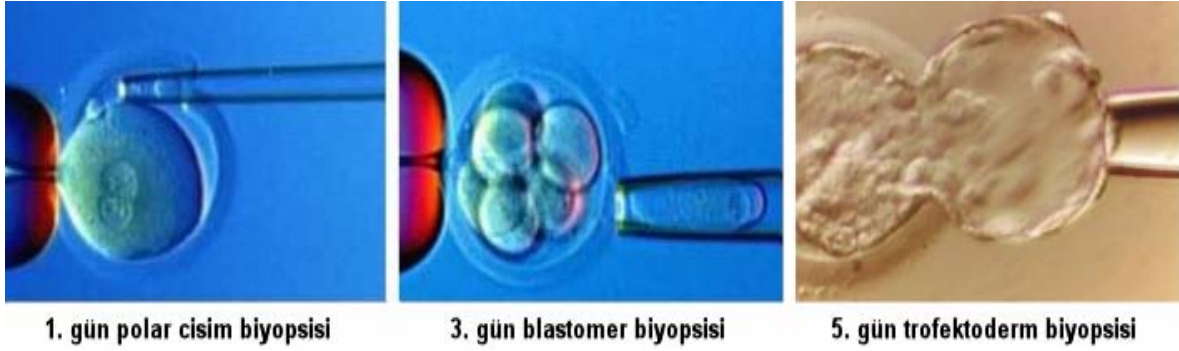
Şekil 2.19; Assisted Hatching

Artan yaş ve düşük oosit sayısı ile ilgili olan fragmantasyon yüzdesi artıkça siklus prognozu, implantasyon ve gebelik oranları azalmaktadır (244). Fertilizasyonun 3. gününde fragmanları fazla olan embriyolara, AH sonrası mikromanipulator yardımıyla aspirasyon ile defragmentasyon yapılabilir (245) (Şekil 2.20). Düşük grade'li çok fragmanlı embriyolara defragmentasyon yapıldıktan sonraki; implantasyon, klinik gebelik, canlı doğum, spontan abortus ve fetal defekt oranlarının yüksek grade'li iyi kalitede embriyolarla eşitlendiği bildirilmiştir (246).



Şekil 2.20; Defragmentasyon

Embriyoların morfolojisinin normal görünmesi, kromozomal yapısının da mutlaka normal olacağı anlamına gelmez (247). Morfolojisi normal olan blastomerlerin kromozomal yapıları FISH ile incelendiğinde sadece %36'sı normal bulunmuştur (248; 249). 36 yaş üzeri kötü embriyo kalitesi olan (3) veya aile öyküsü olan riskli kişilerde anöploidilerin ya da genetik yolla geçen hastalıkların belirlenmesi amacıyla embriyolara fertilizasyonun birinci gününde polar cisim biyopsisi, 3. günde blastomer biyopsisi ve 5. günde de trofektoderm biyopsisi ile PCR ve FISH yöntemleriyle PGD (Preimplantasyon Genetik Tanı) önerilmektedir (250) (Şekil 2.21).



Şekil 2.21; PGD

TV-USG ile hCG günü endometrial kalınlığa bakıldığında, <6 mm incelikte (251; 252) veya trilaminar-olmayan, homojen bir yapıda olduğunda (253) gebelik oranlarının negatif yönde etkilendiği bildirilmekle birlikte; etkilemediğini belirten bir çalışmada vardır (254). Tekrarlayan IVF başarısızlığı vakalarında, endometrium ince veya homojen görünümde olduğunda embriyo transferi ertelenerek; kryopreservasyon sonrası trilaminar ve daha kalın olduğu bir siklusta yapılması denenebilir. Vaginal mikronize östrojen (255), pentoksifilin, E- vitamini (256), L-arjinin ve sildenafil (257) ile endometrial kalınlığın arttığını bildiren çalışmalar vardır.

KOH sikluslarında çok yüksek östrojen seviyelerinin oosit kalitesini olumsuz etkileyebileceği öne sürülmüştür (258). Tekrarlayan IVF başarısızlıklarında implantasyon yetmezliği olan ve over yanıtı zayıf hastalarda doğal sikluslar ve prematür LH pikini engellemek için de GnRH antagonistlerinin kullanılması gibi farklı KOH protokolleri denenebilir (259; 260). Reprodüktif öyküsüne göre kişiye özgü planlanan protokoller ile daha başarılı sonuçlar alınabilir. Over rezervi iyi olmayan, ileri yaştaki hastalarda yumurta veya embriyo bağıışı denenebilir.

Tekrarlayan IVF başarısızlıklarında önceki siklusun luteal fazında yapılan endometriyal uyarı veya histeroskopik biyopsiyle lokal travma oluşturarak büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınımı ile endometriyal reseptivitenin arttığı düşüncesiyle yapılan çalışmalarda gebelik ve implantasyon oranlarında anlamlı artış bildirilmiştir (261; 262).

Transfer kateterinin endoservikal kanaldan uzun sürede, zorlanarak geçtiği, kateter ucunda kan olan, katateri değiştirmek gerektiği ve transfer sonrası kramp tarz ağrı hissedilen zor transferler gebelik oranlarının 1,7 kat azaltmaktadır (263). Önceden deneme transferi

yapmak (264), önceki denemelerinde zor transfer öyküsü olan, eksternal servikal os'un ve serviks-uterus arası açının çok dar olduğu kadınlarda KOH siklusu öncesi histeroskopi ile servikal dilatasyon yapmak faydalı olabilir (265; 266).

Antifosfolipid sendromu persistan anyonik membran fosfolipidlerine karşı anti-kardiyolipin IgM, IgG, lupus antikoagulanı gibi antikorlar gelişimi ile karakterize; arterio-venöz trombo-emboliler, tekrarlayan üreme başarısızlıklarıyla seyreden otoimmün sistemik bir hastalıktır (1). Antifosfolipid antikorlar ve trombofililer ile tekrarlayan gebelik kayıpları arasında net bir ilişki mevcut olup; düşük doz aspirin ve düşük molekülü heparin tedavisi ile gebelik kayıpları azaltılabilmektedir (267-269). İmplantasyon başarısızlıkları konusunda ise heparin ve aspirin uygulamasının sonucu iyileştireceğine dair yeterli kanıt bulunamamıştır (270). Fakat heparinin non-antikoagulan etkileriyle implantasyonu arttırabileceği ve 14 gün üzerinde kullanıldığında da gebelik oranlarını arttırabileceği öne sürülmüştür (271).

Tekrarlayan IVF başarısızlığı olgularında desidual (272) ve periferik (CD16[+], CD56[-], CD69[+]) (273) NK (274), T helper (Th)-1 lenfosit ve sitokin ekspresyonu artışı (275; 276) gösterilmiştir. Tedavi için steroid (277), intravenöz immunoglobulin (IVIG) (278) gibi immünsüpresif uygulamalar denenmekle birlikte daha fazla çalışmalara ihtiyaç vardır (279; 280).

Endometriyal reseptiviteyi açıklamak için, implantasyon penceresinde ve menstrüel siklusun diğer fazlarında, endometriozisde (164) endometrial microarray gen ekspresyonunu, ürünleriyle olan ilişkileri (281), progesteron reseptörler polimorfizmleri (282) ve gen ablasyon ile daha bir çok moleküler düzeyde çalışmalar yapılmıştır (283). Ancak implantasyonun moleküler mekanizması tam olarak açıklığa kavuşturulamadığı gibi öne sürülen çeşitli nedenler üzerinden de implantasyon olasılığını arttıracak bir tedavi yöntemi henüz belirlenebilmiş değildir.

Bizim bu çalışmadaki amacımız öncelikle IVF planlanan hastaların embriyo transfer günü serum ve serviko-vajinal lavaj örneklerinden Glikodelin ve M-CSF düzeyleri bakılması ile elde edilecek gebelik oranları ilişkisinin gösterilmesidir. Tekrarlayan IVF başarısızlığı olan, endometrial reseptivite problemleri nedeniyle implantasyon yetmezliği bulunan hastaların tanısında faydalı olunmasıyla; belki de IVF prognozu önceden gösterilebilecektir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Hasta Seçimi

Çalışmamız Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Ankara ve Adana Tüp Bebek Merkez'lerimize 2008 yılında çocuk isteği nedeniyle başvuran, ICSI yapılmasını planladığımız, 21-39 yaş arasında 85 hasta ile gerçekleştirildi. Başkent Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından çalışmamız KA08/252 no ile onaylandı. Tüm hastalar ayrıntılı olarak bilgilendirilerek, yazılı onamları alındı. IVF endikasyonları açıklanamayan infertilite, erkek faktör, tubal faktör, anovulasyon ve genetik hastalıktan oluşmaktaydı. Zayıf yanıt verenler (toplanan oosit sayısı <3 ve hCG günü $E_2 < 500$ pg/ml olanlar) (284), dondurma-çözme siklusu olan veya zorunlu tek embriyo transferi yapılan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Çalışmaya alınan hastaların ayrıntılı anamnezleri alınıp, genel fizik ve jinekolojik muayeneleri yapıldı. Bazal değerlendirme için spermiogram, adet 3. günü yapılan TV-USG (*Siemens Sonoline Elegra, 6.5 mHz. vajinal prob*) ile over boyutları ve antral follikül sayısı değerlendirilmesi, adet 3. günü serum FSH, LH, E_2 , TSH, PRL ve adet 21. günü serum progesteron düzeyleri ve histerosalpingografi (HSG) bakıldı. Gerekli olgulara histerosonografi, histeroskopi ve laparoskopi yapıldı.

3.2. Uygulanan IVF prosedürü

Hastalara standart uzun dönem GnRH agonist-long protokol veya kısa dönemli antagonist ya da mikrodoz protokolleri ile kontrollü ovaryen hiperstimulasyon uygulandı.

Long Protokol

Uzun protokol kapsamında hastalara siklusün 21. günü GnRH analogu Lucrin® (*Leuprolide acetate, Abbott, Illinois, USA*) 1 mg/gün dozuyla başlandı. Menstrüasyonun 2-3. günü ölçülen serum E_2 düzeyinin <50 pg/ml, LH<3 mIU/ml ve USG de ölçülen endometrium kalınlığının <4 mm olması durumunda hipotalamo-hipofizer-ovaryen aks down-regüle kabul edilip Lucrin, 0.5 mg/gün idame dozuna düştü ve gonadotropinlerle [rekombinant rFSH: Gonal-F® (*Follitropin alfa, Merck Serono, Cenevre, İsviçre*), Puregon® (*Follitropin beta, Schering-Plough, Kenilworth, USA*)], [hMG (human Menaupozal Gonadotropin: FSH+LH): Merional® (*hMG, IBSA, Lugano, Ticino, İsviçre*)], [yüksek pütrifiye üriner uFSH: Fostimon® (*Urofollitropin, IBSA, Lugano, Ticino, İsviçre*)] kontrollü ovaryen hiperstimülasyona 112,5-450 IU/gün dozları arasında başlandı ve 5-12 gün devam edildi.

Antagonist Protokol

Antagonist protokol kapsamında menstrüasyonun 2-3. günü kontrollü ovaryen hiperstimülasyona gonadotropinlerle [rekombinant rFSH: Gonal-F® (*Follitropin alfa*, Merck Serono, Cenevre, İsviçre), Puregon® (*Follitropin beta*, Schering-Plough, Kenilworth, USA)], [hMG(human Menaupozal Gonadotropin: FSH+LH): Merional® (*hMG*, IBSA, Lugano, Ticino, İsviçre), Menogon® (*hMG*, Ferring, Saint-Prex, İsviçre), Menopur® (*hMG*, Ferring, Saint-Prex, İsviçre)], [yüksek pütrifiye üriner uFSH: Fostimon® (*Urofollitropin*, IBSA, Lugano, Ticino, İsviçre)] 75-450 IU/gün dozları arasında başlandı ve 6-16 gün devam edildi. Dominant follikül ≥ 1 2-13 mm'lik gelişim gösterdiğinde 0.25 mg/gün GnRH antagonisti [Orgalutran® (*Ganirelix*, Schering-Plough, Kenilworth, USA), Cetrotide® (*Cetrorelix*, Merck Serono, Cenevre, İsviçre)] başlandı ve hCG gününe kadar (hCG günü dahil) devam edildi.

Mikrodoz Protokol

Mikrodoz kapsamında tedaviden bir önceki siklusta oral kontraseptif Ginera® (*etinil estradiol 0,03 mg + gestoden 0,075 mg*, Bayer Schering Pharma, Berlin, Almanya) kullanıldı. Oral kontraseptifin bitiminden sonraki 3. gün de 2 x 40 µgr Lucrin® (*Leuprolide acetate*, Abbott, Illinois, USA) başlandı. 2 gün sonra tedaviye yüksek doz 300-450 IU/gün gonadotropinler [rekombinant rFSH: Gonal-F® (*Follitropin alfa*, Merck Serono, Cenevre, İsviçre), Puregon® (*Follitropin beta*, Schering-Plough, Kenilworth, USA)] eklendi ve 8-12 gün devam edildi. 2 x 40 µgr Lucrin hCG gününe kadar (hCG günü dahil) devam edildi.

Uygulanan protokol ve gonadotropin dozları; optimal sayıda ve kalitede oosit elde etmek için, yaş, vücut kitle indeksi (BMI), adet 3. günü over follikül sayısı, bazal FSH ve E₂ değerlerine, anamneze ve önceki tedavilere verdiği yanıtı göre seçildi. Tedavinin takibi seri TV-USG ile follikülometrilere ve serum E₂, LH, progesteron ölçümlerine göre yapıldı.

Ovaryen stimülasyon sonrası en az 2 adet 17 -18 mm ve birkaç adet 14 mm follikül geliştiğinde; 14 mm ve üzeri follikül başına 200 pg/ml E₂ değerlerine ulaşıldığında; ve de endometriumun trilaminar ve >6 mm kalınlığa ulaştığında hCG [250-500 µgr rhCG: Ovitrelle® (*rekombinant koriogonadotropin alfa*, Merck Serono, Cenevre, İsviçre) veya 5000-10000 IU hCG Pregnyl® (*hCG*, Schering-Plough, Kenilworth, USA)] uygulanmasıyla ovulasyon tetikleme yapıldı.

hCG uygulamasından 36 saat sonra ultrasonografi eşliğinde transvajinal yoldan folliküller aspire edilerek oositler toplandı. OPU dan 4-6 saat sonra tüm matür oositlere mikroenjeksiyon sistemi (Eppendorf® *Transformer 2, Hamburg, Almanya*; Olympus® *IX71, Tokyo, Japonya*) kullanılarak ICSI işlemi uygulandı. Oositler ve embriyolar sırasıyla G1 ve G2 mediumlarında (Vitrolife®, *Kungsbacka, İsveç*) kültüre edildi. İnseminasyonu takip eden 16-18. saatlerde insemine edilmiş oositlerde pronükleus kontrolü yapıldı. İki pronükleus ve polar cisimcik varlığı normal fertilizasyon olarak kabul edildi. Transfer öncesinde embriyolar her gün morfolojik olarak değerlendirildi. Blastomerlerin gelişmelerine, eşit büyüklükte olup olmamalarına ve fragmantasyon içermelerine göre Grade I, II, III, IV embriyolar olarak klasifiye edildi.

OPU sonrası 600 mg/gün intravajinal mikronize progesteron [Progynex® (*Farmako, İstanbul, Türkiye*), Progestan® (*Koçak, İstanbul, Türkiye*)] ile ve/veya 3 günde bir intramuskuler 1500 IU hCG Pregnyl® (*hCG, Schering-Plough, Kenilworth, USA*) verilmesiyle Luteal faz desteği sağlandı.

3.3. Serviko-vajinal Lavaj **örneği alınması**

ICSI sonrası 2-5. günlerde embriyo transferi (ET) aşamasına gelindi. Önce litotomi pozisyonunda spekulum yerleştirildi. Serviks, eksternal os, vajen steril serum fizyolojik ile yıkayıp nazikçe spanç ile kurulandı. Arkasına 5 cc serum fizyolojik (*sf: %0,9 NaCl*) takılmış Wallace® kateter (*inseminasyon katateri, Smiths Medical, Watford, UK*) ile eksternal ostan 0,5 cm içeri girilip; 5 cc sf'in tamamı servikal kanala yavaşça boşaltıldı. Sonra posterior vajinal fornikse dolan sıvılar aspire edildi (serviko-vajinal lavaj (6)). Aspirat'ın 1 ml'si standart 1,5 ml'lik mikro test tüpü (*3810, Eppendorf, Hamburg, Almanya*) içerisine boşaltılıp -20°C'de dondurulup; biyokimya analizleri yapılana kadar derin dondurucuda saklamaya alındı.

Kültür sıvıları ile eksternal os tekrar temizlendi ve deneme katateri (*Wallace TT1816, TT1816N*) sonrası Embriyolog, transfer edilecek embriyoları Wallace® katater (*1816 N, 2316, Smiths Medical, Watford, UK*) içinde laboratuvarından getirdi. Pelvik ultrasonografi eşliğinde 2-4 adet embriyo transferi yapıldı. Hasta transfer sonrası yaklaşık 2 saat supin pozisyonunda yatırıldı.

3.4. Serum örneği alınması

Ardından 5 cc venöz kan örneği alınıp standart biyo tüpünde +4°C'de, 10 dakika, 1500 (rpm) devirde santrifüj edildi. Santrifüje edilmiş serumun 2 ml'si otomatik standart plastik pipetle başka bir tübe (5 ml polystyrene test tübü, Lab Depot, Dawsonville, USA) aktarılıp; -20°C'de donduruldu. Sonra biyokimya analizleri yapılana kadar derin dondurucuda saklamaya alındı.

Transfer sonrası intravaginal mikronize progesteron dozu 600 mg/gün olarak ayarlandı. Embriyo transferinin 10-12. günü serum β -hCG testi ile gebelik durumu tayin edildi. Luteal faz desteğine gebelik tespit edilmişse fetal kalp atımları görüldükten sonra 8-9. gestasyonel haftaya kadar devam edildi.

3.5. Biyokimyasal Analiz

Çalışmaya alınan 85 hastanın da serviko-vajinal ve serum numune toplanması işlemi tamamlandıktan sonra, örnekler önce derin dondurucudan çıkartıldı ve +20°C oda ısısında yavaşça tekrar sıvı hale döndürüldü. Serviko-vajinal lavaj örneklerinden Biyokimya laboratuvarımızda ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile Glikodelin (14) (*Glycodelin ELISA kiti, DRG Instruments, Marburg, Almanya*) ve M-CSF (6) (*Human MCSF ELISA kiti, RayBiotech, Inc. Norcross, USA*) düzeyleri ve eş zamanlı serumdan da ELISA yöntemi ile M-CSF (6; 7) (*Human MCSF ELISA kiti, RayBiotech, Inc. Norcross, USA*) düzeylerine bakıldı.

Servikovajinal lavaj örneğinde Glikodelin ölçülmesi:

Bunun için önce katı-faz sandviç enzim-immunoassay tekniği ile Glikodelin ELISA kitine serviko-vajinal lavaj numunesinden 50 μ l eklendi. Serviko-vajinal lavaj numunesinde bulunan Glikodelin, Glikodelin antikorlarıyla kaplı ELISA tabakasıyla birleşti ve tabaka üzerinde immobil hale geldi. İnkübasyon sırasında başka bir enzim konjugatı (HRP'ye [Horseradish peroksidazı] bağlı monoklonal Glikodelin antikorları) eklenerek bu komplekse bağlandı. Yıkama solüsyonu ile bağlanmamış enzim konjugatları temizlendikten sonra bu komplekse TMB (3,3' 5,5' Tetrametilbenzidin) eklenmesiyle TMB oksitlendi; ve böylece immobilize Glikodelin düzeyleriyle direkt orantılı bir mavi renk oluştu. Referans ölçüm dalga boyu >550 nm olan, 450 nm dalga boyunda mikro-tabaka okuyucu ile bu renk fotometrik olarak ölçüldü. Bu yöntemin serviko-vajinal lavaj Glikodelin'i için sensitivitesi: <6 ng/ml; deney içi varyasyon katsayıları: CV<%1,9-9,9 olarak belirtilmiştir.

Servikovajinal lavaj örneğinde M-CSF ölçülmesi:

Sonra human M-CSF ELISA kitine 100 µl serviko-vajinal lavaj numunesi eklendi. Serviko-vajinal lavaj numunesinde bulunan M-CSF, M-CSF antikorlarıyla kaplı ELISA tabakasıyla birleşti ve tabaka üzerinde immobil hale geldi. Yıkandıktan sonra biotinilize anti-human M-CSF antikoru eklendi. Sonra tekrar yıkanarak bağlanmamış biotinilize anti-human M-CSF antikorları temizlendi. Komplekse HRT bağlı streptovidin eklendi. Sonra tekrar yıkandı ve bu komplekse TMB substratı ve böylece bağlı-immobilize M-CSF düzeyi miktarında bir renk oluştu. Durdurma solüsyonu (8 ml 2M sülfirik asit) rengi maviden sarıya değiştirdi ve rengin yoğunluğu 450 nm'de ölçüldü. Bu yöntemin serviko-vajinal lavaj M-CSF'si için sensitivitesi: <5 pg/ml; deney içi varyasyon katsayıları: CV<%10-12 olarak belirtilmiştir.

Serum örneğinde M-CSF ölçülmesi:

Aynı şekilde human M-CSF ELISA kitine 100 µl serum numunesi eklendi. Serum numunesinde bulunan M-CSF, M-CSF antikorlarıyla kaplı ELISA tabakasıyla birleşti ve tabaka üzerinde immobil hale geldi. Yıkandıktan sonra biotinilize anti-human M-CSF antikoru eklendi. Sonra tekrar yıkanarak bağlanmamış biotinilize anti-human M-CSF antikorları temizlendi. Komplekse HRT bağlı streptovidin eklendi. Sonra tekrar yıkandı ve bu komplekse TMB substratı ve böylece bağlı-immobilize M-CSF düzeyi miktarında bir renk oluştu. Durdurma solüsyonu (8 ml 2M sülfirik asit) rengi maviden sarıya değiştirdi ve rengin yoğunluğu 450 nm'de ölçüldü. Bu yöntemin de serum M-CSF'si için sensitivitesi: <5 pg/ml; deney içi varyasyon katsayıları: CV<%10-12 olarak belirtilmiştir.

3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Serviko-vajinal lavaj Glikodelin ve M-CSF ve serum M-CSF düzeyleri ile elde edilen gebelik oranları (*ET sonrası 10-12. günler serum β-hCG düzeyleri, ET sonrası 4-6. haftalarda bakılan TV-USG ile gestasyonel kese ve fetal kalp atımları*) ilişkisi istatistiksel olarak incelenerek klinik prospektif bir araştırma yapılmıştır. Bulgularının istatistiksel analizi "SPSS for Windows Release 17.0" (Illinois, Chicago, USA) programı ile yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler yanında gruplar arasındaki farklılıklar için "*T test*", "*Mann-Whitney U test*", "*Fisher's Exact test*" ve "*Pearson Chi-Square test*" kullanıldı. *MedCalc 11.0.0* (Mariakerke, Belçika) istatistik programı ile de "*ROC Curve*" analizleri yapıldı. P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Toplam hasta sayısı 85 olup; serviko-vajinal lavajdan bakılan Glikodelin, serum β hCG pozitif olan hastalarda (n: 46; bir hastada Lavaj numunesi hemolizli olduğu için Glikodelin kiti ile ölçüm yapılamadı) ortalama $100,18 \pm 174,42$ ng/ml, serum β hCG negatif olan hastalarda (n: 39) ortalama $143,49 \pm 213,00$ ng/ml'dir. Serviko-vajinal lavajdan bakılan M-CSF, serum β hCG pozitif olan hastalarda (n: 46) ortalama $2,86 \pm 7,55$ pg/ml, serum β hCG negatif olan hastalarda (n: 39) ortalama $4,54 \pm 9,24$ pg/ml'dir. Serumdan bakılan M-CSF, serum β hCG pozitif olan hastalarda (n: 46) ortalama $1,01 \pm 4,18$ pg/ml, serum β hCG negatif olan hastalarda (n: 39) ortalama $2,13 \pm 6,79$ pg/ml'dir.

Son nokta değerlendirmesi: Serum β hCG pozitifliğine göre değerlendirildiğinde;

Serum β hCG pozitif olanlar ile olmayanlar arasında serviko-vajinal lavajdan (Lavaj) bakılan Glikodelin, ve M-CSF ile Serumdan bakılan M-CSF açısından fark olup olmadığına bakıldı (Tablo 4.1.1).

Tablo 4.1.1; Hastaların Lavaj Glikodelin, M-CSF ve Serum M-CSF değerleriyle gebelik oranları ilişkisi, (sd:standart sapma)

Tüm hastalar: 85 hasta					
(Mann-Whitney U Test)	Gebelik βhCG	Hasta sayısı	Ortanca	Ortalama \pm sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	yok	39	17,04	143.49 \pm 213,00	0,143
	Var (+)	45	9,10	100,18 \pm 174,42	
Lavaj M-CSF (pg/ml)	yok	39	0,005	4.54 \pm 9,24	0,748
	Var (+)	46	0,004	2,86 \pm 7,55	
Serum M-CSF (pg/ml)	yok	39	0,392	2.13 \pm 6,79	0,115
	Var (+)	46	0,286	1,01 \pm 4,18	

$P < 0.05$ anlamlılık düzeyinde serum β hCG pozitifliği olanlar ile olmayanlar arasındaki Lavaj Glikodelin (P:0,143), Lavaj M-CSF (P:0,748) ve Serum M-CSF (P:0,115) düzeylerine bakıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 4.1.1).

Son nokta değerlendirmesi: Ultrasonografik gebelik kesesi pozitifliğine göre değerlendirildiğinde;

Ultrasonografik (USG) olarak gestasyonel kesesi olanlar ile olmayanlar arasında serviko-vajinal lavajdan (Lavaj) bakılan Glikodelin, ve M-CSF ile Serumdan bakılan M-CSF açısından fark olup olmadığına bakıldı (Tablo 4.1.2).

Tablo 4.1.2; Hastaların Lavaj Glikodelin, M-CSF ve Serum M-CSF değerleriyle gestasyonel kese oranlarının ilişkisi

Tüm hastalar: 85 hasta (Mann-Whitney U Test)					
USG'de görülen	Gebelik Kesesi	Hasta sayısı	Ortanca	Ortalama±sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	yok	48	16,77	139,42±208,23	0,049
	Var (+)	36	4,05	94,78±170,95	
Lavaj M-CSF (pg/ml)	yok	48	0,0045	4,10±8,76	0,996
	Var (+)	37	0,0040	3,03±7,89	
Serum M-CSF (pg/ml)	yok	48	0,30	1,78±6,15	0,592
	Var (+)	37	0,34	1,19±4,66	

USG'de gestasyonel kese görülenlere bakıldığında gestasyonel kesesi olanlar ile olmayanlar arasında Lavaj M-CSF (P:0,996) ve Serum M-CSF (P:0,592) düzeyleri açısından $P < 0.05$ anlamlılık düzeyinde istatistiksel bir fark çıkmamıştır; ancak Lavaj Glikodelin (**P:0,049**) değerleri FKA'sı olanlarda anlamlı derecede düşük çıkmıştır (Tablo 4.1.2).

Son nokta değerlendirmesi: Ultrasonografik Fetal Kalp Atımı(FKA) pozitifliğine göre değerlendirildiğinde;

Ultrasonografik olarak Fetal Kalp Atımı (FKA) var olanlar ile negatif olanlar arasında serviko-vajinal lavajdan (Lavaj) bakılan Glikodelin, ve M-CSF ile Serumdan bakılan M-CSF açısından fark olup olmadığına bakıldı (Tablo 4.1.3).

Tablo 4.1.3; Hastaların Lavaj Glikodelin, M-CSF ve Serum M-CSF değerleriyle USG'de görülen FKA pozitifliği ilişkisi

Tüm hastalar: 85 hasta (Mann-Whitney U Test)					
USG'de görülen	Gebelik FKA	Hasta sayısı	Ortanca	Ortalama±sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	yok	50	17,97	153,84±216,07	0,009
	Var (+)	34	4,00	70,95±143,03	
Lavaj M-CSF (pg/ml)	yok	50	0,0045	3,93±8,61	0,941
	Var (+)	35	0,0040	3,20±8,08	
Serum M-CSF (pg/ml)	yok	50	0,30	1,73±6,03	0,678
	Var (+)	35	0,34	1,24±4,79	

Ultrasonografik olarak FKA'ı pozitif olanlar ile negatif olanlar arasında Lavaj M-CSF (P:0,941), Serum M-CSF (P:0,678) düzeyleri açısından $P < 0.05$ anlamlılık düzeyinde istatistiksel olarak bir fark çıkmamıştır; ancak Lavaj Glikodelin (**P:0,009**) değerleri FKA'sı olanlarda anlamlı derecede düşük çıkmıştır (Tablo 4.1.3).

Subgrup analizleri

Tablo 4.1.1, 4.1.2 ve 4.1.3’de görüldüğü gibi embriyo transfer günü bakılan M-CSF (Serum veya Lavaj) için gebelik açısından anlam çıkmamıştır. Anlamli çıkan Lavaj Glikodelin’e daha ayrıntılı bakılacak olursa Gebelik kesesi sayısı (0-1-2-3) olanlar (Tablo 4.2) veya FKA’ı (Tablo 4.3) olanlar ile arasındaki farklılıklar incelendi.

Tablo 4.2; Lavaj Glikodelin değerlerinin USG’de gebelik kesesi sayılarına göre değerlendirilmesi

Gebelik kesesi 0 ve 1 olanlar: 67 hasta					
(Mann-Whitney U)	Gebelik kesesi	Hasta sayısı	Ortanca	Ortalama \pm sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	0	48	16,77	139.42 \pm 208.23	0,010
	1	19	2,40	57.52 \pm 156.13	
Gebelik kesesi 0 ve 2 olanlar: 64 hasta					
	Gebelik kesesi	Hasta sayısı	Ortanca	Ortalama \pm sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	0	48	16,77	139.42 \pm 208.23	0,597
	2	16	18,50	143.63 \pm 185.13	
Gebelik kesesi 1 ve 2 olanlar: 35 hasta					
	Gebelik kesesi	Hasta sayısı	Ortanca	Ortalama \pm sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	1	19	2,40	57.52 \pm 156.13	0,230
	2	16	18,50	143.63 \pm 185.13	
Gebelik kesesi 0 ve 1+2 olanlar: 84 hasta					
	Gebelik kesesi	Hasta sayısı	Ortanca	Ortalama \pm sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	0	48	16,77	139,42 \pm 208,23	0,043
	1+2	35	4,00	96,88 \pm 172,97	
Gebelik kesesi 0 ve 1+2+3 olanlar: 85 hasta					
	Gebelik kesesi	Hasta sayısı	Ortanca	Ortalama \pm sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	0	48	16,77	139,42 \pm 208,23	0,049
	1+2+3	36	4,05	94,78 \pm 170,95	

$P < 0,05$ anlamlılık düzeyinde gebelik kese sayısı: 0 olanlarda (n: 48, ortalama 139.42 \pm 208.23 ng/ml) istatistiksel olarak anlamlı ve daha yüksek Glikodelin Lavaj düzeyleri varken; gebelik kese sayıları: 1 olanlarda (n: 19, ortalama 57,52 \pm 156.13 ng/ml) (**P: 0,010**), 1+2 olanlarda (n: 35, ortalama 96,88 \pm 172,97 ng/ml) (**P: 0,043**) ve 1+2+3 olanlarda (n: 36, ortalama 94,78 \pm 170,95 ng/ml) (**P: 0,049**) istatistiksel olarak anlamlı ve daha düşük Glikodelin Lavaj düzeyleri saptanmıştır. Lavaj Glikodelin değerleri ile gebelik

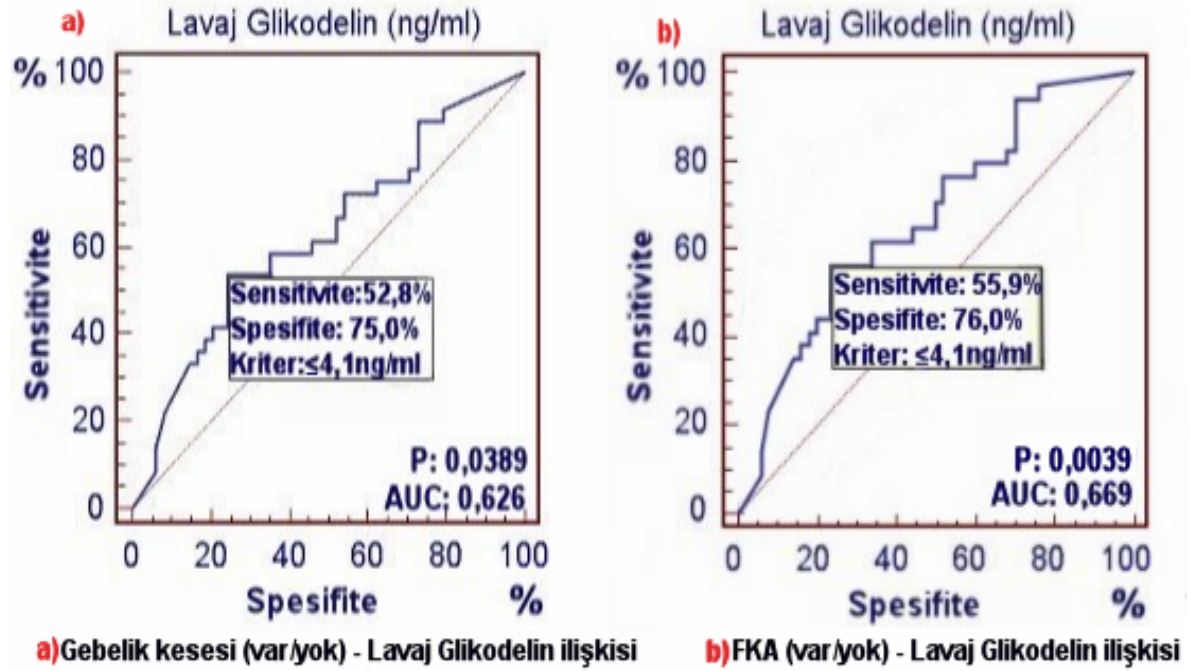
kesesi sayısı 0 ve 2 olanlar (P: 0,597) ile 1 ve 2 olanlar (P: 0,220) arasında anlamlı bir fark çıkmamıştır (Tablo 4.2).

Tablo 4.3; Lavaj Glikodelin değerlerinin USG'de FKA pozitifliği sayılarına göre değerlendirilmesi

FKA, 0 ve 1 + olanlar: 69 hasta					
(Mann-Whitney U Test)	FKA	Hasta sayısı	Ortanca	Ortalama±sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	0	50	17,97	153,84±216,07	0,000
	1+	19	2,00	5,19±8,05	
FKA, 0 ve 1+ 2 +olanlar: 83 hasta					
	FKA	Hasta sayısı	Ortanca	Ortalama±sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	0	50	17,97	153,84±216,07	0,007
	1+2+	33	4,00	72,45±114,98	
FKA, 0 ve 1 + 2 + 3 + olanlar: 84 hasta					
	FKA	Hasta sayısı	Ortanca	Ortalama±sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	0	50	17,97	153,84±216,07	0,009
	1+2+3+	34	4,00	70,95±143,03	
FKA, 0 ve 2 + olanlar: 64 hasta					
	FKA	Hasta sayısı	Ortanca	Ortalama±sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	0	50	17,97	153,84±216,07	0,744
	2+	14	44,47	163,74±189,90	
FKA, 1 ve 2 + olanlar: 33 hasta					
	FKA	Hasta sayısı	Ortanca	Ortalama±sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	1+	19	2,00	5,19±8,05	0,042
	2+	14	44,47	163,74±189,90	

P<0,05 anlamlılık düzeyinde FKA'sı olmayanlarda (n: 50, ortalama 153,84±216,07 ng/ml) istatistiksel olarak anlamlı ve daha yüksek Glikodelin Lavaj düzeyleri varken; FKA'sı 1 tane olanlarda (n: 19, ortalama 5,19±8,05 ng/ml) (**P: 0,000**), FKA'sı 1+2 olanlarda (n: 33, ortalama 72,45±114,98 ng/ml) (**P: 0,007**) ve FKA'sı 1+2+3 olanlarda (n: 34, ortalama 70,95±143,03 ng/ml) (**P: 0,009**) istatistiksel olarak anlamlı ve daha düşük Glikodelin Lavaj düzeyleri saptanmıştır. Lavaj Glikodelin değerleri ile FKA+ olan gestasyonel kese sayısı 0 ve 2 olanlar (P: 0,744) arasında anlamlı bir fark çıkmamış iken; 1 ve 2 olanlar arasında (**P: 0,042**) için istatistiksel olarak anlamlı ve daha yüksek bir Glikodelin Lavaj düzeyleri saptanmıştır (Tablo 4.3).

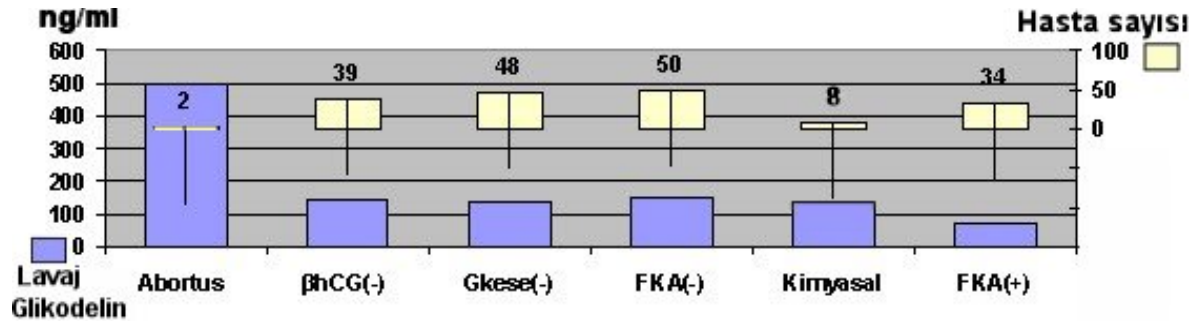
ROC (Receiver Operating Characteristic) eğrisi ile Lavaj Glikodelin düzeyleriyle, gebelik kesesi ve FKA ilişkileri, sensitivite ve spesifite incelenmiştir. Serviko-vajinal lavajdan bakılan Glikodelin düzeyleri 4,1 ng/ml ve altında olan hastalarda: %52,78 duyarlılık ile %75 seçicilikte gebelik kesesi var (kese sayısı: 1, 2 veya 3) (**P: 0,0389**) ve %55,9 duyarlılık ile %76 seçicilikte FKA var (FKA sayısı: 1, 2 veya 3) (**P: 0,0039**) şeklinde anlam izlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1; Lavaj Glikodelin ve **a)** Gebelik kesesi var/yok ve **b)** FKA var/yok açısından ROC eğrileri, (MedCalc 11.0.0) (AUC: ROC eğrisi altında kalan alan)

Gebelik takiplerinde tek gebelik kesesi olan 19 hastadan 2'si (%10,5) aborte ederken; ikiz gebelik kesesi olanlarda (n: 16) gebelik kaybı yaşanmadı ancak ikiz olan 2 hastanın (%12,5) gebeliği tek gebelik şeklinde devam etti.

Aborte eden 2 hastanın embriyo transfer günü bakılan Lavaj Glikodelin değerleri (ortalama 500 ng/ml), β hCG negatif olan 39 hastadan (ortalama 143.49 ± 213.00 ng/dl), gebelik kesesi 0 olan 48 hastadan (ortalama 139.42 ± 208.23 ng/ml), FKA izlenmeyen 50 hastadan (ortalama $153,84 \pm 216,07$ ng/ml) ve biokimyasal gebeliği olan 8 hastadan (ortalama 135.00 ± 206.30 ng/ml) da yaklaşık 3-4 kat fazla iken FKA pozitif olan 34 hastadan da (ortalama $70,95 \pm 143,03$ ng/ml) yaklaşık 7 kat fazla miktarda bulunmuştur (Şekil 4.2).



Şekil 4.2; Abortus, βhCG(-), G.kese(-), kimyasal gebelik, FKA(-)/(+) ile Lavaj Glikodelin düzeyleri

İkiz olarak gebeliğe başlayıp tek gebelik şeklinde devam eden 2 hastanın Lavaj Glikodelin değerleri (ortalama $2,85 \pm 1,20$ ng/ml) olup FKA tek pozitif olan 19 hastanın (ortalama $5,19 \pm 8,05$ ng/ml) düzeylerinden 1,8 kat daha düşük olmakla birlikte yakın düzeydedir. Ayrıca hastalardan biyokimyasal gebeliği olan hasta sayısı 8 olup gebelik kesesi ve FKA pozitif olanlar ile Lavaj Glikodelin, M-CSF ve Serum M-CSF değerleri $P < 0,05$ açısından karşılaştırıldığında istatistiksel bir önemi çıkmamıştır (Tablo 4.4). Bir hastaya da sol tubal ektopik gebelik nedeniyle laparoskopi ile sol linear salpingostomi yapılmıştır.

Tablo 4.4; Hastaların Lavaj Glikodelin, M-CSF ve Serum M-CSF değerleriyle biyokimyasal gebelik, gebelik kesesi ve FKA +'liği oranları ilişkisi

Biyokimyasal gebelik ile Lavaj Glikodelin, M-CSF ve Serum M-CSF düzeyleri				
(Mann-Whitney U Test)	Gebelik	Hasta sayısı	Ortalama \pm sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	Biokimyasal	8	$135,00 \pm 206,30$	0,190
	Gebelik kesesi	37	$94,78 \pm 170,95$	
	Biokimyasal	8	$135,00 \pm 206,30$	0,109
	FKA+	35	$70,95 \pm 143,03$	
Lavaj M-CSF (pg/ml)	Biokimyasal	8	$2,46 \pm 6,72$	0,877
	Gebelik kesesi	37	$3,03 \pm 7,89$	
	Biokimyasal	8	$2,46 \pm 6,72$	0,858
	FKA+	35	$3,20 \pm 8,08$	
Serum M-CSF (pg/ml)	Biokimyasal	8	$0,26 \pm 0,17$	0,158
	Gebelik kesesi	37	$1,19 \pm 4,66$	
	Biokimyasal	8	$0,26 \pm 0,17$	0,138
	FKA+	35	$1,24 \pm 4,79$	

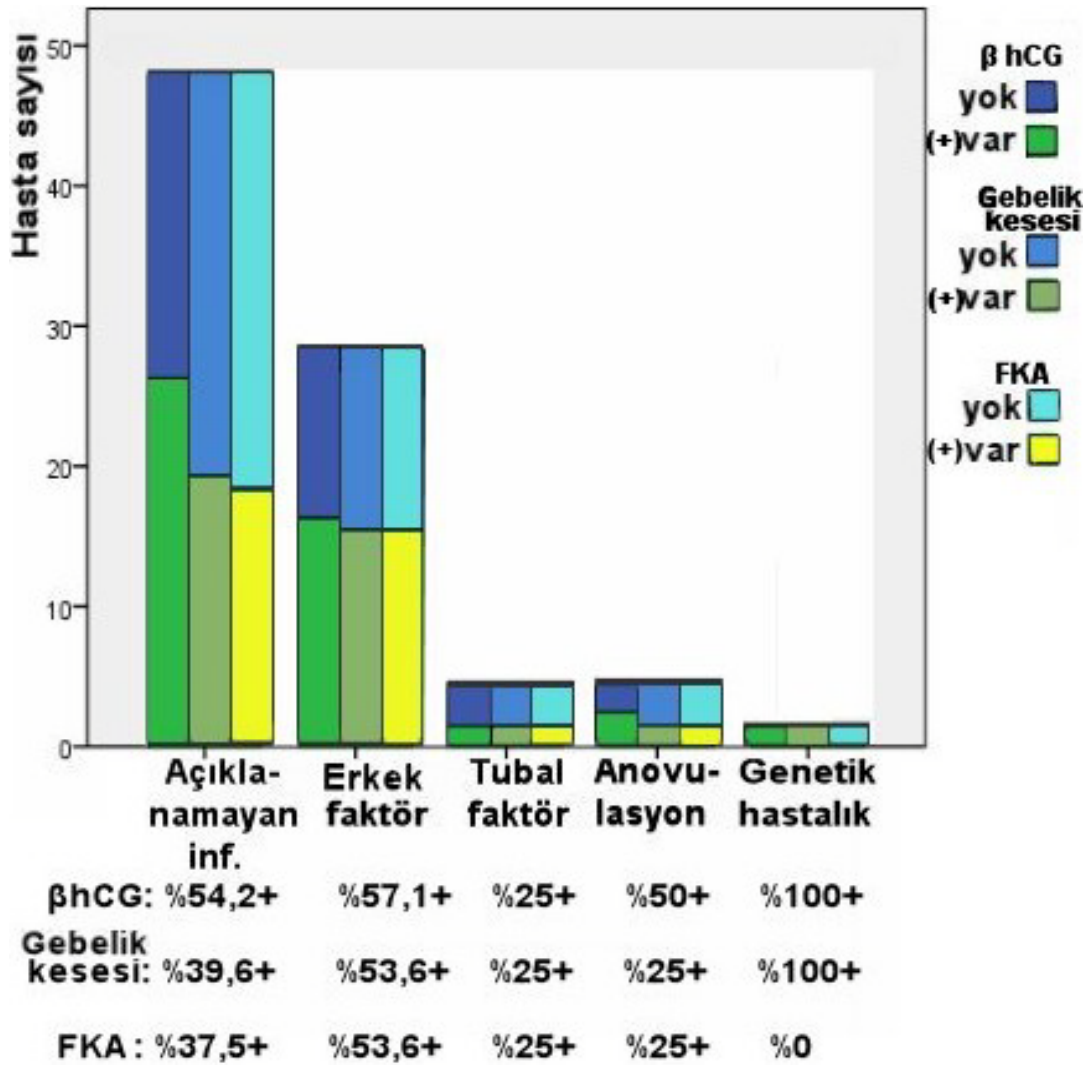
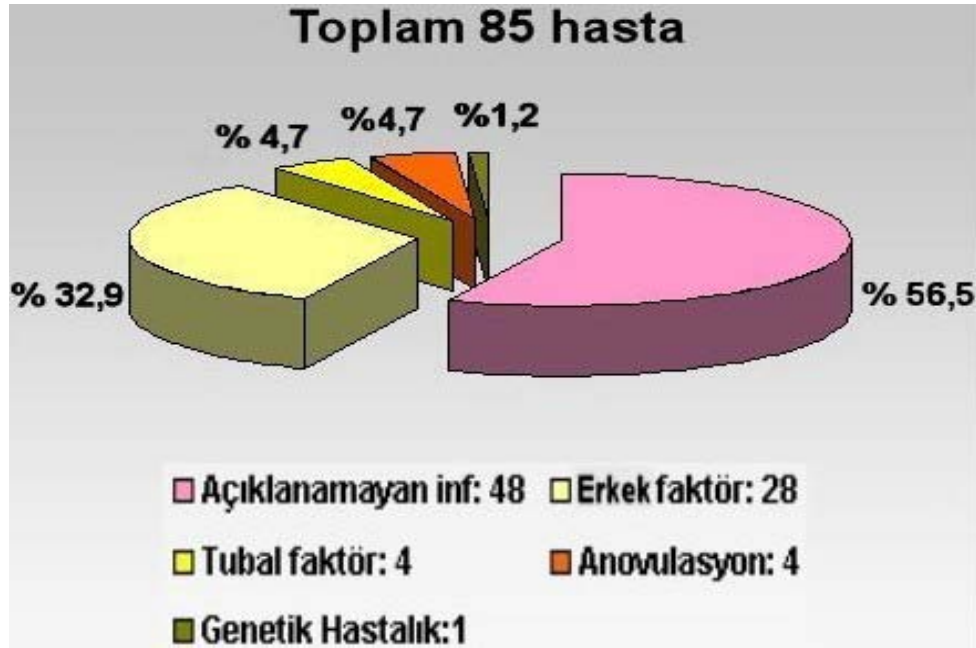
Açıklanamayan infertilitesi olan hastaların (n: 48) %54,2'sinde (n: 26) βhCG pozitifliği, %39,6'sında (n: 19) gebelik kesesi varlığı ve %37,5'inde de (n: 18) FKA pozitifliği elde edildi. Erkek faktör nedeniyle infertilitesi olan hastaların (n: 28), %57,1'inde (n: 16) βhCG pozitifliği, %53,5'inde (n: 15) gebelik kesesi varlığı ve %53,6'sında da (n: 15) FKA

pozitifliği elde edildi. Tubal faktör nedeniyle infertilitesi olan hastaların (n: 4), %25 (n: 1) β hCG pozitifliği, gebelik kesesi varlığı ve FKA pozitifliği elde edildi. Anovulasyon nedeniyle infertilitesi olan hastaların (n: 4), %50'sinde (n: 2) β hCG pozitifliği ve %25'inde de (n: 1) gebelik kesesi varlığı ve FKA pozitifliği elde edildi. Eşinde 46XY, t((8;18)(q13;p11.2) dengeli translokasyon olması nedeniyle PGD yapılan 1 hastada, β hCG pozitifliği ve gebelik kesesi varlığı görülmesine rağmen; FKA izlenemedi (Tablo 4.5).

Tablo 4.5; İnfertilite nedenleri ve Gebelik oranları

Gebelik / infertilite nedeni çapraz-tablosu		İnfertilite nedeni					Toplam	
		Açıklana- mayan inf.	Erkek faktör	Tubal faktör	Anovu- lasyon	Genetik hastalık		
β hCG	yok	Hasta sayısı	22	12	3	2	0	39
		β hCG (-) %	56,4%	30,8%	7,7%	5,1%	,0%	100,0%
		İnfertilite nedeni %	45,8%	42,9%	75,0%	50,0%	,0%	45,9%
		% genel toplamın	25,9%	14,1%	3,5%	2,4%	,0%	45,9%
	var	Hasta sayısı	26	16	1	2	1	46
		β hCG (+) %	56,5%	34,8%	2,2%	4,3%	2,2%	100,0%
		İnfertilite nedeni %	54,2%	57,1%	25,0%	50,0%	100,0%	54,1%
		%genel toplamın	30,6%	18,8%	1,2%	2,4%	1,2%	54,1%
Gebelik kesesi	yok	Hasta sayısı	29	13	3	3	0	48
		Gebelik kesesi (-)%	60.4%	27.1%	6.3%	6.3%	.0%	100.0%
		İnfertilite nedeni %	60.4%	46.4%	75.0%	75.0%	.0%	56.5%
		% genel toplamın	34.1%	15.3%	3.5%	3.5%	.0%	56.5%
	var	Hasta sayısı	19	15	1	1	1	37
		Gebelik kesesi (+)%	51.4%	40.5%	2.7%	2.7%	2.7%	100.0%
		İnfertilite nedeni %	39.6%	53.6%	25.0%	25.0%	100.0%	43.5%
		% genel toplamın	22.4%	17.6%	1.2%	1.2%	1.2%	43.5%
FKA	yok	Hasta sayısı	30	13	3	3	1	50
		FKA (-)%	60.0%	26.0%	6.0%	6.0%	2.0%	100.0%
		İnfertilite nedeni %	62.5%	46.4%	75.0%	75.0%	100.0%	58.8%
		% genel toplamın	35.3%	15.3%	3.5%	3.5%	1.2%	58.8%
	var	Hasta sayısı	18	15	1	1	0	35
		FKA (+)%	51.4%	42.9%	2.9%	2.9%	.0%	100.0%
		İnfertilite nedeni %	37.5%	53.6%	25.0%	25.0%	.0%	41.2%
		% genel toplamın	21.2%	17.6%	1.2%	1.2%	.0%	41.2%
Toplam	Hasta sayısı	48	28	4	4	1	85	
	Gebelik %	56,5%	32,9%	4,7%	4,7%	1,2%	100,0%	
	İnfertilite nedeni %	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	
	% toplam	56,5%	32,9%	4,7%	4,7%	1,2%	100,0%	

Tablo 4.5 devamı; İnfertilite nedenleri ve Gebelik oranları



Ayrıca β hCG pozitifliği, gestasyonel kese varlığı ve FKA pozitifliği ile Lavaj Glikodelin, M-CSF ve Serum M-CSF düzeyleri ile infertilite nedenleri de ayrı ayrı incelendi (Tablo 4.6).

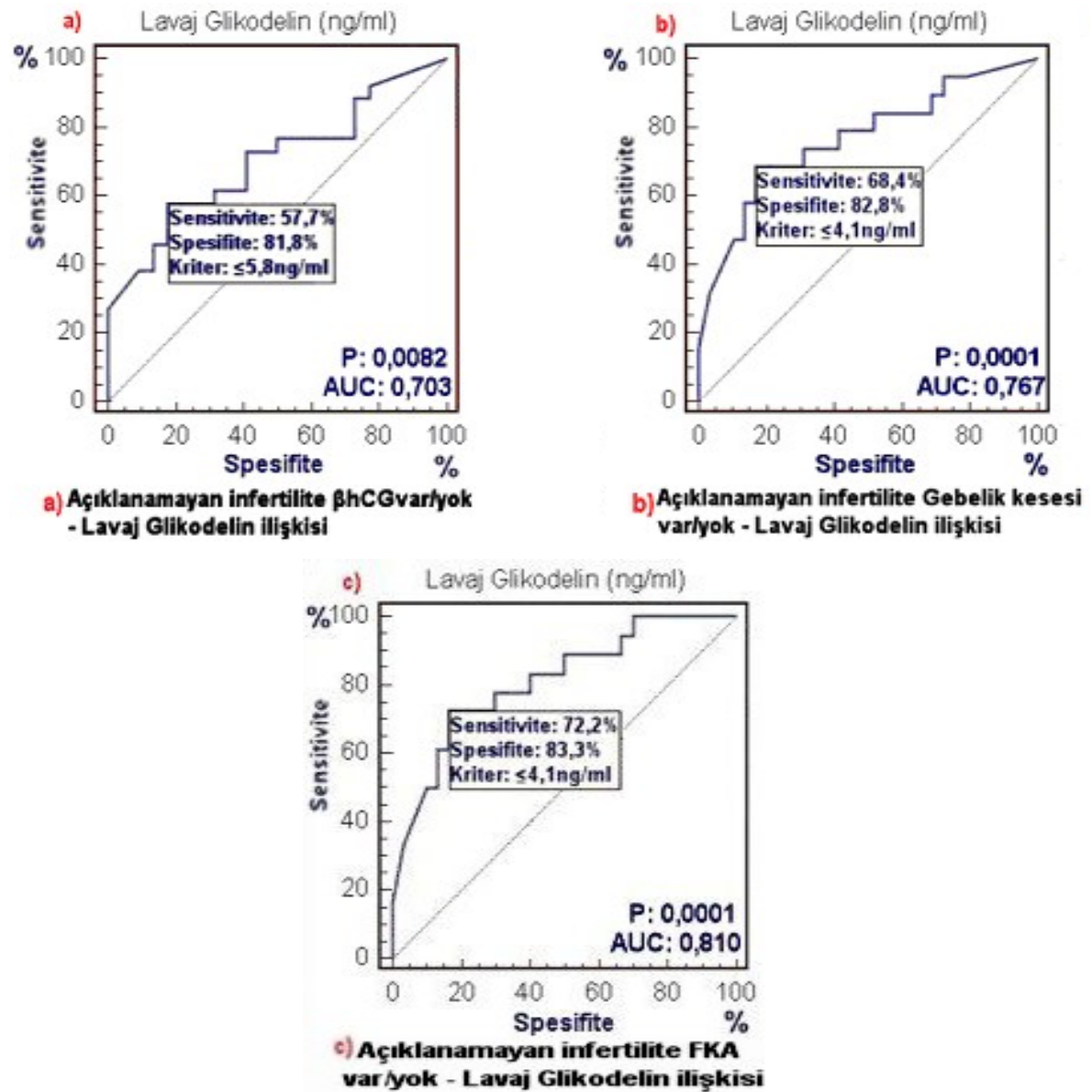
Tablo 4.6; Açıklanamayan inf., Erkek faktörü ve Erkek faktörü olmayan hastalarında Lavaj Glikodelin, M-CSF ve Serum M-CSF değerleri ile β hCG+, gestasyonel kese+ ve FKA +'liği ilişkisi

Açıklanamayan infertilite: 48 hasta												
	β hCG	n	Ortalama \pm sd	P	kese	n	Ortalama \pm sd	P	FKA	n	Ortalama \pm sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	yok	22	142,8 \pm 213,0	0,016	yok	29	144,3 \pm 210,3	0,001	yok	30	156,2 \pm 216,6	0,000
	var	26	73,9 \pm 157,4		var	19	46,2 \pm 124,4		var	18	21,0 \pm 60,1	
Lavaj M-CSF (pg/ml)	yok	22	4,13 \pm 9,42	0,966	yok	29	3,81 \pm 8,83	0,648	yok	30	3,68 \pm 8,70	0,436
	var	26	3,51 \pm 7,93		var	19	3,77 \pm 8,36		var	18	3,98 \pm 8,55	
Serum M-CSF (pg/ml)	yok	22	3,28 \pm 8,94	0,444	yok	29	2,56 \pm 7,85	0,519	yok	30	2,50 \pm 7,72	0,941
	var	26	1,57 \pm 5,54		var	19	2,04 \pm 6,46		var	18	2,12 \pm 6,64	
Erkek Faktör: 28 hasta												
	β hCG	n	Ortalama \pm sd	P	kese	n	Ortalama \pm sd	P	FKA	n	Ortalama \pm sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	yok	12	199,1 \pm 242,7	0,873	yok	13	184,4 \pm 238,3	1,000	yok	13	184,4 \pm 238,3	1,000
	var	16	127,4 \pm 185,6		var	15	135,3 \pm 189,3		var	15	135,3 \pm 189,3	
Lavaj M-CSF (pg/ml)	yok	12	3,21 \pm 6,58	0,664	yok	13	2,97 \pm 6,36	0,467	yok	13	2,97 \pm 6,36	0,467
	var	16	2,04 \pm 7,85		var	15	2,17 \pm 8,11		var	15	2,17 \pm 8,11	
Serum M-CSF (pg/ml)	yok	12	0,72 \pm 0,77	0,205	yok	13	0,68 \pm 0,75	0,363	yok	13	0,68 \pm 0,75	0,363
	var	16	0,29 \pm 0,13		var	15	0,30 \pm 0,133		var	15	0,30 \pm 0,133	
Erkek faktörü-olmayan: 57 hasta												
	β hCG	n	Ortalama \pm sd	P	kese	n	Ortalama \pm sd	P	FKA	n	Ortalama \pm sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	yok	27	118,7 \pm 198,2	0,049	yok	35	122,6 \pm 197,0	0,004	yok	37	143,0 \pm 210,1	0,000
	var	29	85,1 \pm 169,3		var	21	65,8 \pm 154,6		var	19	20,1 \pm 58,6	
Lavaj M-CSF (pg/ml)	yok	27	5,13 \pm 10,26	0,960	yok	35	4,52 \pm 9,54	0,559	yok	37	4,27 \pm 9,33	0,457
	var	30	3,30 \pm 7,48		var	22	3,61 \pm 7,87		var	20	3,97 \pm 8,18	
Serum M-CSF (pg/ml)	yok	27	2,76 \pm 8,11	0,330	yok	35	2,19 \pm 7,17	0,915	yok	37	2,09 \pm 6,98	0,783
	var	30	1,39 \pm 5,17		var	22	1,80 \pm 6,02		var	20	1,94 \pm 6,31	
Erkek faktörü olmayan: Açıklanamayan inf. + Tubal faktör + Anovulasyon + Genetik hastalık (Mann-Whitney U Test)												

$P < 0,05$ anlamlılık düzeyinde açıklanamayan infertilitesi olan hastalarda, β hCG (**P: 0,016**), gebelik kesesi (**P: 0,001**) ve FKA (**P: 0,000**) pozitif olan hastalarda anlamlı derecede daha düşük Lavaj Glikodelin değerleri bulunmuştur. Erkek faktör infertilitesi olan hastaların Lavaj Glikodelin, M-CSF ve Serum M-CSF değerleriyle β hCG, gebelik kesesi ve FKA açısından anlamlı çıkmamıştır. Tubal faktör infertilitesi olan 4 hastadan FKA'sı pozitif olarak izlenen 1 hastanın Lavaj numunesi hemolizli olduğu için Lavajdan Glikodelin çalışılmadı. Tubal faktör (n: 4), Anovulasyon (n: 4) ve Genetik Hastalık (n: 1) sayıları

istatistiksel manada az olduğu için ancak erkek faktörü-olmayan infertilite içinde değerlendirilebilmişlerdir. $P < 0,05$ anlamlılık düzeyinde erkek faktörü-olmayan infertilitesi olan hastalarda, β hCG (**P: 0,049**), gebelik kesesi (**P: 0,004**) ve FKA (**P: 0,000**) pozitif olan hastalarda anlamlı derecede daha düşük Lavaj Glikodelin değerleri bulunmuştur. Açıklanamayan ve erkek faktörü-olmayan infertilitesi olan hastaların Lavaj M-CSF ve Serum M-CSF değerleriyle β hCG, gebelik kesesi ve FKA açısından anlamlı çıkmamıştır (Tablo 4.6).

ROC eğrisi ile Açıklanamayan infertilite hastalarında Lavaj Glikodelin düzeyleriyle β hCG, gebelik kesesi ve FKA ilişkileri, sensitivite ve spesifite incelenmiştir (Şekil 4.3).



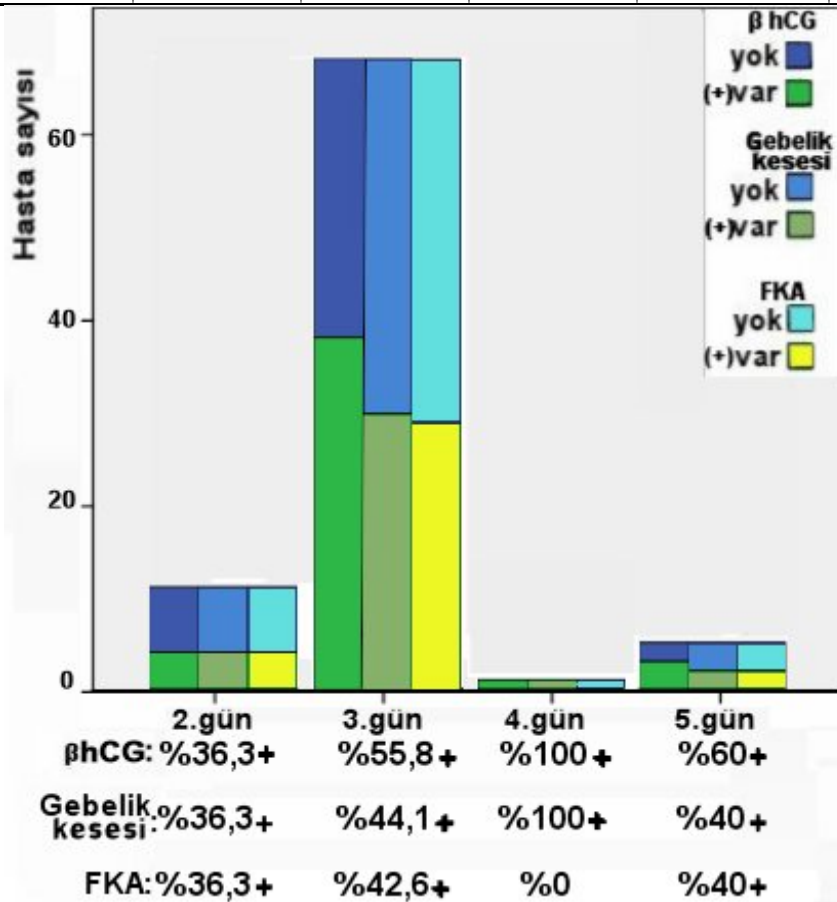
Şekil 4.3; Açıklanamayan infertilite hastalarında Lavaj Glikodelin ile **a)** β hCG var/yok **b)** Gebelik kesesi var/yok ve **c)** FKA var/yok açısından ROC eğrileri, (MedCalc 11.0.0)

Açıklanamayan infertilite hastalarında serviko-vajinal lavajdan bakılan Glikodelin düzeyleri 5,8 ng/ml ve altında olan hastalarda: %57,7 duyarlılık ile %81,8 seçicilikte β hCG var (**P: 0,0082**); lavajdan bakılan Glikodelin düzeyleri 4,1 ng/ml ve altında olan hastalarda da %68,4 duyarlılık ile %82,8 seçicilikte gebelik kesesi var (**P: 0,0001**) ve %72,2 duyarlılık ile %83,3 seçicilikte FKA var (**P: 0,0001**) şeklinde anlam izlenmiştir (Şekil 4.3).

Embriyo transferi günlerine göre gebelik oranları Tablo 4.7’da gösterilmiştir.

Tablo 4.7; Embriyo transfer gününe göre gebelik sayıları

Gebelik/Embriyo transferi günü çapraz-tablosu		Embriyo transferi günü				Toplam
		2.	3.	4.	5.	
βhCG	yok	7 (%63,6)	30 (%44,1)	0	2 (%40)	39 (%45,9)
	var	4 (%36,4)	38 (%55,9)	1 (%100)	3 (%60)	46 (%54,1)
Gebelik kesesi	yok	7 (%63,6)	38 (%55,9)	0	3 (%60)	48 (%56,5)
	var	4 (%36,4)	30 (%44,1)	1 (%100)	2 (%40)	37 (%43,5)
FKA	yok	7 (%63,6)	39 (%57,4)	1 (%100)	3 (%60)	50 (%58,8)
	var	4 (%36,4)	29 (%42,6)	0	2 (%40)	35 (%41,2)
Toplam		11 (%12,9)	68 (%80)	1 (%1,2)	5 (%5,9)	85 (%100)



Ayrıca embriyo transferi günlerine göre hastaların Lavaj Glikodelin, M-CSF ve serum M-CSF değerleri ile β hCG pozitifliği, gestasyonel kese varlığı ve FKA pozitifliği ilişkisine bakılmıştır (Tablo 4.8).

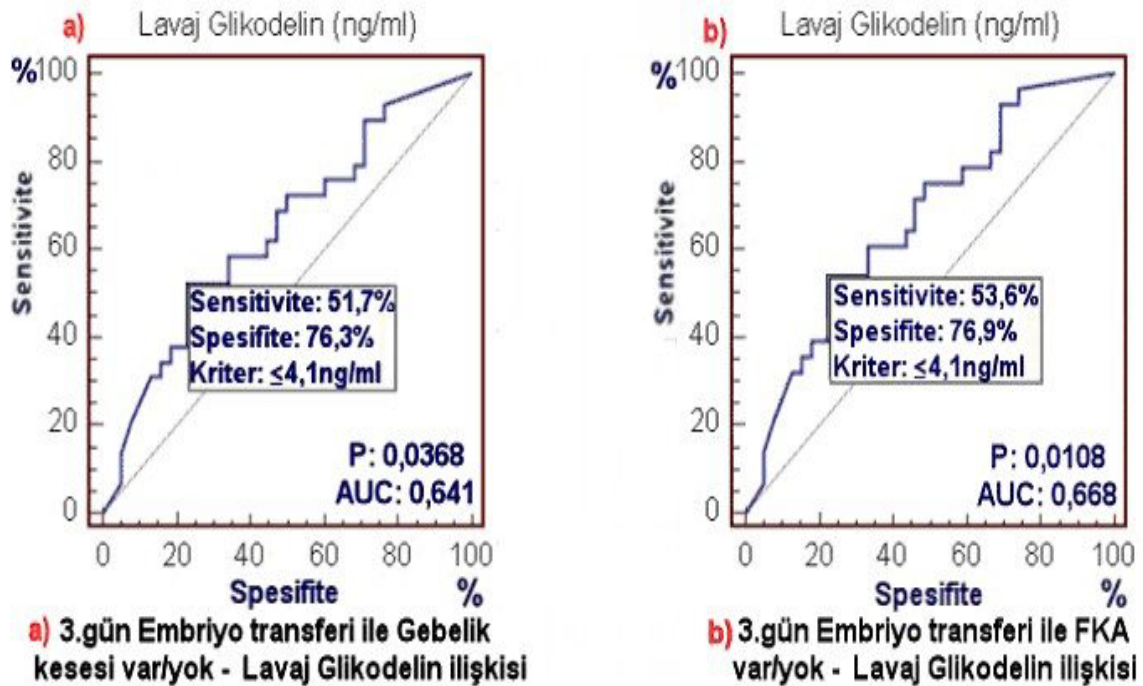
Tablo 4.8; Embriyo transferi 2., 3., ve 5. gün olan hastaların Lavaj Glikodelin, M-CSF ve serum M-CSF değerlerinin β hCG+, gestasyonel kese+ ve FKA +'liği ile olan ilişkisi

2. gün transfer olan 11 hasta												
	β hCG	n	Ortalama \pm sd	P	kese	n	Ortalama \pm sd	P	FKA	n	Ortalama \pm sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	yok	7	137,4 \pm 209,7	0,527	yok	7	137,4 \pm 209,7	0,527	yok	7	137,4 \pm 209,7	0,527
	var	4	68,6 \pm 123,0		var	4	68,6 \pm 123,0		var	4	68,6 \pm 123,05	
Lavaj M-CSF (pg/ml)	yok	7	10,78 \pm 14,2	0,788	yok	7	10,78 \pm 14,2	0,788	yok	7	10,78 \pm 14,22	0,788
	var	4	15,18 \pm 17,4		var	4	15,18 \pm 17,4		var	4	15,18 \pm 17,48	
Serum M-CSF (pg/ml)	yok	7	3,94 \pm 6,87	0,527	yok	7	3,94 \pm 6,87	0,527	yok	7	3,94 \pm 6,87	0,527
	var	4	0,38 \pm 0,21		var	4	0,38 \pm 0,21		var	4	0,38 \pm 0,21	
3. gün transfer olan 68 hasta												
	β hCG	n	Ortalama \pm sd	P	kese	n	Ortalama \pm sd	P	FKA	n	Ortalama \pm sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	yok	30	154,2 \pm 221,0	0,136	yok	38	150,1 \pm 215,4	0,049	yok	39	159,1 \pm 219,8	0,020
	var	37	100,4 \pm 174,9		var	29	90,9 \pm 168,2		var	28	76,3 \pm 151,3	
Lavaj M-CSF (pg/ml)	yok	30	3,38 \pm 7,60	0,923	yok	38	3,19 \pm 7,35	0,862	yok	39	3,11 \pm 7,27	0,943
	var	38	1,87 \pm 5,13		var	30	1,71 \pm 4,75		var	29	1,77 \pm 4,82	
Serum M-CSF (pg/ml)	yok	30	1,82 \pm 7,04	0,280	yok	38	1,49 \pm 6,27	0,995	yok	39	1,47 \pm 6,18	0,785
	var	38	1,07 \pm 4,58		var	30	1,28 \pm 5,15		var	29	1,30 \pm 5,24	
5. gün transfer olan 5 hasta												
	β hCG	n	Ortalama \pm sd	P	kese	n	Ortalama \pm sd	P	FKA	n	Ortalama \pm sd	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	yok	2	3,21 \pm 4,51	0,800	yok	3	7,44 \pm 7,99	0,800	yok	3	7,44 \pm 7,99	0,800
	var	3	5,33 \pm 9,15		var	2	0,045 \pm 0,007		var	2	0,045 \pm 0,007	
Lavaj M-CSF (pg/ml)	yok	2	0,001 \pm 0,000	*İstatistik yapılamadı	yok	3	0,001 \pm 0,000	*İstatistik yapılamadı	yok	3	0,001 \pm 0,000	*İstatistik yapılamadı
	var	3	0,001 \pm 0,000 düşük veri		var	2	0,001 \pm 0,000 düşük veri		var	2	0,001 \pm 0,000 düşük veri	
Serum M-CSF (pg/ml)	yok	2	0,56 \pm 0,089	0,800	yok	3	0,49 \pm 0,13	1,000	yok	3	0,49 \pm 0,13	1,000
	var	3	1,46 \pm 1,98		var	2	2,02 \pm 2,45		var	2	2,02 \pm 2,45	
(Mann-Whitney U Test)												
*: Düşük veri sebebiyle istatistik yapılamadı												

Embriyo transfer 2. gün olan hastaların Lavaj Glikodelin, Lavaj M-CSF ve Serum M-CSF değerleri ile β hCG, gebelik kesesi ve FKA arasında istatistiksel anlam çıkmamıştır. $P < 0,05$ anlamlılık düzeyinde embriyo transferi 3. gün olan hastaların, gebelik kesesi (**P: 0,049**) ve

FKA (**P: 0,020**) pozitif olan hastalarda anlamlı derecede daha düşük Lavaj Glikodelin değerleri bulunmuştur. Embriyo transfer 3. gün olan hastaların Lavaj M-CSF ve Serum M-CSF değerleri ile β hCG, gebelik kesesi ve FKA arasında istatistiksel anlam çıkmamıştır. Embriyo transfer 4. gün olan sadece 1 hasta olduğu için istatistiksel incelemeye dahil edilememiştir. Embriyo transferi 5. gün olan hastaların Lavaj M-CSF değerlerinin çok düşük ölçülmesi nedeniyle β hCG, gebelik kesesi ve FKA açısından istatistik yapılamamıştır. Embriyo transfer 5. gün olan hastaların Lavaj Glikodelin ve Serum M-CSF değerlerine, β hCG, gebelik kesesi ve FKA açısından bakıldığında ise aralarında istatistiksel bir anlam çıkmamıştır (Tablo 4.8).

ROC eğrisi ile 3.gün embriyo transferi olan hastaların Lavaj Glikodelin düzeyleriyle β hCG, gebelik kesesi ve FKA ilişkileri, sensitivite ve spesifite incelenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4; 3. gün embriyo transferi olan hastaların Lavaj Glikodelin ile **a)** Gebelik kesesi var/yok ve **b)** FKA var/yok açısından ROC eğrileri, (MedCalc 11.0.0)

Embriyo transfer günleri 3. gün olan hastaların serviko-vajinal lavajdan bakılan Glikodelin düzeyleri 4,1 ng/ml ve altında olan hastalarda: %51,7 duyarlılık ile %76,3 seçicilikte gebelik kesesi var (**P: 0,0368**) ve %53,6 duyarlılık ile %76,9 seçicilikte FKA var (**P: 0,0108**) şeklinde anlam izlenmiştir (Şekil 4.4).

Hastaların diğer karakteristik özellikleri

Hastaların karakteristik özelliklerini oluşturan verilerin ortalamaları, standart sapmaları ve P değerleri Tablo 4.9’da özetlenmiştir.

Tablo 4.9; Hastaların karakteristik özellikleri

Parametre	Tüm Hastalar (ort±sd) (n: 85)	+βhCG (ort±sd) (n:46)	- βhCG (ort±sd) (n:39)	P değeri
		+gebelik kesesi (ort±sd) (n:37)	- gebelik kesesi (ort±sd) (n:48)	
		+FKA (ort±sd) (n:35)	- FKA (ort±sd) (n:50)	
Yaş (yıl) (T test)	31,93±4,6	31,87±4,4	32±4,9	0,898
		31,24±4,4	32,46±4,7	0,230
		31,14±4,4	32,48±4,6	0,190
Vücut kitle indeksi (BMİ) kilo/boy ² (T test)	25,7±4,5	24,6±4,4	27,0±4,4	0,044
		24,5±4,8	26,6±4,1	0,066
		24,6±4,2	26,5±4,2	0,115
D3 FSH (mIU/ml) (T test)	6,0±1,79	6,2±1,9	5,7±1,5	0,248
		6,4±1,8	5,7±1,6	0,096
		6,50±1,89	5,7±1,67	0,054
D3 E ₂ (pg/ml) (T test)	41,0±18,4	43,5±21,4	38,2±14,0	0,205
		42,9±21,7	39,7±15,6	0,456
		42,7±22,5	39,9±15,3	0,519
D3 Antral follikül sayısı (T test)	11,7±4,8	11,9±4,1	11,4±5,5	0,684
		12,4±4,3	11,1±5,1	0,293
		12,2±4,3	11,3±5,1	0,475
İnfertilite süresi (yıl) (T test)	8,0±4,9	8,0±4,6	7,9±5,3	0,934
		7,7±4,7	8,2±5,2	0,699
		7,82±4,8	8,16±5,1	0,764
Önceki başarısız ICSI sayısı(n) (Mann Whitney U test)	0,55±0,76	0,50±0,81	0,62±0,71	0,223
		0,51±0,76	0,58±0,76	0,565
		0,49±0,78	0,60±0,75	0,319
Önceki Abortus sayısı (Mann-Witney U Test)	0,28±0,7	0,30±0,7	0,26±0,6	0,856
		0,30±0,7	0,27±0,7	0,789
		0,23±0,5	0,32±0,7	0,856
TSH (mIU/ml) (Mann-Witney U Test)	2,18±1,77	2,29±1,76	2,05±1,80	0,387
		2,4±1,8	2,0±1,6	0,232
		2,4±1,9	2,0±1,6	0,214
PRL (ng/ml) (Mann-Witney U Test)	27,3±133,3	17,8±72,7	39,3±183,7	0,869
		20,8±81,3	32,6±164,4	0,878
		21,4±82,5	31,9±162,4	0,759
D3 LH (ng/ml) (T test)	4,19±2,57	3,99±2,11	4,3±3,0	0,570
		4,4±2,0	3,9±2,8	0,464
		4,4±2,1	3,9±2,8	0,442

D21 Progesteron (ng/ml) (T test)	10,2±6,5	9,0±5,2	11,4±7,5	0,376
		9,0±5,2	11,4±7,5	0,376
		9,1±5,4	11,1±7,3	0,471
Topl. gonadotropin dozu (ünite) (Mann-Witney U Test)	2678±2859	2389±1263	3018±3995	0,867
		2211±1125	3038±3652	0,370
		2232±1146	3586±2990	0,442
hCG günü Endometrial kalınlık (mm) (T test)	10,6±2,0	10,6±1,7	10,7±2,3	0,923
		10,7±1,7	10,6±2,2	0,718
		10,8±1,7	10,5±2,2	0,528
hCG günü E ₂ (pg/ml) (T test)	2064±1081	2171±1133	1943±1020	0,347
		2131±1157	2013±1030	0,631
		2153±1189	2003±1009	0,544
hCG günü progesteron (ng/ml) (T test)	0,87±0,49	0,78±0,35	0,97±0,60	0,101
		0,73±0,32	0,98±0,57	0,015
		0,72±0,32	0,97±0,56	0,014
hCG günü LH(ng/ml) (T test)	1,47±0,89	1,09±0,74	1,67±0,92	0,173
		1,06±0,81	1,65±0,89	0,182
		1,05±0,90	1,61±0,87	0,236
hCG günü E ₂ /P oranı (T test)	2900±1992	3056±2047	2726±1942	0,469
		3207±2217	2674±1802	0,246
		3265±2272	2659±1768	0,190
Oosit pick-up sayısı (T test)	13,7±7,2	14,5±7,7	12,7±6,5	0,269
		14,4±7,7	13,1±6,8	0,445
		14,4±7,8	13,2±6,8	0,471
Matür Oosit sayısı (T test)	10,8±5,5	11,6±5,8	9,9±4,9	0,163
		11,7±5,9	10,1±5,1	0,190
		11,8±6,0	10,1±5,0	0,164
Embriyo transfer sayısı (Mann Whitney U test)	2,8±0,53	2,78±0,51	2,82±0,55	0,779
		2,7±0,5	2,8±0,5	0,497
		2,7±0,5	2,8±0,5	0,671
Embriyo kalitesi (Grade I) (Mann-Whitney U)	1,05±0,98	1,24±1,07	0,82±0,82	0,081
		1,27±1,04	0,88±0,91	0,076
		1,29±1,04	0,91±0,88	0,071
PHSS (progresif ileri hareketli sperm sayısı) (milyon/ml) (T test)	28,7±30,3	29,4±31,8	27,9±28,8	0,826
		30,3±34,5	27,5±27,0	0,687
		29,6±35,4	28,0±26,6	0,827

BMI daha düşük olan hastalarda anlamlı derecede daha yüksek pozitif β hCG oranları görülürken (**P:0,044**); gebelik kesesi (P:0,066) veya FKA (P:0,115) açısından bir anlam çıkmamıştır.

hCG günü progesteron oranları daha yüksek olan hastalarda ise anlamlı derecede daha düşük gebelik kesesi (**P:0,015**) ve FKA pozitifliği (**P:0,014**) oranları görülmüştür (Tablo 4.9).

Hastalardan 3 ve 3'ün üzerinde başarısız ICSI denemesi öyüsü olan hasta sayısı 5 olup (Tablo 4.10) β hCG, gebelik kesesi ve FKA pozitifliği açısından istatistiksel bir önemi çıkmamıştır.

Tablo 4.10; Başarısız YÜT ile β hCG, gebelik kesesi ve FKA +'liği ilişkisi

Başarısız YÜT ile gebelik (βhCG, gebelik kesesi ve FKA+liği)Çapraz tablosu					
		Başarısız YÜT		Toplam	P
		yok	var		
β hCG	yok	36	3	39	0,657
	var +	44	2	46	
Gebelik kesesi	yok	44	4	48	0,382
	var	36	1	37	
FKA	yok	46	4	50	0,644
	var	34	1	35	
Toplam		80	5	85	Fisher Exact Test

Hastalardan 2 ve 2'nin üzerinde abortus öyküsü olan hasta sayısı 6 olup (Tablo 4.11) β hCG, gebelik kesesi ve FKA pozitifliği açısından istatistiksel bir önemi çıkmamıştır.

Tablo 4.11; Rekürren abortus öyküsü ile β hCG, gebelik kesesi ve FKA +'liği ilişkisi

Rekürren abortus ile gebelik (βhCG, gebelik kesesi ve FKA+liği) Çapraz tablosu					
		Rekürren abortus		Toplam	P
		yok	var		
β hCG	Yok	37	2	39	0,683
	var +	42	4	46	
Gebelik kesesi	Yok	45	3	48	1,000
	Var	34	3	37	
FKA	Yok	46	4	50	1,000
	Var	33	2	35	
Toplam		79	6	85	Fisher Exact Test

Toplam 8 hastada endometriozis öyküsü mevcut olup 7'sinde β hCG, gebelik kesesi ve FKA pozitifliği elde edilmiştir. Bu 8 hastanın Lavaj Glikodelin, M-CSF ve Serum M-CSF değerleri Tablo 4.12'de verilmiş olup; endometriozisi olmayanlara (n: 77) göre $p < 0,05$ açısından istatistiksel bir anlam çıkmamıştır.

Tablo 4.12; Endometriyozis öyküsü ile Lavaj Glikodelin, M-CSF ve serum M-CSF değerleri

Endometriyozis ile Lavaj Glikodelin, M-CSF ve serum M-CSF değerleri			
(Mann Whitney U test)	Endometriyozis		P
	Yok (77 hasta) (Ortalama±sd)	Var (8 hasta) (Ortalama±sd)	
Lavaj Glikodelin (ng/ml)	130,27±198,97	10,5±13,4	0,096
Lavaj M-CSF (pg/ml)	3,21±7,57	7,67±13,98	0,336
Serum M-CSF (pg/ml)	1,61±7,59	0,75±1,22	0,940

Toplam 9 hastada histeroskopi ile tanı konulmuş ve eksize edilmiş polip öyküsü mevcut olup sadece 2'sinde β hCG, gebelik kesesi ve FKA pozitifliği elde edilmiştir (Tablo 4.13). Bu 9 hastanın Lavaj Glikodelin, M-CSF ve Serum M-CSF değerleri olmayanlara (n: 76) göre $p < 0,05$ açısından istatistiksel bir anlam çıkmamıştır.

Tablo 4.13; Polip öyküsü ile β hCG, gebelik kesesi ve FKA +'liği ile Lavaj Glikodelin, M-CSF ve serum M-CSF değerleri ilişkisi

Polip ile gebelik (βhCG, gebelik kesesi ve FKA+liği) ve Lavaj Glikodelin, M-CSF ve serum M-CSF değerleri				
(Mann Whitney U Test)		Polip		Toplam
		yok	var	
β hCG	yok	32 (%37,6)	7 (%8,2)	39 (%45,9)
	var +	44 (%51,8)	2 (%2,4)	46 (%54,1)
Gebelik kesesi	yok	41 (%48,2)	7 (%8,2)	48 (%56,5)
	var	35 (%41,2)	2 (%2,4)	37 (%43,5)
FKA	yok	43 (%50,6)	7 (%8,2)	50 (%58,8)
	var	33 (%38,8)	2 (%2,4)	35 (%41,2)
Toplam		76 (%89,4)	9 (%10,6)	85 (%100)
		polip yok (n: 76) (Ortalama±sd)	polip var (n: 9) (Ortalama±sd)	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)		127,0±196,3	63,63±164,2	0,210
Lavaj M-CSF (pg/ml)		3,66±8,20	3,39±10,12	0,801
Serum M-CSF (pg/ml)		1,42±5,48	2,45±6,14	0,770

Siklus Özellikleri

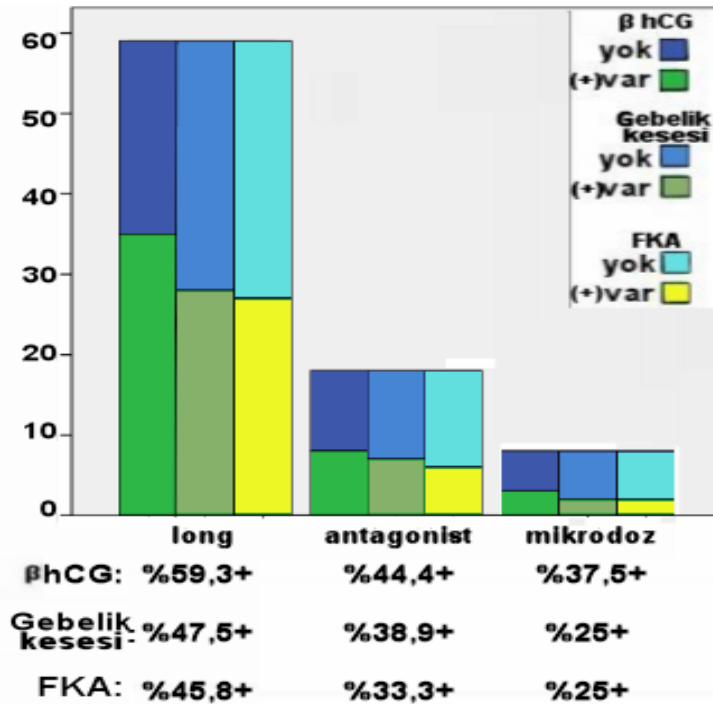
Hastaların gonadotropinlere cevabı, toplanan oosit sayısına göre sınıflanmış; <5 düşük cevap, 6-10 arası orta cevap ve 11< üzeri yüksek cevap olarak ayrılmış olup β hCG, gebelik kesesi ve FKA pozitifliği açısından istatistiksel bir önemi çıkmamıştır (Tablo 4.14).

Tablo 4.14; Gonadotropinler cevap ile gebelik ilişkisi

Gonadotropinler cevap (OPUsayısı) ile gebelik Çapraz tablosu						
(Pearson Chi-Square Test)		Gonadotropinlere cevap			Toplam	P
		düşük	orta	yüksek		
β hCG	Yok	6	10	23	39	0,417
	var +	3	13	30	46	
Gebelik kesesi	Yok	6	14	28	48	0,655
	Var	3	9	25	37	
FKA	Yok	6	15	29	50	0,611
	Var	3	8	24	35	
Toplam		9	23	53	85	

Gonadotropinler cevap: (OPU'da <5 follükül: düşük cevap, 6-10 orta, 11< yüksek cevap)
(Gonadotropinlere düşük cevap veren hastaların toplanan follükül sayısı 3'ün üzerinde olup [3<follükül sayısı<5]; hastaların pik E₂ düzeyleri de 500 pg/ml'nin üzerindedir)

Hastaların ovulasyon indüksiyonu protokollerine göre olan gebelik (β hCG, gebelik kesesi ve FKA pozitifliği) yüzdeleri de Şekil 4.5 ve Tablo 4.15'de verilmiş olup β hCG, gebelik kesesi ve FKA pozitifliği açısından istatistiksel bir önemi çıkmamıştır.



Şekil 4.5; Ovulasyon indüksiyonu protokollerine göre β hCG, gebelik kesesi ve FKA yüzdeleri

Tablo 4.15; Ovulasyon indüksiyon protokollerine göre β hCG, gebelik kesesi ve FKA yüzdeleri

Ovulasyon indüksiyon protokollerine göre gebelik yüzdeleri						
(Pearson Chi-Square Test)		tedavi protokolü			Toplam	P
		long	antagonist	mikrodoz		
β hCG	yok	24 (%40,7)	10 (%55,6)	5 (%62,5)	39 (%45,9)	0,331
	var +	35 (%59,3)	8 (%44,4)	3 (%37,5)	46 (%54,1)	
Gebelik kesesi	yok	31 (%52,5)	11 (%61,1)	6 (%75)	48 (%56,5)	0,439
	var	28 (%47,5)	7 (%38,9)	2 (%25)	37 (%43,5)	
FKA	yok	32 (%54,2)	12 (%66,7)	6 (%75)	50 (%58,8)	0,400
	var	27 (%45,8)	6 (%33,3)	2 (%25)	35 (%41,2)	
Toplam		59 (%64,9)	18 (%21,2)	8 (%9,4)	85 (%100)	

Toplam 8 hastada embriyo transferi zor olup sadece 4'ünde β hCG pozitifliği, 3'ünde gebelik kesesi pozitifliği ve 2'sinde de FKA pozitifliği elde edilmiştir (Tablo 4.16). Bu 8 hastanın Lavaj Glikodelin, M-CSF ve Serum M-CSF değerleri olmayanlara (n: 77) göre $p < 0,05$ açısından istatistiksel bir anlam çıkmamıştır.

Tablo 4.16; Embriyo transferi zorluğu ile β hCG, gebelik kesesi ve FKA +'liği ile Lavaj Glikodelin, M-CSF ve serum M-CSF değerleri ilişkisi

Transfer zorluğu ile gebelik (βhCG, gebelik kesesi ve FKA +'liği) ve Lavaj Glikodelin, M-CSF ve serum M-CSF değerleri				
(Mann Whitney U Test)		Transfer		Toplam
		kolay	zor	
β hCG	yok	35 (%41,2)	4 (%4,7)	39 (%45,9)
	var +	42 (%49,4)	4 (%4,7)	46 (%54,1)
Gebelik kesesi	yok	43 (%50,6)	5 (%5,9)	48 (%56,5)
	var	34 (%40,0)	3 (%3,5)	37 (%43,5)
FKA	yok	44 (%51,8)	6 (%7,1)	50 (%58,8)
	var	33 (%38,8)	2 (%2,4)	35 (%41,2)
Toplam		77 (%90,6)	8 (%9,4)	85 (%100)
		kolay (n: 77) (Ortalama \pm sd)	zor (n: 8) (Ortalama \pm sd)	P
Lavaj Glikodelin (ng/ml)		119,17 \pm 190,9	130,88 \pm 228,2	0,240
Lavaj M-CSF (pg/ml)		4,01 \pm 8,70	0,025 \pm 0,034	0,969
Serum M-CSF (pg/ml)		1,65 \pm 5,79	0,29 \pm 0,23	0,076

Hastalardan Asiste Hatching yapılan hasta sayısı 12 olup β hCG, gebelik kesesi ve FKA pozitifliği açısından istatistiksel bir önemi çıkmamıştır (Tablo 4.17).

Tablo 4.17; Asitse Hatching ile β hCG, gebelik kesesi ve FKA +’liği ilişkisi

Asitse Hatching ve gebelik (βhCG, gebelik kesesi ve FKA +’liği) apraz tablosu					
		Asitse Hatching		Toplam	P
		yok	var		
β hCG	Yok	33 (%45,2)	6 (%50)	39 (%45,9)	0,766
	var +	40 (%54,8)	6 (%50)	46 (%54,1)	
Gebelik kesesi	Yok	41 (%56,2)	7 (%58,3)	48 (%56,5)	1,000
	Var	32 (%43,8)	5 (%41,8)	37 (%43,5)	
FKA	Yok	42 (%57,5)	8 (%66,7)	50 (%58,8)	0,754
	Var	31 (%42,5)	4 (%33,3)	35 (%41,2)	
Toplam		73 (%85,9)	12 (%14,1)	85 (%100)	Fisher Exact Test

Hastalardan Ko-kültür yapılan hasta sayısı 17 olup β hCG, gebelik kesesi ve FKA pozitifliği açısından istatistiksel bir önemi çıkmamıştır (Tablo 4.18).

Tablo 4.18; Ko-kültür ile β hCG, gebelik kesesi ve FKA +’liği ilişkisi

Ko-kültür ve gebelik (βhCG, gebelik kesesi ve FKA +’liği) apraz tablosu					
		Ko-kültür		Toplam	P
		yok	var		
β hCG	Yok	31 (%45,6)	8 (%47,1)	39 (%45,9)	1,000
	var +	37 (%54,4)	9 (%52,9)	46 (%54,1)	
Gebelik kesesi	Yok	38 (%55,9)	10 (%58,8)	48 (%56,5)	1,000
	Var	30 (%44,1)	7 (%41,2)	37 (%43,5)	
FKA	Yok	39 (%57,4)	11 (%64,7)	50 (%58,8)	0,784
	Var	29 (%42,6)	6 (%35,3)	35 (%41,2)	
Toplam		68 (%80)	17 (%20)	85 (%100)	Fisher Exact Test

Hastalardan endometrial uyarı yapılıp yapılmayanlara göre olan gebelik (β hCG, gebelik kesesi ve FKA +’liği) yüzdeleri de Tablo 4.19’de verilmiştir.

Tablo 4.19; Endometrial uyarı ile β hCG, gebelik kesesi ve FKA +’liği yüzdeleri

Endometrial uyarı ile gebelik (βhCG, gebelik kesesi ve FKA +’liği) apraz tablosu					
		Endometrial uyarı			Toplam
		yok	1 kez	2 kez	
β hCG	Yok	34 (%45,9)	2 (%40)	3 (%50)	39 (%45,9)
	var +	40 (%54,1)	3 (%60)	3 (%50)	46 (%54,1)
Gebelik kesesi	Yok	42 (%56,8)	3 (%60)	3 (%50)	48 (%56,5)
	Var	32 (%43,2)	2 (%40)	3 (%50)	37 (%43,5)
FKA	Yok	43 (%58,1)	3 (%60)	4 (%66,7)	50 (%58,8)
	Var	31 (%41,9)	2 (%40)	2 (%33,3)	35 (%41,2)
Toplam		74 (%87,1)	5 (%5,9)	6 (%7,1)	85 (%100)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüz YÜT uygulamalarında kaliteli embriyolar elde edilebilmesine rağmen; implantasyon başarısızlıkları nedeniyle ortalama canlı doğum oranları halen %45'i geçememektedir. İmplantasyon sürecinin aydınlatılması için endometrium ile embriyo arasındaki karmaşık diyalogu oluşturduğu düşünülen pek çok moleküler belirteç araştırılmıştır (LIF, integrin $\alpha\beta_3$, MUC1, HB-EGF, IGF₁, IGF₂, TGF- β , HOXA₁₀₋₁₁, DKK₁, Ephrin peptidleri, IL₁₋₆, kalsitonin, osteopontin, PAF, VEGF, EGF, MMP₂₋₉, TIMP₁, COX₁₋₂, PGE₂, progesteron reseptörleri, pinopodlar, M-CSF, Glikodelin,...(5; 86; 105)). Ancak implantasyonun moleküler mekanizması ve endometrial reseptivite tam olarak açıklığa kavuşturulamadığı gibi; öne sürülen çeşitli nedenler üzerinden de implantasyon olasılığını artıracak bir tedavi yöntemi henüz belirlenebilmiş değildir.

Glikodelin ve M-CSF implantasyon penceresine uygun dönemde serumdan, endometrium dokusundan ve serviko-vajinal sıvılardan eksprese olmaktadır (4; 6) ve endometrial reseptiviteyi belirlemek için çalışılabilecek önemli belirteçlerdendir. Biz de bu çalışmamızda ICSI planlanan hastaların embriyo transfer günü serum ve serviko-vajinal lavaj örneklerinden Glikodelin ve M-CSF'yi çalıştık ve sonuçları gebelik oranlarıyla karşılaştırdık.

Hayatama, Kanzaki ve arkadaşlarının çalışmalarda in vitro kültüre endometrium dokusunda progesteronla up-regüle desidualizasyon sürecindeki M-CSF ekspresyonu gösterilmiştir (214; 215). Sharkey ve arkadaşları preimplantasyon embriyoda M-CSF reseptörü (c-fms) transkripsiyonunu göstermişlerdir (206). Zolti ve arkadaşları oositlerde ve erken dönem embriyolarda M-CSF ekspresyonunu göstererek; bunun folliküler ve embriyonik gelişim regülasyonu haricinde maternal immunolojik fark edilmeye de sebep olabileceğini iddia etmişlerdir (219). Kauma ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada proliferatif fazdaki endometrial glandlara göre sekretuar faz ve 1. trimester desiduada çok daha fazla miktarda M-CSF bulunduğu gösterilmiştir (216). Katano ve arkadaşlarının rekürren abortus öyküsü olan hastalarda yaptığı bir çalışmada prekonsepsiyonel ve konsepsiyonel serum M-CSF değerleri kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur (221). Bizim çalışmamızda ise Rekürren abortus öyküsü olan (n: 6) ve olmayan (n: 79) kadınların ET günü lavaj M-CSF ve serum M-CSF düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Wolff ve arkadaşları folliküler ve erken sekretuar fazda düşük düzeyde olan M-CSF mRNA düzeylerinin mid-sekretuar fazda artarak, geç sekretuar fazda da pik yaptığını göstermişlerdir (285). Nishimura ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada IVF sikluslarında serum M-CSF düzeylerinin normo-responder hastalarda folliküler fazda düşük olup hCG uygulamasından sonra midluteal faza kadar arttığı (OPU ve sonrası 2 gün pik yaptığı); poor-responder hastalarda bu artışın izlenmediğini (208); Takasaki ve arkadaşları da erken folliküler fazda düşük seviyede serum M-CSF düzeyleri olan poor-responder hastaların sikluslarına M-CSF eklenmesiyle %40'a varan gebelik oranları bildirmişlerdir (212). Licht ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada intrauterin mikrodializ sistemiyle ölçülen M-CSF düzeylerinin sekretuar fazda proliferatif faza göre daha yüksek seyrettiği gösterilmiş; geç luteal fazda intrauterin yolla üriner hCG verilmesinden sonra ise intrauterin M-CSF düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir (286). Dominguez ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada blastokistlerin kültür medyumlarından M-CSF düzeyleri bakıldığında sonradan implante olan ve de olamayan blastokistlerin M-CSF düzeyleri arasında fark olmadığı bildirilmiştir (287). Gargiulo ve arkadaşlarının serviko-vajinal sekresyonlarda ve serumda M-CSF düzeyleri menstrüel siklusun fazlarına göre yaptığı bir çalışmada; serviko-vajinal sekresyonlardaki M-CSF düzeylerinin siklusun 1-4. günlerde artmaya başlayıp, 7-9. günlerinde pik yaptığı, LH pikinden 1 gün sonraya kadar yüksek seyredip, LH piki sonrası 7. günde de en düşük seviyeye indiği; ancak serum M-CSF düzeylerinin ise ne menstrüel fazlar ile, ne de serviko-vajinal sekresyonların düzeyleri ile uyumlu olmadığı gösterilmiştir (6). Salmassi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada gebe kalan hastaların serum M-CSF düzeyleri embriyo transferi (ET) ve implantasyondan itibaren artarak gebe kalamayan hastaların luteal fazına göre daha yüksek seyretmiş olup; bu artışın desiduaya invazyona sekonder bir inflamatuvar süreci yansıttığını iddia etmişlerdir (7). Bizim çalışmamızda ise normo-responder hastaların ET günü serum ve serviko-vajinal lavajlarından bakılan M-CSF düzeyleri ile gebelik oranları; serum β hCG, ultrasonda gebelik kesesi ve FKA var/yok açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Li ve arkadaşlarının fertil ve normal menstrüel siklusu olan gönüllülerle yaptığı bir çalışmada uterin flushing ile Glikodelin düzeylerine bakıldığında proliferatif fazda, periovulatuvar fertil dönemde ve erken luteal fazda düşük düzeylerde iken LH piki sonrası 6. gün itibariyle (midluteal fazda-implantasyon penceresi) süratle artarak geç luteal fazda da maksimum seviyelere ulaştığını bildirmişlerdir (167). Mylonas ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada da endometrial dokulardan monoklonal antikorlarla tespit ettikleri

Glikodelin-A düzeylerini proliferatif faza göre geç sekretuar fazda anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır (165). Postovulatar 5. günden (siklusun 19-20. günü) itibaren implantasyon penceresinde (LH piki sonrası 6-10 gün) ve geç luteal fazda endometrial ekspresyonu iyice artan Glikodelin-A'nın T lenfositleri, NK lenfositler ve antijen sunan monosit kökenli dentritik hücreler üzerine immünsüpresif etkileri ile (168; 288) fetal allogrefti maternal immun sistemden koruyarak, implantasyona izin verdiği düşünülmektedir (4; 11). Kao ve arkadaşları, mid-sekretuar implantasyon penceresi döneminde (LH piki sonrası 8-10. günlerde) normal siklusu olan 18 gönüllüden aldıkları endometrial biyopsiden RNA hibridizasyonu ile gen profilini bakmışlardır; ve Glikodelin geninin sekretuar fazda proliferatif faza göre 14,6 kat artığını bulmuşlardır (12).

Salim ve arkadaşlarının bir çalışmasında tekrarlayan düşük öyküsü olan 20 hastanın LH piki sonrası 7. günde endometrial yıkama sıvılarından bakılan Glikodelin düzeyleri; 16 kişilik fertil kontrol gurubundan anlamlı ölçüde daha düşük bulunmuştur (14). Dalton ve arkadaşları tekrarlayan düşükleri olan 49 hastanın LH piki sonrası 10 ve 12. günlerde serum ve uterin yıkama sıvılarından Glikodelin konsantrasyonlarını, 15 fertil kadınınkileri ile kıyasladıklarında tekrarlayan düşük hikayesi olan kadınlarda uterin sıvı Glikodelin konsantrasyonlarını anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Serum Glikodelin seviyelerinde fark çıkmamıştır. Aynı çalışmanın takibinde tekrarlayan düşük hikayesi olan kadınlardan gebe kalanların (n: 47) LH piki sonrası 7 ve 10-12. günlerde uterin yıkama sıvılarına bakıldığında da; düşükle sonuçlananların (n: 16) canlı doğumla sonuçlanan gebeliklere (n: 31) göre anlamlı derecede daha düşük Glikodelin düzeyleri olduğu bulunmuştur; fakat serum Glikodelin değerleri arasında bir fark bulunamamıştır (191). Bizim çalışmamızda ise tekrarlayan düşük hikayesi olan (n: 6) ve olmayan (n: 79) kadınların ET günü lavaj Glikodelin düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ancak aborte eden 2 hastanın embriyo transfer günü bakılan Lavaj Glikodelin değerleri, FKA pozitif olan 34 hastadan yaklaşık 7 kat fazla miktarda olup; ayrıca β hCG negatif olan 39 hastadan, gebelik kesesi 0 olan 48 hastadan, FKA izlenmeyen 50 hastadan ve biyokimyasal gebeliği olan 8 hastadan da yaklaşık 3-4 kat fazla olduğu bulunmuştur. Yani endometrial reseptivite başarızlığı, embriyotrofik faktörlerden daha ağır basıyor olabilir.

Hastalardan biyokimyasal gebeliği olan 8 hastanın Lavaj Glikodelin değerleri, gebelik kesesi ve FKA pozitifliği ile karşılaştırıldığında istatistiksel bir farklılık çıkmamıştır. Buna

göre biyokimyasal gebelik reseptivite problemlerinden çok; embriyonik faktörler sonucunda oluyor gibi gözükmektedir.

Westergaard ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ICSI planlanan 20 hastanın tedavi öncesi 2 siklusu ve tedavi siklusu serum Glikodelin düzeyleri düzenli olarak (siklusun 2, 8, 12, 14, 20, 24, 28. günleri) ölçüldüğünde; tedavi ile gebe kalan 7 hastanın tedavi öncesi 2 siklus ve tedavi siklusunda da, gebe kalamayan 13 hastaya oranla anlamlı ölçüde daha düşük serum Glikodelin düzeylerinin olduğunu; ancak gebe kaldıkları siklusun geç luteal fazında ise gebe kalamayan hastalara göre anlamlı ölçüde daha yüksek Glikodelin düzeylerinin görüldüğünü bildirmişlerdir (170). Chryssikopoulos ve arkadaşları tarafından ICSI yapılan 26 hastanın değerlendirilmesinde hCG ve ET günü serum Glikodelin konsantrasyonları; gebe kalan 8 hastada, gebe kalamayan 18 hastadan daha yüksek olarak tespit edilmiştir (289). Liu ve arkadaşları ICSI yapılan hastaların OPU ve ET günü serum Glikodelin konsantrasyonlarını IVF sonuçlarıyla değerlendirdiklerinde, gebe kalan ve kalamayan gruplar arasında anlamlı fark bulmamışlardır; ancak gene de OPU ve ET günü arasındaki serum Glikodelin artışı ve Glikodelin oranları gebe kalan guruplarda daha fazla bulunmuştur (290). Oehninger ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Glikodelin ile inkübe edilen spermlerin inkübe edilmeyenler göre doz bağımlı ve daha az miktarda zona pellusidaya bağlandıkları gösterilmiştir (178). Yani Glikodelin fertil midsiklusta spermin başına bağlanarak, sperm ile oositin tutunmasını inhibe edebilir (kontraseptif etki). Durand ve arkadaşlarının bir çalışmasında LH piki öncesi acil kontrasepsiyon maksadı ile 0,75 gr levonorgesterol (LNG)'ün 12 saat ara ile oral alınmasını takiben serum Glikodelin değerlerinin luteal fazda erkenden yükseldiğini ve LH piki sonrası 9. gün aldıkları endometrial biyopsilerdeki Glikodelin-A düzeylerinin de daha düşük olduğunu belirtmişlerdir (197). Mandelin ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada LNG'li RİA kullanan 6 hastanın hepsinde ve bakırlı RİA kullanan 11 hastanında 4'ünden siklusun 7-16. günleri arasında fertil midsiklusta alınan endometrial spesmenlerde Glikodelin-A artışı göstermişler; ve Glikodelin-A'nın sperm-ovum bağlanmasını inhibe edici etkisiyle kontraseptif etkiye katkıda bulunduğunu belirtmişlerdir (198).

Glikodelin-A'nın siklusun 5. ve 19-20. günler arasında ve özellikle perioovuluar dönemde endometrial düzeyleri düşüktür ve fertilizasyona izin verir (168). Bizim çalışmamız da bu yönde anlamlı sonuç vermiştir; yani ET günü serviko-vajinal lavajdan bakılan Glikodelin düzeyleri ile gebelik oranları; serum β hCG, ultrasonda gebelik kesesi ve FKA var/yok

açısından karşılaştırıldığında; serum β hCG açısından anlamlı bir fark bulunamamışsa da ultrasonda gebelik kesesi ve FKA saptanan hastalarda anlamlı derecede daha düşük lavaj Glikodelin düzeyleri bulunmuştur. Çalışmamızda ET günleri ayrı ayrı incelendiğinde ET günü 3. gün olan hastalar (n: 68) için de aynı benzer sonuçlar ortaya çıkmıştır.

Mackenna ve arkadaşları, açıklanamayan infertilitesi olan hastalarda (n: 16) LH piki sonrası 7, 10 ve 12. günlerde serum ve uterin yıkama sıvılarında Glikodelin düzeyleri bakarak kontrol grubu (n: 10) ile karşılaştırılmışlardır. Serum düzeylerinde ve LH piki sonrası 7. gün uterin yıkama sıvılarında anlamlı bir fark izlenmezken; LH piki sonrası 10 ve 12. günlerdeki uterin yıkama sıvısı Glikodelin düzeyleri açıklanamayan infertilite hastalarında, kontrol gurubuna göre anlamlı derecede daha düşük saptanmıştır (190). Bizim çalışmamızda ise açıklanamayan infertilitesi olan hastaların (n: 48) ET günü serviko-vajinal lavajdan bakılan Glikodelin düzeyleri serum β hCG, ultrasonda gebelik kesesi ve FKA'sı var olan hastalarda; olmayanlara göre anlamlı derecede daha düşük lavaj Glikodelin düzeyleri bulunmuştur. Çalışmamızdaki erkek faktör infertilitesi olan hastaların Lavaj Glikodelin değerleriyle β hCG, gebelik kesesi ve FKA açısından bakıldığında bir anlam çıkmamıştır. Bu da göstermektedir ki; açıklanamayan infertilite bir endometrial reseptivite sorunudur. Erkek faktöründe ise reseptivite sorunu yoktur.

Kao ve arkadaşları, mid-sekretuar implantasyon penceresi döneminde endometriozisi olan hastalardan (n: 8) alınan endometrial biyopsi gen profillerini kontrol grubu (n: 7) ile karşılaştırdıklarında Glikodelin geninin endometriozisi olanlarda 51,5 kat daha az olduğunu göstermişlerdir (164). Bizim çalışmamızda da endometriozis olan hastaların (n: 8, ortalama $10,5 \pm 13,4$ ng/ml) ET günü serviko-vajinal lavajdan bakılan Glikodelin değerleri olmayanlara (n: 77, ortalama $130,27 \pm 198,97$ ng/ml) göre daha düşük ortalama değerlerde olmakla birlikte $P < 0,05$ açısından anlamlı çıkmamıştır.

Styne-Gross ve arkadaşlarının donör oosit alıcıları üzerine yaptığı bir çalışmada obez olan ve olmayan hastaların implantasyon ve gebelik oranlarına baktıklarında, aralarında bir fark bulmamışlardır (291). Bellver ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, BMI arttıkça implantasyon ve gebelik oranlarında negetaf bir sonuç gözükmeyle birlikte; istatistiksel bir anlam çıkmamıştır (292). Bizim çalışmamızda ise BMI daha yüksek olanlarda anlamlı derecede daha düşük pozitif β hCG oranlarının görülmesi, obezitenin endometrial reseptiviteyi olumsuz etkilediğini düşündürmektedir. Ancak bizim çalışmamızda da BMI

arttıkça ultrasonda gebelik kesesi ve FKA açısından daha negetaf bir sonuç izlenimi görülmekle birlikte; istatistiksel bir anlam çıkmamıştır

Venetic ve arkadaşlarının bir meta-analizinde hCG günü progesteron düzeyleri yüksekliği ile gebelik oranları açısından anlamlı bir fark olmadığını belirtmişlerdir (293). Bizim çalışmamızda ise hCG günü progesteron oranları daha yüksek olan hastalarda anlamlı derecede daha düşük gebelik kesesi ve FKA pozitifliğinin görülmesi; endometrial advancesmanın bir göstergesi olan hCG günü progesteron yüksekliğinin reseptiviteyi azalttığını düşündürmektedir.

Motorras ve arkadaşlarının 1835 embriyo transferi üzerine yaptığı bir çalışmada, implante olan her bir embriyonun, embriyo-endometrium arası etkileşimlerle diğer bir embriyoya da yardımcı olarak, diğerinin implantasyon olasılığını %22 oranında artırdığı gösterilmiştir (294). Matias ve arkadaşlarının YÜT gebelikleri üzerine bir çalışmada ikiz gebeliklerdeki abortus rakamlarının teklerden 2/5 kat daha az olduğunu söylemişlerdir (295). Lambers ve arkadaşlarının gebe kalan ICSI hastaları üzerine yaptıkları bir çalışmada da, takip ettikleri 936 adet ikiz gebelikten %79,6'sının ikiz olarak ve %17,9'unun da tek gebelik olarak devam ettiğini; ancak %2,5 oranında (n: 11) abortus görüldüğünü bildirmişler; takip ettikleri 1148 adet tek gebeliğin de %81,5 oranında devam ettiğini ve %18,5 oranında (n: 212) abortus görüldüğünü bildirmişlerdir. Toplam gebelik kaybı %2,5 (ikiz)'e %18,5 (tek) ve gebelik kesesi başına kayıp da %11,46 (ikiz)'ya %18,5 (tek) olup ikizlerde abortus oranlarının teklere göre anlamlı derecede düşük olduğunu ($P<0,001$) göstermişlerdir. Bunun nedeni olarak ikiz gebeliklerde teklere oranla daha fazla progesteron ve hCG üretilmesiyle birlikte Glikodelin gibi implantasyon faktörlerinin de daha fazla salgılanmasına ve böylece ikizlerde uterin çevrenin teklerden daha müsait olduğunu iddia etmişlerdir (296). Bizim çalışmamızda da tek gebelik kesesi olan 19 hastadan 2'si (%10,5) aborte ederken; ikiz gebelik kesesi olanlarda (n: 16) gebelik kaybı yaşanmadı ancak ikiz olan 2 hastanın (%12,5) gebeliği tek gebelik şeklinde devam etti. Ayrıca ikiz FKA pozitif olanların ET günü bakılan lavaj Glikodelin konsantrasyonları, tek FKA pozitif olanlara göre anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur.

İkiz gebeliklerde daha düşük olan abortus rakamları ile birlikte, teklere oranla Glikodelin gibi implantasyon belirteçlerinin daha fazla salgılanması; ikiz embriyoların birbirleri ve

desiduayla olan diyalogları sayesinde daha uygun bir endometrial mikro-çevre oluşturarak birbirlerinin implantasyonunu kolaylaştırdıkları şeklinde yorumlanabilir.

IVF prognozunu önceden belirleyebilecek bir implantasyon belirteci olarak çok umut verici olan Glikodelin, siklusun periyoduna göre midsiklus fertil penceredeki düşük olan düzeyleri ile, çalışmamızda da görüldüğü gibi fertilizasyona imkan sağlamıştır.

Daha önce kliniğimizde yapılan Ilgın ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada, YÜT öncesi sekretuar fazda Ofis Histeroskopi ile alınan endometrial biyopsi örneklerindeki Glikodelin-A ekspresyonları; YÜT sonuçlarıyla retrospektif olarak karşılaştırılmış; luminal-glanduler epitel ve stromal HSCORE (boyanma yoğunluğunun ışık mikroskobu ile semikantitatif histolojik skorlanması) değerlerinin gebe kalan (β hCG pozitif olan) grupta, gebe kalamayan gruba göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu görülmüştür (10). Bu da göstermiştir ki siklusun midluteal implantasyon aralığında, bu sefer yüksek olan Glikodelin düzeyleri implantasyon yardımcı olmaktadır.

Glikodelin, fertilizasyon problemi nedeniyle ve de endometrial reseptivite ve implantasyon yetmezliği nedeniyle tekrarlayan IVF başarısızlığı olan hastaların tanısında faydalı olabilir. Üstelik Glikodelin'in kontraseptif amaçlı kullanılması da mümkün gözükmektedir. Endometrial dokuya alternatif olarak kolayca serumda ve uterin sıvıda da tespit edilebilir. Glikodelin ile ilgili çalışmaların sayısı artıka fertilizasyon ve implantasyon için önemi daha iyi anlaşılacaktır. Böylelikle hem infertil çiftler için yeni tedavi yöntemleri geliştirilebilecek; hem de fertil çiftler için yeni kontrasepsiyon teknikleri sağlanabilecektir.

6. KAYNAKLAR :

- 1) Speroff L, Fritz MA: Clinical gynecologic endocrinology and infertility. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2005
- 2) Tabibzadeh S, Babaknia A: The signals and molecular pathways involved in implantation, a symbiotic interaction between blastocyst and endometrium involving adhesion and tissue invasion. *Hum Reprod* 10:1579-1602, 1995
- 3) Ola B, Li TC: Implantation failure following in-vitro fertilization. *Curr Opin Obstet Gynecol* 18:440-445, 2006
- 4) Lindhard A, Bentin-Ley U, Ravn V, Islin H, Hviid T, Rex S, Bangsboll S, Sorensen S: Biochemical evaluation of endometrial function at the time of implantation. *Fertil Steril* 78:221-233, 2002
- 5) Aghajanova L, Hamilton AE, Giudice LC: Uterine receptivity to human embryonic implantation: histology, biomarkers, and transcriptomics. *Semin Cell Dev Biol* 19:204-211, 2008
- 6) Gargiulo AR, Fichorova RN, Politch JA, Hill JA, Anderson DJ: Detection of implantation-related cytokines in cervicovaginal secretions and peripheral blood of fertile women during ovulatory menstrual cycles. *Fertil Steril* 82 Suppl 3:1226-1234, 2004
- 7) Salmassi A, Mettler L, Jonat W, Buck S, Koch K, Schmutzler AG: Circulating level of macrophage colony-stimulating factor can be predictive for human in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril*, 2008
- 8) Stavreus-Evers A, Mandelin E, Koistinen R, Aghajanova L, Hovatta O, Seppala M: Glycodelin is present in pinopodes of receptive-phase human endometrium and is associated with down-regulation of progesterone receptor B. *Fertil Steril* 85:1803-1811, 2006
- 9) Zeyneloglu HB, Ilgin, A., Haberal, N., Onalan, G.: Endometrial glycodelin-a expression in patients with IVF failure. *Fertil Steril* 88:156, 2007
- 10) Ilgin A: Yardımlı Üreme Teknikleri Uygulama Sonrası _mplantasyon Başarısızlığında Endometrium: Glikodelin-A Ekspresyonunun Değerlendirilmesi. Baskent Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2007
- 11) Okamoto N, Uchida A, Takakura K, Kariya Y, Kanzaki H, Riittinen L, Koistinen R, Seppala M, Mori T: Suppression by human placental protein 14 of natural killer cell activity. *Am J Reprod Immunol* 26:137-142, 1991
- 12) Kao LC, Tulac S, Lobo S, Imani B, Yang JP, Germeyer A, Osteen K, Taylor RN, Lessey BA, Giudice LC: Global gene profiling in human endometrium during the window of implantation. *Endocrinology* 143:2119-2138, 2002
- 13) Pollard JW, Hunt JS, Wiktor-Jedrzejczak W, Stanley ER: A pregnancy defect in the osteopetrotic (op/op) mouse demonstrates the requirement for CSF-1 in female fertility. *Dev Biol* 148:273-283, 1991
- 14) Salim R, Miel J, Savvas M, Lee C, Jurkovic D: A comparative study of glycodelin concentrations in uterine flushings in women with subseptate uteri, history of unexplained recurrent miscarriage and healthy controls. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 133:76-80, 2007
- 15) Berek JS, Novak E: Berek & Novak's gynecology. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2007
- 16) de Kretser DM: Male infertility. *Lancet* 349:787-790, 1997
- 17) Hirsh A: Male subfertility. *BMJ* 327:669-672, 2003

- 18) Forti G, Krausz C: Clinical review 100: Evaluation and treatment of the infertile couple. *J Clin Endocrinol Metab* 83:4177-4188, 1998
- 19) Manning MA, Hoyme HE: Diagnosis and management of the adolescent boy with Klinefelter syndrome. *Adolesc Med* 13:367-374, viii, 2002
- 20) Pryor JL, Kent-First M, Muallem A, Van Bergen AH, Nolten WE, Meisner L, Roberts KP: Microdeletions in the Y chromosome of infertile men. *N Engl J Med* 336:534-539, 1997
- 21) Sadeghi-Nejad H, Oates RD: The Y chromosome and male infertility. *Curr Opin Urol* 18:628-632, 2008
- 22) Wright VC, Chang, J., Jeng, G., Macaluso, M. : Assisted Reproductive Technology Surveillance --- United States, 2005. In CDC, 20.06.2008 ed., 2008, p. 1-23
- 23) 2001 assisted reproductive technology success rates Centers for Disease Control and Prevention ASfRM, Society for Assisted Reproductive Technology, RESOLVE, Ed. Atlanta, 2003
- 24) den Tonkelaar I, te Velde ER, Looman CW: Menstrual cycle length preceding menopause in relation to age at menopause. *Maturitas* 29:115-123, 1998
- 25) Vegetti W, Marozzi A, Manfredini E, Testa G, Alagna F, Nicolosi A, Caliari I, Tadorelli M, Tibiletti MG, Dalpra L, Crosignani PG: Premature ovarian failure. *Mol Cell Endocrinol* 161:53-57, 2000
- 26) Lawson R, El-Toukhy T, Kassab A, Taylor A, Braude P, Parsons J, Seed P: Poor response to ovulation induction is a stronger predictor of early menopause than elevated basal FSH: a life table analysis. *Hum Reprod* 18:527-533, 2003
- 27) Seifer DB, Gardiner AC, Ferreira KA, Peluso JJ: Apoptosis as a function of ovarian reserve in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 66:593-598, 1996
- 28) Burger HG, Dudley EC, Hopper JL, Groome N, Guthrie JR, Green A, Dennerstein L: Prospectively measured levels of serum follicle-stimulating hormone, estradiol, and the dimeric inhibins during the menopausal transition in a population-based cohort of women. *J Clin Endocrinol Metab* 84:4025-4030, 1999
- 29) Kupesic S, Kurjak A, Bjelos D, Vujisic S: Three-dimensional ultrasonographic ovarian measurements and in vitro fertilization outcome are related to age. *Fertil Steril* 79:190-197, 2003
- 30) Mastrominas M, Pistofidis GA, Dimitropoulos K: Fertility Outcome after Outpatient Hysteroscopic Removal of Endometrial Polyps and Submucous Fibroids. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 3:S29, 1996
- 31) Mahmood R, Brierley CH, Faed MJ, Mills JA, Delhanty JD: Mechanisms of maternal aneuploidy: FISH analysis of oocytes and polar bodies in patients undergoing assisted conception. *Hum Genet* 106:620-626, 2000
- 32) Hassold T, Chiu D: Maternal age-specific rates of numerical chromosome abnormalities with special reference to trisomy. *Hum Genet* 70:11-17, 1985
- 33) Hull MG, Glazener CM, Kelly NJ, Conway DI, Foster PA, Hinton RA, Coulson C, Lambert PA, Watt EM, Desai KM: Population study of causes, treatment, and outcome of infertility. *Br Med J (Clin Res Ed)* 291:1693-1697, 1985
- 34) Maseelall PB, McGovern PG: Ovarian reserve screening: what the general gynecologist should know. *Womens Health (Lond Engl)* 4:291-300, 2008
- 35) Scott RT, Toner JP, Muasher SJ, Oehninger S, Robinson S, Rosenwaks Z: Folliclestimulating hormone levels on cycle day 3 are predictive of in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 51:651-654, 1989
- 36) Smotrich DB, Widra EA, Gindoff PR, Levy MJ, Hall JL, Stillman RJ: Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 64:1136-1140, 1995

- 37) Seifer DB, Lambert-Messerlian G, Hogan JW, Gardiner AC, Blazar AS, Berk CA: Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome. *Fertil Steril* 67:110-114, 1997
- 38) Nardo LG, Gelbaya TA, Wilkinson H, Roberts SA, Yates A, Pemberton P, Laing I: Circulating basal anti-Mullerian hormone levels as predictor of ovarian response in women undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 2008
- 39) Navot D, Rosenwaks Z, Margalioth EJ: Prognostic assessment of female fecundity. *Lancet* 2:645-647, 1987
- 40) Lass A, Skull J, McVeigh E, Margara R, Winston RM: Measurement of ovarian volume by transvaginal sonography before ovulation induction with human menopausal gonadotrophin for in-vitro fertilization can predict poor response. *Hum Reprod* 12:294-297, 1997
- 41) Bukulmez O, Arici A: Assessment of ovarian reserve. *Curr Opin Obstet Gynecol* 16:231-237, 2004
- 42) Fluker MR, Urman B, Mackinnon M, Barrow SR, Pride SM, Yuen BH: Exogenous gonadotropin therapy in World Health Organization groups I and II ovulatory disorders. *Obstet Gynecol* 83:189-196, 1994
- 43) Hamilton-Fairley D, Taylor A: Anovulation. *BMJ* 327:546-549, 2003
- 44) Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 19:41-47, 2004
- 45) Homburg R: Polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 22:261-274, 2008
- 46) Consensus on infertility treatment related to polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 23:462-477, 2008
- 47) Homburg R: Oral agents for ovulation induction--clomiphene citrate versus aromatase inhibitors. *Hum Fertil (Camb)* 11:17-22, 2008
- 48) Westrom L: Effect of pelvic inflammatory disease on fertility. *Venereology* 8:219-222, 1995
- 49) Wiesenfeld HC, Hillier SL, Krohn MA, Amortegui AJ, Heine RP, Landers DV, Sweet RL: Lower genital tract infection and endometritis: insight into subclinical pelvic inflammatory disease. *Obstet Gynecol* 100:456-463, 2002
- 50) Zeyneloglu HB, Arici A, Olive DL: Adverse effects of hydrosalpinx on pregnancy rates after in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 70:492-499, 1998
- 51) Seli E, Kayisli UA, Cakmak H, Bukulmez O, Bildirici I, Guzeloglu-Kayisli O, Arici A: Removal of hydrosalpinges increases endometrial leukemia inhibitory factor (LIF) expression at the time of the implantation window. *Hum Reprod* 20:3012-3017, 2005
- 52) 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* 87:367-372, 2007
- 53) Ozkan S, Murk W, Arici A: Endometriosis and infertility: epidemiology and evidencebased treatments. *Ann N Y Acad Sci* 1127:92-100, 2008
- 54) Kerin J, Surrey E, Daykhovsky L, Grundfest WS: Development and application of a falloposcope for transvaginal endoscopy of the fallopian tube. *J Laparoendosc Surg* 1:47-56, 1990
- 55) 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* 66:787-792, 1996
- 56) Mastroianni L, Jr.: The fallopian tube and reproductive health. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 12:121-126, 1999

- 57) Yamashita Y, Ueda M, Takehara M, Yamashita H, Suzuki Y, Hung YC, Terai Y, Ueki M: 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* 78:865-871, 2002
- 58) Cirkel U, Ochs H, Mues B, Zwadlo G, Sorg C, Schneider HP: Inflammatory reaction in endometriotic tissue: an immunohistochemical study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 48:43-50, 1993
- 59) Sharpe KL, Zimmer RL, Griffin WT, Penney LL: Polypeptides synthesized and released by human endometriosis differ from those of the uterine endometrium in cell and tissue explant culture. *Fertil Steril* 60:839-851, 1993
- 60) Lessey BA, Castelbaum AJ, Sawin SW, Buck CA, Schinnar R, Bilker W, Strom BL: Aberrant integrin expression in the endometrium of women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 79:643-649, 1994
- 61) Taylor HS, Bagot C, Kardana A, Olive D, Arici A: HOX gene expression is altered in the endometrium of women with endometriosis. *Hum Reprod* 14:1328-1331, 1999
- 62) Kodaman PH, Arici A, Seli E: Evidence-based diagnosis and management of tubal factor infertility. *Curr Opin Obstet Gynecol* 16:221-229, 2004
- 63) Hull MG, Williams JA, Ray B, McLaughlin EA, Akande VA, Ford WC: The contribution of subtle oocyte or sperm dysfunction affecting fertilization in endometriosis associated or unexplained infertility: a controlled comparison with tubal infertility and use of donor spermatozoa. *Hum Reprod* 13:1825-1830, 1998
- 64) Zeyneloglu HB, Arici A, Olive DL, Duleba AJ: Comparison of intrauterine insemination with timed intercourse in superovulated cycles with gonadotropins: a metaanalysis. *Fertil Steril* 69:486-491, 1998
- 65) Marcoux S, Maheux R, Berube S: Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis. Canadian Collaborative Group on Endometriosis. *N Engl J Med* 337:217-222, 1997
- 66) Jacobson TZ, Barlow DH, Koninckx PR, Olive D, Farquhar C: Laparoscopic surgery for subfertility associated with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev*:CD001398, 2002
- 67) Parazzini F: Ablation of lesions or no treatment in minimal-mild endometriosis in infertile women: a randomized trial. Gruppo Italiano per lo Studio dell'Endometriosi. *Hum Reprod* 14:1332-1334, 1999
- 68) Taylor E, Gomel V: The uterus and fertility. *Fertil Steril* 89:1-16, 2008
- 69) Pellicer A: Shall we operate on Mullerian defects? An introduction to the debate. *Hum Reprod* 12:1371-1372, 1997
- 70) Acien P: Incidence of Mullerian defects in fertile and infertile women. *Hum Reprod* 12:1372-1376, 1997
- 71) Homer HA, Li TC, Cooke ID: The septate uterus: a review of management and reproductive outcome. *Fertil Steril* 73:1-14, 2000
- 72) Grimbizis GF, Camus M, Tarlatzis BC, Bontis JN, Devroey P: Clinical implications of uterine malformations and hysteroscopic treatment results. *Hum Reprod Update* 7:161-174, 2001
- 73) Golan A, Langer R, Bukovsky I, Caspi E: Congenital anomalies of the mullerian system. *Fertil Steril* 51:747-755, 1989
- 74) Eldar-Geva T, Meagher S, Healy DL, MacLachlan V, Breheny S, Wood C: Effect of intramural, subserosal, and submucosal uterine fibroids on the outcome of assisted reproductive technology treatment. *Fertil Steril* 70:687-691, 1998

- 75) Oliveira FG, Abdelmassih VG, Diamond MP, Dozortsev D, Melo NR, Abdelmassih R: Impact of subserosal and intramural uterine fibroids that do not distort the endometrial cavity on the outcome of in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 81:582-587, 2004
- 76) Pritts EA, Parker WH, Olive DL: Fibroids and infertility: an updated systematic review of the evidence. *Fertil Steril* 91:1215-1223, 2009
- 77) Stavreus-Evers A, Aghajanova L, Brismar H, Eriksson H, Landgren BM, Hovatta O: Co-existence of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor and pinopodes in human endometrium at the time of implantation. *Mol Hum Reprod* 8:765-769, 2002
- 78) Zeyneloglu HB, Esinler I, Ozdemir BH, Haydardedeoglu B, Oktem M, Batioglu S: Immunohistochemical characteristics of intramural leiomyomata that enlarge during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Gynecol Obstet Invest* 65:252-257, 2008
- 79) Paria BC, Reese J, Das SK, Dey SK: Deciphering the cross-talk of implantation: advances and challenges. *Science* 296:2185-2188, 2002
- 80) Wilcox AJ, Weinberg CR, Baird DD: Post-ovulatory ageing of the human oocyte and embryo failure. *Hum Reprod* 13:394-397, 1998
- 81) Overstreet JW, Gould JE, Katz DF, Hanson FW: In vitro capacitation of human spermatozoa after passage through a column of cervical mucus. *Fertil Steril* 34:604-606, 1980
- 82) Talbot P: Sperm penetration through oocyte investments in mammals. *Am J Anat* 174:331-346, 1985
- 83) Larsen WJ, Sherman LS, Potter SS, Scott WJ: *Human embryology*. New York, Churchill Livingstone, 2001
- 84) Sadler TW, Langman J: *Langman's essential medical embryology*. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2005
- 85) Gonzales DS, Jones JM, Pinyopummintr T, Carnevale EM, Ginther OJ, Shapiro SS, Bavister BD: Trophoblast projections: a potential means for locomotion, attachment and implantation of bovine, equine and human blastocysts. *Hum Reprod* 11:2739-2745, 1996
- 86) Strowitzki T, Germeyer A, Popovici R, von Wolff M: The human endometrium as a fertility-determining factor. *Hum Reprod Update* 12:617-630, 2006
- 87) Gambino LS, Wreford NG, Bertram JF, Dockery P, Lederman F, Rogers PA: Angiogenesis occurs by vessel elongation in proliferative phase human endometrium. *Hum Reprod* 17:1199-1206, 2002
- 88) Vinatier D, Monnier JC: [The fetal-maternal interface. Description of its elements from an immunologic perspective]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 19:691-700, 1990
- 89) Burrows TD, King A, Loke YW: Trophoblast migration during human placental implantation. *Hum Reprod Update* 2:307-321, 1996
- 90) Schatz F, Aigner S, Papp C, Toth-Pal E, Hausknecht V, Lockwood CJ: Plasminogen activator activity during decidualization of human endometrial stromal cells is regulated by plasminogen activator inhibitor 1. *J Clin Endocrinol Metab* 80:2504-2510, 1995
- 91) Makrigiannakis A, Minas V, Kalantaridou SN, Nikas G, Chrousos GP: Hormonal and cytokine regulation of early implantation. *Trends Endocrinol Metab* 17:178-185, 2006

- 92) Navot D, Scott RT, Droesch K, Veeck LL, Liu HC, Rosenwaks Z: The window of embryo transfer and the efficiency of human conception in vitro. *Fertil Steril* 55:114-118, 1991
- 93) Giudice LC: Potential biochemical markers of uterine receptivity. *Hum Reprod* 14 Suppl 2:3-16, 1999
- 94) Giudice LC: Application of functional genomics to primate endometrium: insights into biological processes. *Reprod Biol Endocrinol* 4 Suppl 1:S4, 2006
- 95) Wilcox AJ, Baird DD, Weinberg CR: Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy. *N Engl J Med* 340:1796-1799, 1999
- 96) Martel D, Frydman R, Glissant M, Maggioni C, Roche D, Psychoyos A: Scanning electron microscopy of postovulatory human endometrium in spontaneous cycles and cycles stimulated by hormone treatment. *J Endocrinol* 114:319-324, 1987
- 97) Stavreus-Evers A, Nikas G, Sahlin L, Eriksson H, Landgren BM: Formation of pinopodes in human endometrium is associated with the concentrations of progesterone and progesterone receptors. *Fertil Steril* 76:782-791, 2001
- 98) Nikas G, Develioglu OH, Toner JP, Jones HW, Jr.: Endometrial pinopodes indicate a shift in the window of receptivity in IVF cycles. *Hum Reprod* 14:787-792, 1999
- 99) Achache H, Revel A: Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Hum Reprod Update* 12:731-746, 2006
- 100) Christian M, Marangos P, Mak I, McVey J, Barker F, White J, Brosens JJ: Interferongamma modulates prolactin and tissue factor expression in differentiating human endometrial stromal cells. *Endocrinology* 142:3142-3151, 2001
- 101) Fazleabas AT, Strakova Z: Endometrial function: cell specific changes in the uterine environment. *Mol Cell Endocrinol* 186:143-147, 2002
- 102) Ghosh D, Sengupta J: Recent developments in endocrinology and paracrinology of blastocyst implantation in the primate. *Hum Reprod Update* 4:153-168, 1998
- 103) Ghosh D, De P, Sengupta J: Luteal phase ovarian oestrogen is not essential for implantation and maintenance of pregnancy from surrogate embryo transfer in the rhesus monkey. *Hum Reprod* 9:629-637, 1994
- 104) Dey SK, Johnson DC, Santos JG: Is histamine production by the blastocyst required for implantation in the rabbit? *Biol Reprod* 21:1169-1173, 1979
- 105) Lee J, Oh J, Choi E, Park I, Han C, Kim do H, Choi BC, Kim JW, Cho C: Differentially expressed genes implicated in unexplained recurrent spontaneous abortion. *Int J Biochem Cell Biol* 39:2265-2277, 2007
- 106) Morton H: Early pregnancy factor: an extracellular chaperonin 10 homologue. *Immunol Cell Biol* 76:483-496, 1998
- 107) Han SW, Lei ZM, Rao CV: Treatment of human endometrial stromal cells with chorionic gonadotropin promotes their morphological and functional differentiation into decidua. *Mol Cell Endocrinol* 147:7-16, 1999
- 108) Bonduelle ML, Dodd R, Liebaers I, Van Steirteghem A, Williamson R, Akhurst R: Chorionic gonadotrophin-beta mRNA, a trophoblast marker, is expressed in human 8-cell embryos derived from tripronucleate zygotes. *Hum Reprod* 3:909-914, 1988
- 109) Lopata A, Hay DL: The surplus human embryo: its potential for growth, blastulation, hatching, and human chorionic gonadotropin production in culture. *Fertil Steril* 51:984- 991, 1989
- 110) Stewart DR, Overstreet JW, Nakajima ST, Lasley BL: Enhanced ovarian steroid secretion before implantation in early human pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 76:1470-1476, 1993
- 111) Stevens VC: Potential control of fertility in women by immunization with HCG. *Res Reprod* 7:1-2, 1975

- 112) Hausermann HM, Donnelly KM, Bell SC, Verhage HG, Fazleabas AT: Regulation of the glycosylated beta-lactoglobulin homolog, glycodelin [placental protein 14:(PP14)] in the baboon (*Papio anubis*) uterus. *J Clin Endocrinol Metab* 83:1226-1233, 1998
- 113) Kim JJ, Jaffe RC, Fazleabas AT: Blastocyst invasion and the stromal response in primates. *Hum Reprod* 14 Suppl 2:45-55, 1999
- 114) Licht P, Russu V, Wildt L: On the role of human chorionic gonadotropin (hCG) in the embryo-endometrial microenvironment: implications for differentiation and implantation. *Semin Reprod Med* 19:37-47, 2001
- 115) Yagel S, Geva TE, Solomon H, Shimonovitz S, Reich R, Finci-Yeheskel Z, Mayer M, Milwidsky A: High levels of human chorionic gonadotropin retard first trimester trophoblast invasion in vitro by decreasing urokinase plasminogen activator and collagenase activities. *J Clin Endocrinol Metab* 77:1506-1511, 1993
- 116) Das SK, Wang XN, Paria BC, Damm D, Abraham JA, Klagsbrun M, Andrews GK, Dey SK: Heparin-binding EGF-like growth factor gene is induced in the mouse uterus temporally by the blastocyst solely at the site of its apposition: a possible ligand for interaction with blastocyst EGF-receptor in implantation. *Development* 120:1071-1083, 1994
- 117) Hemmings R, Langlais J, Falcone T, Granger L, Miron P, Guyda H: Human embryos produce transforming growth factors alpha activity and insulin-like growth factors II. *Fertil Steril* 58:101-104, 1992
- 118) Sueoka K, Dharmarajan AM, Miyazaki T, Atlas SJ, Wallach EE: Platelet activating factor-induced early pregnancy factor activity from the perfused rabbit ovary and oviduct. *Am J Obstet Gynecol* 159:1580-1584, 1988
- 119) van der Weiden RM, Helmerhorst FM, Keirse MJ: Influence of prostaglandins and platelet activating factor on implantation. *Hum Reprod* 6:436-442, 1991
- 120) Holmes PV, Sjogren A, Hamberger L: Prostaglandin-E2 released by pre-implantation human conceptuses. *J Reprod Immunol* 17:79-86, 1990
- 121) Keys JL, Kennedy TG: Effect of indomethacin and prostaglandin E2 on structural differentiation of rat endometrium during artificially induced decidualization. *Am J Anat* 188:148-162, 1990
- 122) Meseguer M, Aplin JD, Caballero-Campo P, O'Connor JE, Martin JC, Remohi J, Pellicer A, Simon C: Human endometrial mucin MUC1 is up-regulated by progesterone and down-regulated in vitro by the human blastocyst. *Biol Reprod* 64:590-601, 2001
- 123) Simon C, Gimeno MJ, Mercader A, O'Connor JE, Remohi J, Polan ML, Pellicer A: Embryonic regulation of integrins beta 3, alpha 4, and alpha 1 in human endometrial epithelial cells in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 82:2607-2616, 1997
- 124) Simon C, Gimeno MJ, Mercader A, Frances A, Garcia Velasco J, Remohi J, Polan ML, Pellicer A: Cytokines-adhesion molecules-invasive proteinases. The missing paracrine/autocrine link in embryonic implantation? *Mol Hum Reprod* 2:405-424, 1996
- 125) Cullinan EB, Abbondanzo SJ, Anderson PS, Pollard JW, Lessey BA, Stewart CL: Leukemia inhibitory factor (LIF) and LIF receptor expression in human endometrium suggests a potential autocrine/paracrine function in regulating embryo implantation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:3115-3120, 1996
- 126) Clark DA, Slapsys R, Croy BA, Krcek J, Rossant J: Local active suppression by suppressor cells in the decidua: a review. *Am J Reprod Immunol* 5:78-83, 1984
- 127) Loke YW, King A: Recent developments in the human maternal-fetal immune interaction. *Curr Opin Immunol* 3:762-766, 1991

- 128) Lessey BA, Castelbaum AJ, Buck CA, Lei Y, Yowell CW, Sun J: Further characterization of endometrial integrins during the menstrual cycle and in pregnancy. *Fertil Steril* 62:497-506, 1994
- 129) Sutherland AE, Calarco PG, Damsky CH: Developmental regulation of integrin expression at the time of implantation in the mouse embryo. *Development* 119:1175-1186, 1993
- 130) Vacca RA, Marra E, Loverro G, Maiorano E, Napoli A, Lovecchio M, Selvaggi L, Perlino E: Differential expression of beta 1c integrin messenger ribonucleic acid and protein levels in human endometrium and decidua during the menstrual cycle and pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 88:720-729, 2003
- 131) Hamilton GS, Lysiak JJ, Han VK, Lala PK: Autocrine-paracrine regulation of human trophoblast invasiveness by insulin-like growth factor (IGF)-II and IGF-binding protein (IGFBP)-1. *Exp Cell Res* 244:147-156, 1998
- 132) Gleeson LM, Chakraborty C, McKinnon T, Lala PK: Insulin-like growth factor binding protein 1 stimulates human trophoblast migration by signaling through alpha 5 beta 1 integrin via mitogen-activated protein Kinase pathway. *J Clin Endocrinol Metab* 86:2484-2493, 2001
- 133) Klentzeris LD, Bulmer JN, Trejdosiewicz LK, Morrison L, Cooke ID: Beta-1 integrin cell adhesion molecules in the endometrium of fertile and infertile women. *Hum Reprod* 8:1223-1230, 1993
- 134) Church HJ, Vicovac LM, Williams JD, Hey NA, Aplin JD: Laminins 2 and 4 are expressed by human decidual cells. *Lab Invest* 74:21-32, 1996
- 135) Fujiwara H, Yoshioka S, Tatsumi K, Kosaka K, Satoh Y, Nishioka Y, Egawa M, Higuchi T, Fujii S: Human endometrial epithelial cells express ephrin A1: possible interaction between human blastocysts and endometrium via Eph-ephrin system. *J Clin Endocrinol Metab* 87:5801-5807, 2002
- 136) Sobel JS, Nebel L: Changes in concanavalin A agglutinability during development of the inner cell mass and trophoblast of mouse blastocysts in vitro. *J Reprod Fertil* 52:239-248, 1978
- 137) Queenan JT, Jr., Kao LC, Arboleda CE, Ulloa-Aguirre A, Golos TG, Cines DB, Strauss JF, 3rd: Regulation of urokinase-type plasminogen activator production by cultured human cytotrophoblasts. *J Biol Chem* 262:10903-10906, 1987
- 138) Moll UM, Lane BL: Proteolytic activity of first trimester human placenta: localization of interstitial collagenase in villous and extravillous trophoblast. *Histochemistry* 94:555-560, 1990
- 139) Roldan AL, Cubellis MV, Masucci MT, Behrendt N, Lund LR, Dano K, Appella E, Blasi F: Cloning and expression of the receptor for human urokinase plasminogen activator, a central molecule in cell surface, plasmin dependent proteolysis. *EMBO J* 9:467-474, 1990
- 140) Raga F, Casan EM, Wen Y, Huang HY, Bonilla-Musoles F, Polan ML: Independent regulation of matrix metalloproteinase-9, tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1), and TIMP-3 in human endometrial stromal cells by gonadotropin-releasing hormone: implications in early human implantation. *J Clin Endocrinol Metab* 84:636-642, 1999
- 141) Paulson RJ, Sauer MV, Lobo RA: Embryo implantation after human in vitro fertilization: importance of endometrial receptivity. *Fertil Steril* 53:870-874, 1990
- 142) Lessey BA: Adhesion molecules and implantation. *J Reprod Immunol* 55:101-112, 2002
- 143) Sharkey AM, Smith SK: The endometrium as a cause of implantation failure. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 17:289-307, 2003

- 144) Julkunen M, Seppala M, Janne OA: Complete amino acid sequence of human placental protein 14: a progesterone-regulated uterine protein homologous to betalactoglobulins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85:8845-8849, 1988
- 145) Van Cong N, Vaisse C, Gross MS, Slim R, Milgrom E, Bernheim A: The human placental protein 14 (PP14) gene is localized on chromosome 9q34. *Hum Genet* 86:515- 518, 1991
- 146) Vaisse C, Atger M, Potier B, Milgrom E: Human placental protein 14 gene: sequence and characterization of a short duplication. *DNA Cell Biol* 9:401-413, 1990
- 147) Seppala M, Koistinen H, Koistinen R, Hautala L, Chiu PC, Yeung WS: Glycodelin in reproductive endocrinology and hormone-related cancer. *Eur J Endocrinol* 160:121-133, 2009
- 148) Koistinen H, Seppala M, Nagy B, Tapper J, Knuutila S, Koistinen R: Glycodelin reduces carcinoma-associated gene expression in endometrial adenocarcinoma cells. *Am J Obstet Gynecol* 193:1955-1960, 2005
- 149) Koistinen H, Koistinen R, Seppala M, Burova TV, Choiset Y, Haertle T: Glycodelin and beta-lactoglobulin, lipocalins with a high structural similarity, differ in ligand binding properties. *FEBS Lett* 450:158-162, 1999
- 150) Chiu PC, Chung MK, Tsang HY, Koistinen R, Koistinen H, Seppala M, Lee KF, Yeung WS: Glycodelin-S in human seminal plasma reduces cholesterol efflux and inhibits capacitation of spermatozoa. *J Biol Chem* 280:25580-25589, 2005
- 151) Åkerström B: Lipocalins. Georgetown, Tex., Landes Bioscience : Eurekah.com, 2006
- 152) Chiu PC, Chung MK, Koistinen R, Koistinen H, Seppala M, Ho PC, Ng EH, Lee KF, Yeung WS: Glycodelin-A interacts with fucosyltransferase on human sperm plasma membrane to inhibit spermatozoa-zona pellucida binding. *J Cell Sci* 120:33-44, 2007
- 153) Mukhopadhyay D, SundarRaj S, Alok A, Karande AA: Glycodelin A, not glycodelin S, is apoptotically active. Relevance of sialic acid modification. *J Biol Chem* 279:8577- 8584, 2004
- 154) Rachmilewitz J, Borovsky Z, Riely GJ, Miller R, Tykocinski ML: Negative regulation of T cell activation by placental protein 14 is mediated by the tyrosine phosphatase receptor CD45. *J Biol Chem* 278:14059-14065, 2003
- 155) Jayachandran R, Radcliffe CM, Royle L, Harvey DJ, Dwek RA, Rudd PM, Karande AA: Oligosaccharides modulate the apoptotic activity of glycodelin. *Glycobiology* 16:1052-1063, 2006
- 156) Tse JY, Chiu PC, Lee KF, Seppala M, Koistinen H, Koistinen R, Yao YQ, Yeung WS: The synthesis and fate of glycodelin in human ovary during folliculogenesis. *Mol Hum Reprod* 8:142-148, 2002
- 157) Chiu PC, Chung MK, Koistinen R, Koistinen H, Seppala M, Ho PC, Ng EH, Lee KF, Yeung WS: Cumulus oophorus-associated glycodelin-C displaces sperm-bound glycodelin- A and -F and stimulates spermatozoa-zona pellucida binding. *J Biol Chem* 282:5378-5388, 2007
- 158) Seppala M, Taylor RN, Koistinen H, Koistinen R, Milgrom E: Glycodelin: a major lipocalin protein of the reproductive axis with diverse actions in cell recognition and differentiation. *Endocr Rev* 23:401-430, 2002
- 159) Riittinen L, Julkunen M, Seppala M, Koistinen R, Huhtala ML: Purification and characterization of endometrial protein PP14 from mid-trimester amniotic fluid. *Clin Chim Acta* 184:19-29, 1989

- 160) Julkunen M, Koistinen R, Sjoberg J, Rutanen EM, Wahlstrom T, Seppala M: Secretory endometrium synthesizes placental protein 14. *Endocrinology* 118:1782-1786, 1986
- 161) Julkunen M: Human decidua synthesizes placental protein 14 (PP14) in vitro. *Acta Endocrinol (Copenh)* 112:271-277, 1986
- 162) Seppala M, Bohn H, Tatarinov Y: Glycodelins. *Tumour Biol* 19:213-220, 1998
- 163) Meola J, Dentillo DB, Rosa e Silva JC, Ferriani RA, Veiga LC, Paro de Paz CC, Giuliatti S, Martelli L: Glycodelin expression in the endometrium of healthy women and in the eutopic and ectopic endometrium of women with endometriosis. *Fertil Steril* 91:1676-1680, 2009
- 164) Kao LC, Germeyer A, Tulac S, Lobo S, Yang JP, Taylor RN, Osteen K, Lessey BA, Giudice LC: Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility. *Endocrinology* 144:2870-2881, 2003
- 165) Mylonas I, Jeschke U, Kunert-Keil C, Shabani N, Dian D, Bauerfeind I, Kuhn C, Kupka MS, Friese K: Glycodelin A is expressed differentially in normal human endometrial tissue throughout the menstrual cycle as assessed by immunohistochemistry and in situ hybridization. *Fertil Steril* 86:1488-1497, 2006
- 166) Seppala M, Koistinen H, Koistinen R, Dell A, Morris HR, Oehninger S, Clark GF: Glycodelins as regulators of early events of reproduction. *Clin Endocrinol (Oxf)* 46:381- 386, 1997
- 167) Li TC, Ling E, Dalton C, Bolton AE, Cooke ID: Concentration of endometrial protein PP14 in uterine flushings throughout the menstrual cycle in normal, fertile women. *Br J Obstet Gynaecol* 100:460-464, 1993
- 168) Seppala M, Koistinen H, Koistinen R, Chiu PC, Yeung WS: Glycosylation related actions of glycodelin: gamete, cumulus cell, immune cell and clinical associations. *Hum Reprod Update* 13:275-287, 2007
- 169) Critchley HO, Chard T, Olajide F, Davies MC, Hughes S, Wang HS, Lieberman BA, Anderson DC: Role of the ovary in the synthesis of placental protein-14. *J Clin Endocrinol Metab* 75:97-100, 1992
- 170) Westergaard LG, Wiberg N, Andersen CY, Laursen SB, Kliem A, Westergaard JG, Teisner B: Circulating concentrations of placenta protein 14 during the natural menstrual cycle in women significantly reflect endometrial receptivity to implantation and pregnancy during successive assisted reproduction cycles. *Hum Reprod* 13:2612-2619, 1998
- 171) Stewart DR, Erikson MS, Erikson ME, Nakajima ST, Overstreet JW, Lasley BL, Amento EP, Seppala M: The role of relaxin in glycodelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 82:839-846, 1997
- 172) Wheeler T, Chard T, Anthony F, Osmond C: Relationships between the uterine environment and maternal plasma concentrations of insulin-like growth factor binding protein-1 and placental protein 14 in early pregnancy. *Hum Reprod* 10:2700-2704, 1995
- 173) Fazleabas AT, Donnelly KM, Srinivasan S, Fortman JD, Miller JB: Modulation of the baboon (*Papio anubis*) uterine endometrium by chorionic gonadotrophin during the period of uterine receptivity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:2543-2548, 1999
- 174) Tseng L, Zhu HH, Mazella J, Koistinen H, Seppala M: Relaxin stimulates glycodelin mRNA and protein concentrations in human endometrial glandular epithelial cells. *Mol Hum Reprod* 5:372-375, 1999

- 175) Jaffe RC, Ferguson-Gottschall SD, Gao W, Beam C, Fazleabas AT: Histone deacetylase inhibition and progesterone act synergistically to stimulate baboon glycodeilin gene expression. *J Mol Endocrinol* 38:401-407, 2007
- 176) Uchida H, Maruyama T, Ohta K, Ono M, Arase T, Kagami M, Oda H, Kajitani T, Asada H, Yoshimura Y: Histone deacetylase inhibitor-induced glycodeilin enhances the initial step of implantation. *Hum Reprod* 22:2615-2622, 2007
- 177) Bolden JE, Peart MJ, Johnstone RW: Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. *Nat Rev Drug Discov* 5:769-784, 2006
- 178) Oehninger S, Coddington CC, Hodgen GD, Seppala M: Factors affecting fertilization: endometrial placental protein 14 reduces the capacity of human spermatozoa to bind to the human zona pellucida. *Fertil Steril* 63:377-383, 1995
- 179) Seppala M, Riittinen L, Julkunen M, Koistinen R, Wahlstrom T, Iino K, Alftan H, Stenman UH, Huhtala ML: Structural studies, localization in tissue and clinical aspects of human endometrial proteins. *J Reprod Fertil Suppl* 36:127-141, 1988
- 180) Bolton AE, Pockley AG, Clough KJ, Mowles EA, Stoker RJ, Westwood OM, Chapman MG: Identification of placental protein 14 as an immunosuppressive factor in human reproduction. *Lancet* 1:593-595, 1987
- 181) Mishan-Eisenberg G, Borovsky Z, Weber MC, Gazit R, Tykocinski ML, Rachmilewitz J: Differential regulation of Th1/Th2 cytokine responses by placental protein 14. *J Immunol* 173:5524-5530, 2004
- 182) Mukhopadhyay D, Sundereshan S, Rao C, Karande AA: Placental protein 14 induces apoptosis in T cells but not in monocytes. *J Biol Chem* 276:28268-28273, 2001
- 183) Yaniv E, Borovsky Z, Mishan-Eisenberg G, Rachmilewitz J: Placental protein 14 regulates selective B cell responses. *Cell Immunol* 222:156-163, 2003
- 184) Miller RE, Fayen JD, Chakraborty S, Weber MC, Tykocinski ML: A receptor for the lipocalin placental protein 14 on human monocytes. *FEBS Lett* 436:455-460, 1998
- 185) Julkunen M, Apter D, Seppala M, Stenman UH, Bohn H: Serum levels of placental protein 14 reflect ovulation in nonconceptional menstrual cycles. *Fertil Steril* 45:47-50, 1986
- 186) Clark GF, Oehninger S, Patankar MS, Koistinen R, Dell A, Morris HR, Koistinen H, Seppala M: A role for glycoconjugates in human development: the human foeto-embryonic defence system hypothesis. *Hum Reprod* 11:467-473, 1996
- 187) Julkunen M, Raikar RS, Joshi SG, Bohn H, Seppala M: Placental protein 14 and progesterone-dependent endometrial protein are immunologically indistinguishable. *Hum Reprod* 1:7-8, 1986
- 188) Julkunen M, Rutanen EM, Koskimies A, Ranta T, Bohn H, Seppala M: Distribution of placental protein 14 in tissues and body fluids during pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 92:1145-1151, 1985
- 189) Jakubowicz DJ, Essah PA, Seppala M, Jakubowicz S, Baillargeon JP, Koistinen R, Nestler JE: Reduced serum glycodeilin and insulin-like growth factor-binding protein-1 in women with polycystic ovary syndrome during first trimester of pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 89:833-839, 2004
- 190) Mackenna A, Li TC, Dalton C, Bolton A, Cooke I: Placental protein 14 levels in uterine flushing and plasma of women with unexplained infertility. *Fertil Steril* 59:577-582, 1993
- 191) Dalton CF, Laird SM, Estdale SE, Saravelos HG, Li TC: Endometrial protein PP14 and CA-125 in recurrent miscarriage patients; correlation with pregnancy outcome. *Hum Reprod* 13:3197-3202, 1998

- 192) Cornillie FJ, Lauweryns JM, Seppala M, Riittinen L, Koninckx PR: Expression of endometrial protein PP14 in pelvic and ovarian endometriotic implants. *Hum Reprod* 6:1411-1415, 1991
- 193) Park JK, Song M, Dominguez CE, Walter MF, Santanam N, Parthasarathy S, Murphy AA: Glycodelin mediates the increase in vascular endothelial growth factor in response to oxidative stress in the endometrium. *Am J Obstet Gynecol* 195:1772-1777, 2006
- 194) Song M, Ramaswamy S, Ramachandran S, Flowers LC, Horowitz IR, Rock JA, Parthasarathy S: Angiogenic role for glycodelin in tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:9265-9270, 2001
- 195) Arnold JT, Lessey BA, Seppala M, Kaufman DG: Effect of normal endometrial stroma on growth and differentiation in Ishikawa endometrial adenocarcinoma cells. *Cancer Res* 62:79-88, 2002
- 196) Seppala M, Jiang S, Strick N, Lin K, Li YY, Koistinen H, Koistinen R, Neurath AR: Glycodelins GdA and GdS modified by 3-hydroxyphthalic anhydride inhibit gp120-CD4 binding and HIV-1 infection in vitro. *Lab Invest* 77:127-130, 1997
- 197) Durand M, Seppala M, Cravioto Mdel C, Koistinen H, Koistinen R, Gonzalez-Macedo J, Larrea F: Late follicular phase administration of levonorgestrel as an emergency contraceptive changes the secretory pattern of glycodelin in serum and endometrium during the luteal phase of the menstrual cycle. *Contraception* 71:451-457, 2005
- 198) Mandelin E, Koistinen H, Koistinen R, Affandi B, Seppala M: Levonorgestrel-releasing intrauterine device-wearing women express contraceptive glycodelin A in endometrium during midcycle: another contraceptive mechanism? *Hum Reprod* 12:2671-2675, 1997
- 199) Van den Nieuwenhof IM, Koistinen H, Easton RL, Koistinen R, Kamarainen M, Morris HR, Van Die I, Seppala M, Dell A, Van den Eijnden DH: Recombinant glycodelin carrying the same type of glycan structures as contraceptive glycodelin-A can be produced in human kidney 293 cells but not in chinese hamster ovary cells. *Eur J Biochem* 267:4753-4762, 2000
- 200) Webb SE, Pollard JW, Jones GE: Direct observation and quantification of macrophage chemoattraction to the growth factor CSF-1. *J Cell Sci* 109 (Pt 4):793-803, 1996
- 201) Nishimura K, Tanaka N, Ohshige A, Fukumatsu Y, Matsuura K, Okamura H: Effects of macrophage colony-stimulating factor on folliculogenesis in gonadotrophin-primed immature rats. *J Reprod Fertil* 104:325-330, 1995
- 202) Wood GW, Hausmann E, Choudhuri R: Relative role of CSF-1, MCP-1/JE, and RANTES in macrophage recruitment during successful pregnancy. *Mol Reprod Dev* 46:62-69; discussion 69-70, 1997
- 203) Das SK, Stanley ER: Structure-function studies of a colony stimulating factor (CSF-1). *J Biol Chem* 257:13679-13684, 1982
- 204) Chen X, Liu H, Focia PJ, Shim AH, He X: Structure of macrophage colony stimulating factor bound to FMS: diverse signaling assemblies of class III receptor tyrosine kinases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:18267-18272, 2008
- 205) Stanley ER, Berg KL, Einstein DB, Lee PS, Pixley FJ, Wang Y, Yeung YG: Biology and action of colony--stimulating factor-1. *Mol Reprod Dev* 46:4-10, 1997
- 206) Sharkey AM, Dellow K, Blayney M, Macnamee M, Charnock-Jones S, Smith SK: Stage-specific expression of cytokine and receptor messenger ribonucleic acids in human preimplantation embryos. *Biol Reprod* 53:974-981, 1995

- 207) Brannstrom M, Norman RJ: Involvement of leukocytes and cytokines in the ovulatory process and corpus luteum function. *Hum Reprod* 8:1762-1775, 1993
- 208) Nishimura K, Tanaka N, Kawano T, Matsuura K, Okamura H: Changes in macrophage colony-stimulating factor concentration in serum and follicular fluid in in-vitro fertilization and embryo transfer cycles. *Fertil Steril* 69:53-57, 1998
- 209) Shinetugs B, Runesson E, Bonello NP, Brannstrom M, Norman RJ: Colony stimulating factor-1 concentrations in blood and follicular fluid during the human menstrual cycle and ovarian stimulation: possible role in the ovulatory process. *Hum Reprod* 14:1302-1306, 1999
- 210) Salmassi A, Zhang Z, Schmutzler AG, Koch K, Buck S, Jonat W, Mettler L: Expression of mRNA and protein of macrophage colony-stimulating factor and its receptor in human follicular luteinized granulosa cells. *Fertil Steril* 83:419-425, 2005
- 211) Araki M, Fukumatsu Y, Katabuchi H, Shultz LD, Takahashi K, Okamura H: Follicular development and ovulation in macrophage colony-stimulating factor-deficient mice homozygous for the osteopetrosis (op) mutation. *Biol Reprod* 54:478-484, 1996
- 212) Takasaki A, Ohba T, Okamura Y, Honda R, Seki M, Tanaka N, Okamura H: Clinical use of colony-stimulating factor-1 in ovulation induction for poor responders. *Fertil Steril* 90:2287-2290, 2008
- 213) Kariya M, Kanzaki H, Hanamura T, Imai K, Narukawa S, Inoue T, Hatayama H, Mori T: Progesterone-dependent secretion of macrophage colony-stimulating factor by human endometrial stromal cells of nonpregnant uterus in culture. *J Clin Endocrinol Metab* 79:86-90, 1994
- 214) Hatayama H, Kanzaki H, Iwai M, Kariya M, Fujimoto M, Higuchi T, Kojima K, Nakayama H, Mori T, Fujita J: Progesterone enhances macrophage colony-stimulating factor production in human endometrial stromal cells in vitro. *Endocrinology* 135:1921-1927, 1994
- 215) Kanzaki H, Hatayama H, Narukawa S, Kariya M, Fujita J, Mori T: Hormonal regulation in the production of macrophage colony-stimulating factor and transforming growth factor-beta by human endometrial stromal cells in culture. *Horm Res* 44 Suppl 2:30-35, 1995
- 216) Kauma SW, Aukerman SL, Eierman D, Turner T: Colony-stimulating factor-1 and cfms expression in human endometrial tissues and placenta during the menstrual cycle and early pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 73:746-751, 1991
- 217) Bhatnagar P, Papaioannou VE, Biggers JD: CSF-1 and mouse preimplantation development in vitro. *Development* 121:1333-1339, 1995
- 218) Pollard JW, Bartocci A, Arceci R, Orlofsky A, Ladner MB, Stanley ER: Apparent role of the macrophage growth factor, CSF-1, in placental development. *Nature* 330:484-486, 1987
- 219) Zolti M, Ben-Rafael Z, Meirom R, Shemesh M, Bider D, Mashiach S, Apte RN: Cytokine involvement in oocytes and early embryos. *Fertil Steril* 56:265-272, 1991
- 220) Guleria I, Pollard JW: The trophoblast is a component of the innate immune system during pregnancy. *Nat Med* 6:589-593, 2000
- 221) Katano K, Matsumoto Y, Ogasawara M, Aoyama T, Ozaki Y, Kajiura S, Aoki K: Low serum M-CSF levels are associated with unexplained recurrent abortion. *Am J Reprod Immunol* 38:1-5, 1997
- 222) Piccinni MP, Scaletti C, Vultaggio A, Maggi E, Romagnani S: Defective production of LIF, M-CSF and Th2-type cytokines by T cells at fetomaternal interface is associated with pregnancy loss. *J Reprod Immunol* 52:35-43, 2001

- 223) Gardner DK, Surrey E, Minjarez D, Leitz A, Stevens J, Schoolcraft WB: Single blastocyst transfer: a prospective randomized trial. *Fertil Steril* 81:551-555, 2004
- 224) Hardarson T, Hanson C, Sjogren A, Lundin K: Human embryos with unevenly sized blastomeres have lower pregnancy and implantation rates: indications for aneuploidy and multinucleation. *Hum Reprod* 16:313-318, 2001
- 225) Balaban B, Urman B, Isiklar A, Alatas C, Aksoy S, Mercan R, Mumcu A, Nuhoglu A: The effect of pronuclear morphology on embryo quality parameters and blastocyst transfer outcome. *Hum Reprod* 16:2357-2361, 2001
- 226) Moon JH, Hyun CS, Lee SW, Son WY, Yoon SH, Lim JH: Visualization of the metaphase II meiotic spindle in living human oocytes using the Polscope enables the prediction of embryonic developmental competence after ICSI. *Hum Reprod* 18:817-820, 2003
- 227) Konc J, Kanyo K, Cseh S: Visualization and examination of the meiotic spindle in human oocytes with polscope. *J Assist Reprod Genet* 21:349-353, 2004
- 228) Gardner DK, Schoolcraft WB, Wagley L, Schlenker T, Stevens J, Hesla J: A prospective randomized trial of blastocyst culture and transfer in in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 13:3434-3440, 1998
- 229) Blake DA, Proctor M, Johnson NP: The merits of blastocyst versus cleavage stage embryo transfer: a Cochrane review. *Hum Reprod* 19:795-807, 2004
- 230) Phillips SJ, Dean NL, Buckett WM, Tan SL: Consecutive transfer of day 3 embryos and of day 5-6 blastocysts increases overall pregnancy rates associated with blastocyst culture. *J Assist Reprod Genet* 20:461-464, 2003
- 231) Loutradis D, Drakakis P, Dallianidis K, Bletsas SR, Milingos S, Doumplis N, Sofikitis N, Asteriou-Dionyssiou A, Michalas L, Michalas S: A double embryo transfer on days 2 and 4 or 5 improves pregnancy outcome in patients with good embryos but repeated failures in IVF or ICSI. *Clin Exp Obstet Gynecol* 31:63-66, 2004
- 232) Plachot M, Antoine JM, Alvarez S, Firmin C, Pfister A, Mandelbaum J, Junca AM, Salat-Baroux J: Granulosa cells improve human embryo development in vitro. *Hum Reprod* 8:2133-2140, 1993
- 233) Zeyneloglu HB, Kahraman S: The use of coculture in assisted reproductive technology: does it have any impact? *Curr Opin Obstet Gynecol* 21:253-259, 2009
- 234) Kattal N, Cohen J, Barmat LI: Role of coculture in human in vitro fertilization: a meta-analysis. *Fertil Steril* 90:1069-1076, 2008
- 235) Barmat LI, Liu HC, Spandorfer SD, Xu K, Veeck L, Damario MA, Rosenwaks Z: Human preembryo development on autologous endometrial coculture versus conventional medium. *Fertil Steril* 70:1109-1113, 1998
- 236) Simon C, Mercader A, Garcia-Velasco J, Nikas G, Moreno C, Remohi J, Pellicer A: Coculture of human embryos with autologous human endometrial epithelial cells in patients with implantation failure. *J Clin Endocrinol Metab* 84:2638-2646, 1999
- 237) Gardner DK, Rodriegez-Martinez H, Lane M: Fetal development after transfer is increased by replacing protein with the glycosaminoglycan hyaluronan for mouse embryo culture and transfer. *Hum Reprod* 14:2575-2580, 1999
- 238) Urman B, Yakin K, Ata B, Isiklar A, Balaban B: Effect of hyaluronan-enriched transfer medium on implantation and pregnancy rates after day 3 and day 5 embryo transfers: a prospective randomized study. *Fertil Steril* 90:604-612, 2008
- 239) Loutradi KE, Tarlatzi TB, Kolibianakis EM, Tarlatzis BC: Does hyaluronan improve embryo implantation? *Curr Opin Obstet Gynecol* 20:305-307, 2008

- 240) Cohen J, Inge KL, Suzman M, Wiker SR, Wright G: Videocinematography of fresh and cryopreserved embryos: a retrospective analysis of embryonic morphology and implantation. *Fertil Steril* 51:820-827, 1989
- 241) Rufas-Sapir O, Stein A, Orvieto R, Avrech OM, Kotler N, Pinkas H, Bar J, Fisch B: Is assisted hatching beneficial in patients with recurrent implantation failures? *Clin Exp Obstet Gynecol* 31:110-112, 2004
- 242) Gabrielsen A, Agerholm I, Toft B, Hald F, Petersen K, Aagaard J, Feldinger B, Lindenberg S, Fedder J: Assisted hatching improves implantation rates on cryopreservedthawed embryos. A randomized prospective study. *Hum Reprod* 19:2258-2262, 2004
- 243) Seif MM, Edi-Osagie EC, Farquhar C, Hooper L, Blake D, McGinlay P: Assisted hatching on assisted conception (IVF & ICSI). *Cochrane Database Syst Rev*:CD001894, 2006
- 244) Ziebe S, Petersen K, Lindenberg S, Andersen AG, Gabrielsen A, Andersen AN: Embryo morphology or cleavage stage: how to select the best embryos for transfer after invitro fertilization. *Hum Reprod* 12:1545-1549, 1997
- 245) Alikani M, Cohen J, Tomkin G, Garrisi GJ, Mack C, Scott RT: Human embryo fragmentation in vitro and its implications for pregnancy and implantation. *Fertil Steril* 71:836-842, 1999
- 246) Keltz MD, Skorupski JC, Bradley K, Stein D: Predictors of embryo fragmentation and outcome after fragment removal in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 86:321-324, 2006
- 247) Hardarson T, Caisander G, Sjogren A, Hanson C, Hamberger L, Lundin K: A morphological and chromosomal study of blastocysts developing from morphologically suboptimal human pre-embryos compared with control blastocysts. *Hum Reprod* 18:399- 407, 2003
- 248) Baart EB, Martini E, van den Berg I, Macklon NS, Galjaard RJ, Fauser BC, Van Opstal D: Preimplantation genetic screening reveals a high incidence of aneuploidy and mosaicism in embryos from young women undergoing IVF. *Hum Reprod* 21:223-233, 2006
- 249) Staessen C, Platteau P, Van Assche E, Michiels A, Tournaye H, Camus M, Devroey P, Liebaers I, Van Steirteghem A: Comparison of blastocyst transfer with or without preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in couples with advanced maternal age: a prospective randomized controlled trial. *Hum Reprod* 19:2849-2858, 2004
- 250) Wells D: Advances in preimplantation genetic diagnosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 115 Suppl 1:S97-101, 2004
- 251) Dickey RP, Olar TT, Taylor SN, Curole DN, Matulich EM: Relationship of endometrial thickness and pattern to fecundity in ovulation induction cycles: effect of clomiphene citrate alone and with human menopausal gonadotropin. *Fertil Steril* 59:756-760, 1993
- 252) Zhang X, Chen CH, Confino E, Barnes R, Milad M, Kazer RR: Increased endometrial thickness is associated with improved treatment outcome for selected patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 83:336-340, 2005
- 253) Hock DL, Bohrer MK, Ananth CV, Kemmann E: Sonographic assessment of endometrial pattern and thickness in patients treated with clomiphene citrate, human menopausal gonadotropins, and intrauterine insemination. *Fertil Steril* 68:242-245, 1997

- 254) De Geyter C, Schmitter M, De Geyter M, Nieschlag E, Holzgreve W, Schneider HP: Prospective evaluation of the ultrasound appearance of the endometrium in a cohort of 1,186 infertile women. *Fertil Steril* 73:106-113, 2000
- 255) Tourgeman DE, Slater CC, Stanczyk FZ, Paulson RJ: Endocrine and clinical effects of micronized estradiol administered vaginally or orally. *Fertil Steril* 75:200-202, 2001
- 256) Ledee-Bataille N, Olivennes F, Lefaix JL, Chaouat G, Frydman R, Delanian S: Combined treatment by pentoxifylline and tocopherol for recipient women with a thin endometrium enrolled in an oocyte donation programme. *Hum Reprod* 17:1249-1253, 2002
- 257) Takasaki A, Tamura H, Miwa I, Taketani T, Shimamura K, Sugino N: Endometrial growth and uterine blood flow: a pilot study for improving endometrial thickness in the patients with a thin endometrium. *Fertil Steril*, 2009
- 258) Gelety TJ, Buyalos RP: The influence of supraphysiologic estradiol levels on human nidation. *J Assist Reprod Genet* 12:406-412, 1995
- 259) Elizur SE, Aslan D, Shulman A, Weisz B, Bider D, Dor J: Modified natural cycle using GnRH antagonist can be an optional treatment in poor responders undergoing IVF. *J Assist Reprod Genet* 22:75-79, 2005
- 260) Kadoch IJ: [Natural cycle IVF (nIVF) in women with implantation failure]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 33:S33-35, 2004
- 261) Barash A, Dekel N, Fieldust S, Segal I, Schechtman E, Granot I: Local injury to the endometrium doubles the incidence of successful pregnancies in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 79:1317-1322, 2003
- 262) Raziel A, Schachter M, Strassburger D, Bern O, Ron-El R, Friedler S: Favorable influence of local injury to the endometrium in intracytoplasmic sperm injection patients with high-order implantation failure. *Fertil Steril* 87:198-201, 2007
- 263) Tomas C, Tikkinen K, Tuomivaara L, Tapanainen JS, Martikainen H: The degree of difficulty of embryo transfer is an independent factor for predicting pregnancy. *Hum Reprod* 17:2632-2635, 2002
- 264) Urman B, Aksoy S, Alatas C, Mercan R, Nuhoglu A, Isiklar A, Balaban B: Comparing two embryo transfer catheters. Use of a trial transfer to determine the catheter applied. *J Reprod Med* 45:135-138, 2000
- 265) Noyes N: Hysteroscopic cervical canal shaving: a new therapy for cervical stenosis before embryo transfer in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 71:965-966, 1999
- 266) Pabuccu R, Ceyhan ST, Onalan G, Goktolga U, Ercan CM, Selam B: Successful treatment of cervical stenosis with hysteroscopic canalization before embryo transfer in patients undergoing IVF: a case series. *J Minim Invasive Gynecol* 12:436-438, 2005
- 267) Cowchock FS, Reece EA, Balaban D, Branch DW, Plouffe L: Repeated fetal losses associated with antiphospholipid antibodies: a collaborative randomized trial comparing prednisone with low-dose heparin treatment. *Am J Obstet Gynecol* 166:1318-1323, 1992
- 268) Empson M, Lassere M, Craig J, Scott J: Prevention of recurrent miscarriage for women with antiphospholipid antibody or lupus anticoagulant. *Cochrane Database Syst Rev*:CD002859, 2005
- 269) Laskin CA, Spitzer KA, Clark CA, Crowther MR, Ginsberg JS, Hawker GA, Kingdom JC, Barrett J, Gent M: Low molecular weight heparin and aspirin for recurrent pregnancy loss: results from the randomized, controlled HepASA Trial. *J Rheumatol* 36:279-287, 2009

- 270) Stern C, Chamley L, Norris H, Hale L, Baker HW: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of heparin and aspirin for women with in vitro fertilization implantation failure and antiphospholipid or antinuclear antibodies. *Fertil Steril* 80:376-383, 2003
- 271) Fiedler K, Wurfel W: Effectivity of heparin in assisted reproduction. *Eur J Med Res* 9:207-214, 2004
- 272) Lukassen HG, Joosten I, van Cranenbroek B, van Lierop MJ, Bulten J, Braat DD, van der Meer A: Hormonal stimulation for IVF treatment positively affects the CD56bright/CD56dim NK cell ratio of the endometrium during the window of implantation. *Mol Hum Reprod* 10:513-520, 2004
- 273) Thum MY, Bhaskaran S, Abdalla HI, Ford B, Sumar N, Shehata H, Bansal AS: An increase in the absolute count of CD56dimCD16+CD69+ NK cells in the peripheral blood is associated with a poorer IVF treatment and pregnancy outcome. *Hum Reprod* 19:2395-2400, 2004
- 274) Fukui A, Kwak-Kim J, Ntrivalas E, Gilman-Sachs A, Lee SK, Beaman K: Intracellular cytokine expression of peripheral blood natural killer cell subsets in women with recurrent spontaneous abortions and implantation failures. *Fertil Steril* 89:157-165, 2008
- 275) Kwak-Kim JY, Chung-Bang HS, Ng SC, Ntrivalas EI, Mangubat CP, Beaman KD, Beer AE, Gilman-Sachs A: Increased T helper 1 cytokine responses by circulating T cells are present in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple implantation failures after IVF. *Hum Reprod* 18:767-773, 2003
- 276) Ng SC, Gilman-Sachs A, Thaker P, Beaman KD, Beer AE, Kwak-Kim J: Expression of intracellular Th1 and Th2 cytokines in women with recurrent spontaneous abortion, implantation failures after IVF/ET or normal pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 48:77-86, 2002
- 277) Rai R, Sacks G, Trew G: Natural killer cells and reproductive failure--theory, practice and prejudice. *Hum Reprod* 20:1123-1126, 2005
- 278) van den Heuvel MJ, Peralta CG, Hatta K, Han VK, Clark DA: Decline in number of elevated blood CD3(+) CD56(+) NKT cells in response to intravenous immunoglobulin treatment correlates with successful pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 58:447-459, 2007
- 279) Kwak-Kim J, Gilman-Sachs A: Clinical implication of natural killer cells and reproduction. *Am J Reprod Immunol* 59:388-400, 2008
- 280) Laird SM, Tuckerman EM, Li TC: Cytokine expression in the endometrium of women with implantation failure and recurrent miscarriage. *Reprod Biomed Online* 13:13-23, 2006
- 281) Mirkin S, Arslan M, Churikov D, Corica A, Diaz JI, Williams S, Bocca S, Oehninger S: In search of candidate genes critically expressed in the human endometrium during the window of implantation. *Hum Reprod* 20:2104-2117, 2005
- 282) Coulam CB, Jeyendran RS, Roussev R: Association of progesterone receptor polymorphisms with recurrent implantation failure after in vitro fertilization and embryo transfer. *J Assist Reprod Genet* 25:119-122, 2008
- 283) Ingman WV, Jones RL: Cytokine knockouts in reproduction: the use of gene ablation to dissect roles of cytokines in reproductive biology. *Hum Reprod Update* 14:179-192, 2008
- 284) Tarlatzis BC, Zepiridis L, Grimbizis G, Bontis J: Clinical management of low ovarian response to stimulation for IVF: a systematic review. *Hum Reprod Update* 9:61-76, 2003

- 285) von Wolff M, Thaler CJ, Strowitzki T, Broome J, Stolz W, Tabibzadeh S: Regulated expression of cytokines in human endometrium throughout the menstrual cycle: dysregulation in habitual abortion. *Mol Hum Reprod* 6:627-634, 2000
- 286) Licht P, Losch A, Dittrich R, Neuwinger J, Siebzehrubl E, Wildt L: Novel insights into human endometrial paracrinology and embryo-maternal communication by intrauterine microdialysis. *Hum Reprod Update* 4:532-538, 1998
- 287) Dominguez F, Gadea B, Esteban FJ, Horcajadas JA, Pellicer A, Simon C: Comparative protein-profile analysis of implanted versus non-implanted human blastocysts. *Hum Reprod* 23:1993-2000, 2008
- 288) Scholz C, Toth B, Brunnhuber R, Rampf E, Weissenbacher T, Santoso L, Friese K, Jeschke U: Glycodelin A induces a tolerogenic phenotype in monocyte-derived dendritic cells in vitro. *Am J Reprod Immunol* 60:501-512, 2008
- 289) Chryssikopoulos A, Mantzavinos T, Kanakas N, Karagouni E, Dotsika E, Zourlas PA: Correlation of serum and follicular fluid concentrations of placental protein 14 and CA-125 in in vitro fertilization-embryo transfer patients. *Fertil Steril* 66:599-603, 1996
- 290) Liu HM, Xing FQ, Wu FL: [Glycodelin in IVF-ET cycles: its association with endometrial receptivity and impact on the outcome of pregnancy]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 26:1227-1229, 2006
- 291) Styne-Gross A, Elkind-Hirsch K, Scott RT, Jr.: Obesity does not impact implantation rates or pregnancy outcome in women attempting conception through oocyte donation. *Fertil Steril* 83:1629-1634, 2005
- 292) Bellver J, Melo MA, Bosch E, Serra V, Remohi J, Pellicer A: Obesity and poor reproductive outcome: the potential role of the endometrium. *Fertil Steril* 88:446-451, 2007
- 293) Venetis CA, Kolibianakis EM, Papanikolaou E, Bontis J, Devroey P, Tarlatzis BC: Is progesterone elevation on the day of human chorionic gonadotrophin administration associated with the probability of pregnancy in in vitro fertilization? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 13:343-355, 2007
- 294) Matorras R, Matorras F, Mendoza R, Rodriguez M, Remohi J, Rodriguez-Escudero FJ, Simon C: The implantation of every embryo facilitates the chances of the remaining embryos to implant in an IVF programme: a mathematical model to predict pregnancy and multiple pregnancy rates. *Hum Reprod* 20:2923-2931, 2005
- 295) Matias A, La Sala GB, Blickstein I: Early loss rates of entire pregnancies after assisted reproduction are lower in twin than in singleton pregnancies. *Fertil Steril* 88:1452-1454, 2007
- 296) Lambers MJ, Mager E, Goutbeek J, McDonnell J, Homburg R, Schats R, Hompes PG, Lambalk CB: Factors determining early pregnancy loss in singleton and multiple implantations. *Hum Reprod* 22:275-279, 2007