**T.C.**
**İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ**
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**
**KLİNİK EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

# DÜŞÜK OVER REZERVİ (DOR) TANISI OLAN OLGULARDA AĞIR METAL MARUZİYETİNİN SERUM KLOTHO DÜZEYİ VE EMBRİYO KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BERNA AKÇAY**

**TEZ DANIŞMANI**
**Doç.Dr.Selma YAZAR**

**İSTANBUL, 2026**

**T.C.**
**İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ**
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**
**KLİNİK EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

# DÜŞÜK OVER REZERVİ (DOR) TANISI OLAN OLGULARDA AĞIR METAL MARUZİYETİNİN SERUM KLOTHO DÜZEYİ VE EMBRİYO KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BERNA AKÇAY**

**Tez Danışmanı: Doc.Dr.Selma YAZAR**
**Jüri Üyesi: Prof. Dr. Tülay İREZ**
**Jüri Üyesi: Dr.Öğr.Üyesi Gülçin ÖZKARA**

**İSTANBUL, 2026**

**T.C.**

**İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ**

**TEZ ONAY BELGESİ**

Klinik Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı 22111102017 numaralı öğrencisi Berna AKÇAY **"Düşük Over Rezervi (DOR) Tanısı Olan Olgularda Ağır Metal Maruziyetinin Serum Klotho Düzeyi ve Embriyo Kalitesi Üzerine Etkisi"** adlı tez çalışması, Enstitümüz Yönetim Kurulunun 09.01.2026 tarih ve 2026/02 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından oy birliğiyle Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tez Savunma Tarihi**: 26.01.2026

**Tez Danışmanı**

Doç. Dr. Selma YAZAR ÜREK

Prof. Dr. Tülay İREZ — **Jüri Üyesi**

Dr. Öğr. Üyesi Gülçin ÖZKARA — **Jüri Üyesi**

# ETİK BEYAN

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tezde;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,

- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,

- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,

- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,

- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

26/01/ 2026

Berna AKÇAY

# ÖNSÖZ

Çalışmanın ortaya çıkmasında, bilimsel yolculuğum boyunca bana rehberlik eden, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan pek çok değerli insanın katkısı bulunmaktadır.

Başta bilimsel yaklaşımı, yol göstericiliği ve her aşamada verdiği destek için tez danışmanım Doç.Dr. Selma Yazar'a ve mesleki gelişimimde ve klinik bakış açımın şekillenmesinde önemli rol oynayan, her zaman desteklerini hissettiğim değerli doktorlarım Nadiye Köroğlu ve Turgut Aydın'a içtenlikle teşekkür ederim.

Çalışma sürecinde bilgi, deneyim ve motivasyonlarıyla yanımda olan, birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum değerli embriyologlar Sinem Doğan ve Gözde Biçan'a teşekkür ederim. Mesleki dayanışmanın ve ekip ruhunun bu süreçte benim için ne kadar kıymetli olduğunu bir kez daha hissetmemi sağlamışlardır.

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, koşulsuz destekleri ve sabırlarıyla bana güç veren ailem; annem İlknur Akçay, babam Necati Akçay, ablam Bilgen Akçay'a sonsuz teşekkür ederim. Ayrıca tez sürecimin her aşamasında bana sabırla destek olan, motivasyonumu kaybettiğim anlarda yanımda duran, anlayışı ve desteğiyle bu süreci benim için daha sürdürülebilir kılan erkek arkadaşım Ozan Aksakal'a gönülden teşekkür ederim.

Son olarak, bu çalışmanın gerçekleşmesinde emeği geçen tüm akademisyenlere ve katkı sağlayan herkese teşekkür eder, tezimin bilim dünyasına faydalı olmasını dilerim.

İSTANBUL, 2026 Berna AKÇAY

**ETİK BEYAN** ..... **ii**

**ÖNSÖZ** ..... **iii**

**TABLOLAR LİSTESİ** ..... **vi**

**ŞEKİLLER LİSTESİ** ..... **vii**

**KISALTMALAR LİSTESİ** ..... **vi**

**ÖZET** ..... **viii**

**ABSTRACT** ..... **x**

**1. GİRİŞ** ..... **1**

**2. GENEL BİLGİLER** ..... **3**

**2.1 Düşük Over Rezervi (DOR)** ..... **3**

**2.1.1 DOR'un Sınıflandırılması** ..... **5**

**2.1.1.1 Fizyolojik (Yaşa Bağlı) DOR** ..... 5

**2.1.1.2 Patolojik (Yaştan Bağımsız) DOR** ..... 5

**2.1.2 DOR Belirteçleri** ..... **6**

**2.1.3 DOR'u Etkileyen Faktörler** ..... **6**

**2.1.4 DOR'da Çevresel Faktörler ve Ağır Metaller** ..... **7**

**2.1.4.1.Kadmiyum (Cd)** ..... 9

**2.1.4.2.Kurşun (Pb)** ..... 10

**2.1.4.3.Nikel (Ni)** ..... 10

**2.1.4.4.Krom (Cr)** ..... 11

**2.1.4.5.Çinko (Zn)** ..... 12

**2.2 Klotho Proteini** ..... **16**

**2.3 Embriyo Kalitesi** ..... **17**

**3. GEREÇ VE YÖNTEM** ..... **20**

**3.1 Etik Onay** ..... **20**

**3.2 Araştırma Tasarımı ..... 20**

**3.3 Örneklem ..... 21**

**3.4 Veri Toplama Yöntemleri ..... 22**

**3.5 Laboratuvar Analizleri ..... 23**

**3.5.1 Serum Klotho Analizi ..... 23**

**3.5.2 Folikül Sıvısında Ağır Metal Analizi ..... 23**

**3.5.3 Embriyo Kalitelendirilmesi ..... 24**

**3.5.4 İstatiksel Analiz ..... 24**

**4. BULGULAR ..... 26**

**4.1. Demografik Sonuçlar ..... 26**

**4.2 Klinik, Laboratuvar ve Embriyo Kalitesi Dağılım Parametreleri . 28**

**4.3. Embriyo Kalitesi, Ağır Metal Maruziyeti ve Serum Klotho Seviyesi Parametreleri ..... 29**

**5. TARTIŞMA VE SONUÇ ..... 35**

**6.KAYNAKLAR ..... 38**

**7.EKLER ..... 48**

**EK-1 : Hasta Anket Formu ..... 48**

# TABLOLAR LİSTESİ

**Tablo 4.1:** Olguların demografik özellikleri.....26
**Tablo 4.2:** Olguların tıbbi geçmiş ve eğitim özellikleri .....27
**Tablo 4.3:** DOR ve kontrol gruplarının yaşam tarzı özellikleri ve infertilite süresi .28
**Tablo 4.4 :** Olguların klinik ve IVF parametreleri.....29
**Tablo 4.5:** Olguların foliküler sıvıda ölçülen ağır metal ve serum Klotho düzeyleri 30
**Tablo 4.6:** Sigara kullanan ve kullanmayan hastalarda foliküler sıvıda ölçülen ağır metal ve serum Klotho düzeylerinin karşılaştırılması .....30
**Tablo 4.7 :** Alkol kullanan ve kullanmayan hastalarda foliküler sıvıda ölçülen ağır metal ve serum klotho düzeylerinin karşılaştırılması .....31
**Tablo 4.8:** 5. güne ulaşan embriyo kalite sayılarının DOR ve kontrol grubu arasında karşılaştırılması.....31
**Tablo 4.9:** 5. günde oluşan en iyi, iyi, orta ve düşük kalitedeki embriyo sayıları ile ağır metal seviyeleri arasındaki ilişki .....32
**Tablo 4.10:** DOR ve kontrol grubu arasındaki serum Klotho düzeylerinin karşılaştırılması.....32
**Tablo 4.11:** Serum Klotho düzeyleri ile 5. günde gelişen en iyi, iyi, orta ve düşük kalitedeki embriyo sayısı arasındaki ilişki .....33
**Tablo 4.12:** Serum Klotho düzeyleri ile foliküler sıvı ağır metal düzeyleri arasındaki ilişki .....33
**Tablo 4.13:** 5. günde embriyo oluşmasına foliküler sıvı ağır metal ve serum Klotho düzeylerinin etkisi.....34

# ŞEKİLLER LİSTESİ

**Şekil 2.1:** Yumurtalık anatomisi .....14

# KISALTMALAR LİSTESİ

**AFC** : Antral Follicle Count (Antral Folikül Sayısı)

**AMH** : Anti-Müllerian Hormone (Anti Mülleryan Hormon)

**ART** : Assisted Reproductive Technologies (Yardımcı Üreme Teknikleri)

**ATP** : Adenozin trifosfat

**ASRM** : American Society for Reproductive Medicine (Amerikan Üreme Tıbbı Derneği)

**BMI** : Body Mass Index (Vücut Kitle Endeksi)

**BRCA1/2** : BReast CAncer 1-2 (Meme Kanseri Geni 1-2)

**Cd** : Kadmiyum

**Cr** : Krom

**CÜTAM** : Cumhuriyet Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi

**COCs** : Cumulus Oocyte Complexes (Kumulus–Oosit Kompleksleri)

**ÇÇA** : Interquartile Range (IQR) (Çeyrekler Arası Aralık)

**DOR** : Diminished Ovarian Reserve (Düşük Over Rezervi)

**DSÖ** : World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

**DNA** : Deoksiribonükleik Asit

**ELISA** : Enyzme-Linked Immunosorbent Assay (Enzim Bağlantı İmmünosorbent Analizi)

**FF** : Follicular Fluid (Foliküler Sıvı)

**FMR1** : Fragile X Mental Retardation 1 Geni

**FSH** : Follicle Stimulating Hormone (Folikül Stimüle Edici Hormon)

**hCG** : Human Chorionic Gonadotropin (İnsan Koryonik Gonadotropini)

**ICP-MS** : Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (Endüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi)

**ICM** : Inner Cell Mass (İç Hücre Kitlesi)

**IVF** : In Vitro Fertilizasyon

**Ni** : Nikel

**OD** : Optical Density (Optik Dansite)

**OPU** : Oosit Pick Up (Oosit Toplama)

**Pb** : Kurşun

**PCOS** : Polycystic Ovary Syndrome (Polikistik Over Sendromu)

**SS** : Standard Deviation (Standart Sapma)

**TE** : Trofoektoderm

**Zn** : Çinko

# ÖZET


DÜŞÜK OVER REZERVİ (DOR) TANISI OLAN OLGULARDA AĞIR METAL MARUZİYETİNİN SERUM KLOTHO DÜZEYİ VE EMBRİYO KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Düşük over rezervi (DOR), overlerdeki mevcut folikül havuzunun azalmasına bağlı olarak kontrollü ovaryan stimülasyona zayıf yanıt verilmesiyle karakterize edilen; az sayıda oosit elde edilmesi, oosit ve embriyo kalitesinde düşüş ve yardımcı üreme tekniklerinde sınırlı başarı ile ilişkili bir klinik durumdur. Son yıllarda genetik ve tıbbi nedenlerin yanı sıra çevresel kirleticilerin de üreme fizyolojisi üzerinde etkili olabileceği gösterilmiştir. Özellikle ağır metallerin oksidatif stres dengesini bozarak folikül gelişimi, oosit kalitesi ve embriyo oluşum süreçlerini olumsuz etkileyebileceği bildirilmektedir.

Oksidatif denge, hücresel yaşlanma ve metabolik homeostaz ile ilişkili önemli bir protein olan Klotho'nun üreme sistemindeki rolü giderek daha fazla ilgi görmektedir.

Bu tez çalışmasında, DOR tanısı olan olgularda ağır metal maruziyetinin serum Klotho düzeyi ve embriyo kalitesi üzerindeki olası etkilerinin araştırılması amaçlandı. In vitro fertilizasyon (IVF) tedavisine başlayan, 40 yaş altındaki 128 kadın (64 DOR, 64 kontrol) prospektif olarak incelendi. Katılımcılardan serum ve foliküler sıvı örnekleri alındı. Serum Klotho düzeyleri ELISA yöntemiyle, foliküler sıvıdaki kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), nikel (Ni), krom (Cr) ve çinko (Zn) düzeyleri plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) yöntemiyle analiz edildi. 5. gün embriyo kalitesi Gardner kriterlerine göre değerlendirildi.

Elde edilen bulgulara göre, bu çalışmada DOR tanısı olan olgularda foliküler sıvıda Zn ve Cr düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu ve bu artışın embriyo kalitesinde azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. DOR grubunda en iyi (excellent), iyi (good) ve orta (averege) kalite blastokist oranlarının daha düşük olduğu saptanmıştır. Serum Klotho düzeyleri açısından DOR ve kontrol grupları arasında

istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamış olmakla birlikte, Klotho'nun oksidatif stres ve hücresel denge ile ilişkili biyolojik rolü göz önünde bulundurulduğunda, üreme sonuçları üzerindeki olası dolaylı etkilerinin daha geniş örneklemli çalışmalarla değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Düşük over rezervi, Klotho, ağır metaller, foliküler sıvı, infertilite, embriyo kalitesi.

Berna AKÇAY, 2026

# ABSTRACT

THE EFFECT OF HEAVY METAL EXPOSURE ON SERUM KLOTHO LEVELS AND EMBRYO QUALITY IN WOMEN DIAGNOSED WITH DIMINISHED OVARIAN RESERVE (DOR)

Diminished ovarian reserve (DOR) is a clinical condition characterized by a reduced follicular pool in the ovaries, resulting in a poor response to controlled ovarian stimulation, a limited number of retrieved oocytes, decreased oocyte and embryo quality, and reduced success in assisted reproductive technologies. In recent years, in addition to genetic and medical causes, environmental pollutants have been shown to affect reproductive physiology. In particular, heavy metals have been reported to negatively influence follicular development, oocyte quality, and embryo formation by disrupting oxidative stress balance.

Klotho, an important protein associated with oxidative balance, cellular aging, and metabolic homeostasis, has attracted increasing interest due to its potential role in the reproductive system.

The aim of this study was to investigate the potential effects of heavy metal exposure on serum Klotho levels and embryo quality in women diagnosed with DOR. A total of 128 women under the age of 40 who initiated in vitro fertilization (IVF) treatment were prospectively evaluated, including 64 women with DOR and 64 controls. Serum and follicular fluid samples were collected from all participants. Serum Klotho levels were measured using ELISA method, while follicular fluid concentrations of lead (Pb), cadmium (Cd), nickel (Ni), chromium (Cr), and zinc (Zn) were analyzed using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Day 5 embryo quality was assessed according to the Gardner criteria.

According to the findings obtained, this study demonstrated that Zn and Cr levels in follicular fluid were higher in patients diagnosed with DOR compared to the control group, and that this increase was associated with a reduction in embryo quality. In the

DOR group, the proportions of excellent-, good-, and average-quality blastocysts were lower, Although no statistically significant difference was observed between the DOR and control groups in terms of serum Klotho levels, considering the biological role of Klotho in oxidative stress regulation and cellular homeostasis, its potential indirect effects on reproductive outcomes should be further evaluated in studies with larger sample sizes.

**Keywords:** Diminished ovarian reserve, Klotho, heavy metals, follicular fluid, infertility, embryo quality.

Berna AKÇAY, 2026

# 1. GİRİŞ

Düşük over rezervi (DOR), fonksiyonel folikül havuzunun kronolojik yaşa göre beklenenden daha erken azalması ile karakterize olup, kadın üreme potansiyelini olumsuz etkileyen bir klinik durumdur. DOR, yalnızca doğal yollarla gebelik elde etme şansını azaltmakla kalmaz, aynı zamanda yardımcı üreme teknikleri (ART) kapsamında uygulanan in vitro fertilizasyon (IVF) gibi tedavilerde de başarı oranlarını da düşürmektedir. Özellikle genç yaşlarda görülen DOR olguları, patolojik DOR olarak tanımlanmakta ve hastaların tedavi süreçlerinde IVF yanıtının düşüklüğü, oosit kalitesinin bozulması ve artan düşük riski gibi daha ciddi problemlere neden olmaktadır. Bu nedenle, DOR'un biyolojik ve çevresel etkenlerle ilişkisini araştırmak hem infertilitenin anlaşılması hem de tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi açısından kritik öneme sahiptir. (Broekmans ve ark., 2009; Poseidon Group, 2016; Xu ve ark., 2020; Hwang ve ark., 2022).

İnfertilite, üreme çağındaki çiftlerin yaklaşık %10-15'ini etkileyen ve hem bireysel hem de toplumsal açıdan önemli sonuçlara yol açan bir halk sağlığı problemidir (Sezgin & Hocaoğlu, 2014). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından bir yıl boyunca düzenli ve korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebelik elde edilememesi olarak tanımlanan infertilite (World Health Organization [WHO], 2023), yalnızca biyolojik değil, aynı zamanda psikososyal ve ekonomik boyutları da olan multidisipliner bir problemdir. Kadın infertilitesinin en önemli nedenlerinden birisi de, over rezervinin azalması veya yetersiz olmasıdır. DOR ise, kadınların üreme kapasitesinin erken yaşlarda azalması ile karakterize ve infertilite tedavilerinde başarıyı ciddi şekilde olumsuz etkileyen bir klinik durumdur (Sharara ve ark., 1998).

Çevresel faktörlerin kadın üreme sağlığı üzerindeki etkileri, son yıllarda yoğun olarak araştırılan konular arasında yer almaktadır. Ağır metaller kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), nikel (Ni), krom (Cr), çinko (Zn) bu çevresel faktörlerin başında gelmekte ve üreme sağlığı üzerinde olumsuz etkiler göstermektedir. Ağır metal maruziyetinin kadınlarda oosit kalitesi, embriyo gelişimi, implantasyon oranı ve gebelik başarısı üzerinde etkiler

oluşturabileceğini çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur (Al-Saleh ve ark., 2008; Tolunay ve ark., 2016). Özellikle foliküler sıvıdaki ağır metal düzeyleri, embriyonun geliştiği mikro çevreyi doğrudan yansıtması bakımından önemli bir biyobelirteç olarak kabul edilmektedir (Hwang ve ark., 2022). Miglietta ve ark (2023) çalışmasında ağır metal maruziyetinin embriyo gelişimi ve oosit kalitesi üzerinde olumsuz etkiler oluşturduğunu bildirmektedir. Benzer şekilde, Tolunay ve ark (2016) Türkiye'de yaptıkları bir çalışmada, foliküler sıvıda Pb, Cd ve Hg düzeylerinin IVF sonuçlarını olumsuz yönde etkilediğini rapor etmektedir.

Bir diğer önemli infertilite biyobelirteci ise 1997'de keşfedilen Klotho proteinidir (Matsumura ve ark., 1998). Yaşlanma ile ilişkili bir protein olan Klotho, oksidatif stresin düzenlenmesinde, hormonal fonksiyonlarda ve hücresel yaşlanma süreçlerinde önemli rol üstlenmektedir. Yapılan çalışmalar, serum Klotho düzeylerindeki azalmanın; over rezervinde düşüş, oosit maturasyon sürecinde bozulma ve embriyo kalitesinde azalma ile ilişkili olduğunu göstermektedir. (Xu ve ark., 2020; Takemura & Okabe, 2016). Her ne kadar bu ilişkiyi inceleyen çalışmalar literatürde sınırlı olsa da, son veriler Klotho proteininin üreme biyolojisinde yeni ve umut vaat eden bir biyobelirteç olabileceğini göstermektedir. (Liang & Feng, 2023; Hu et al., 2024; Xie & Huang, 2020). Xu ve ark. (2020), DOR'lu olgularda serum Klotho düzeylerindeki azalmanın embriyo kalitesi üzerinde olumsuz etkilere yol açtığını bildirmiştir. Embriyo kalitesinin implantasyon başarısı ve klinik gebelik oranlarıyla güçlü biçimde ilişkili olduğu dikkate alındığında (Hill ve ark., 2013), Klotho proteininin üreme sonuçları açısından potansiyel bir belirteç olabileceği değerlendirilmektedir.

Bu tez çalışmasında, DOR tanısı almış olgulardan yumurta toplama (ovum pick-up (OPU)) işlemi sırasında elde edilen foliküler sıvı örneklerinde ağır metal düzeyleri belirlendi; eş zamanlı olarak alınan serum örneklerinde ise Klotho seviyeleri ölçüldü. Elde edilen veriler, embriyo kalitesiyle ilişkilendirilerek değerlendirildi.

# 2. GENEL BİLGİLER

## 2.1 Düşük Over Rezervi (DOR)

Düşük over rezervi (DOR), overlerdeki fonksiyonel folikül havuzunun kronolojik yaşa göre beklenenden daha erken ve daha hızlı azalmasıyla karakterize edilen, kadın üreme potansiyelini olumsuz etkileyen önemli bir klinik tablodur. Kadınların doğurganlık kapasitesi, sahip oldukları oosit havuzu ile doğrudan ilişkilidir. Kız çocukları doğduğunda yaklaşık 1-2 milyon primordial foliküle sahipken, bu sayı ergenlik dönemine gelindiğinde yaklaşık 300–400 bine düşmektedir. Zamanla yaşlanma süreciyle birlikte oosit sayısı giderek azalmakta ve menopoz döneminde neredeyse tamamen tükenmektedir. DOR, bu fizyolojik azalmanın beklenenden daha erken yaşlarda ve daha hızlı bir şekilde gerçekleşmesi durumudur (Sharara ve ark., 1998). DOR, overlerdeki folikül havuzunun sayısal olarak azalmasıyla birlikte, mevcut oositlerin kalitesinin de düşmesi sonucu ortaya çıkar ve bu durum infertilitede önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır (Cohen ve ark., 2014).

İnfertilite, üreme potansiyeline sahip çiftlerde gebelik elde etme sürecinin beklenen zamanda gerçekleşmemesiyle ortaya çıkan, biyolojik olduğu kadar sosyal ve duygusal boyutları da olan önemli bir sağlık problemidir. Klinik tanım olarak, bir yıl boyunca düzenli ve korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebelik oluşmaması infertilite olarak kabul edilmektedir (WHO, 2023). Günümüzde infertilite prevalansının artması hem sağlık sistemlerinde yük oluşturmakta hem de çiftlerin psikososyal iyilik hâlini belirgin şekilde etkilemektedir (Mascarenhas ve ark., 2012). Bu durum özellikle gelişmekte olan ülkelerde sağlık hizmetlerine erişim farklılıkları, çevresel maruziyetler ve ileri yaşta çocuk sahibi olma eğiliminin artmasıyla daha belirgin hâle gelmekte, infertilitenin küresel bir halk sağlığı sorunu olarak ele alınması gerekliliğini ortaya koymaktadır (Sun ve ark., 2019).

Etiyolojik açıdan infertilite; ovulatuar disfonksiyonlar, tubal patolojiler, endokrin bozukluklar, erkek faktörüne bağlı spermatogenez problemleri ve açıklanamayan infertilite gibi çok yönlü bileşenlerden oluşmaktadır (Baumgarten & Polsky, 2021).

Kadınlarda yaşa bağlı oosit kalitesi ve over rezervindeki azalma, üreme potansiyelini belirleyen en önemli unsurlardan biri olarak görülmektedir (Broekmans ve ark., 2009). Bununla birlikte immünolojik faktörler ve kronik düşük dereceli inflamasyonun da infertilite mekanizmasında rol oynadığı; özellikle endometrial mikroçevre dengesindeki değişimlerin implantasyon başarısını etkileyebildiği bildirilmektedir (Bouet ve ark., 2021). Ayrıca çevresel toksin maruziyeti, sigara kullanımı, obezite ve kronik stres gibi yaşam tarzı faktörleri de üreme fonksiyonları üzerinde olumsuz etkiler oluşturarak infertilite riskini artırabilmektedir (Agarwal ve ark., 2021). Bu faktörlere ek olarak, endokrin bozucu kimyasallar (EDC'ler), endometriozis, polikistik over sendromu (PCOS) ve metabolik sendrom gibi durumların da hem kadın hem erkek fertilitesi üzerinde çok yönlü etkiler oluşturduğu bilinmektedir (Gore ve ark., 2023). Klinik yaklaşımda erken değerlendirme, kişiye özgü tedavi planlaması ve modifiye edilebilir risk faktörlerinin azaltılması hem doğal konsepsiyon hem de yardımcı üreme tekniklerinde başarı oranlarını artıran temel adımlardır. Bu nedenle multidisipliner bir yaklaşım, infertilite yönetiminde hem tanısal doğruluğu hem de tedavi etkinliğini artırarak daha iyi üreme sonuçlarının elde edilmesini sağlamaktadır (Tremellen, 2020).

Uluslararası yardımcı üreme teknolojileri (ART) verileri, DOR tanısının özellikle 38–40 yaş ve üzeri kadınlarda daha yüksek oranda konduğunu ve yaş ilerledikçe Anti-Müllerian Hormon (AMH) düzeyleri ile antral folikül sayısında ciddi düşüşler izlendiğini göstermektedir (Bukulmez ve ark., 2015). Dünya genelindeki kohort çalışmaları da 40 yaş üzeri kadınların büyük bölümünde biyokimyasal olarak DOR kriterlerinin karşılandığını ortaya koymaktadır (Nelson ve ark., 2015).

Türkiye'de yapılan klinik ve epidemiyolojik çalışmalar, DOR'un en sık 35 yaş üzeri kadınlarda görüldüğünü; özellikle 37–40 yaş aralığında hızlı rezerv kaybının belirginleştiğini bildirmektedir (Çelik ve ark., 2023). Türk popülasyonunda AMH düzeylerinin yaşla paralel şekilde keskin bir düşüş göstermesi, uluslararası verilerle uyumludur (Erkan ve ark., 2024). Bu nedenle hem dünyada hem Türkiye'de DOR'un en fazla görüldüğü yaş grubunun 35 yaş ve üzeri kadınlar olduğu kabul edilmektedir (Kulaksız ve ark., 2022).

Özetle, DOR kadının üreme yaşamında kritik öneme sahiptir; hem doğal yolla gebelik şansını hem de yardımcı üreme tekniklerindeki başarı oranlarını olumsuz etkilemektedir. Erken tanı ve uygun üreme planlaması, bu hastalarda doğurganlık potansiyelinin korunmasında büyük önem taşımaktadır (Broekmans ve ark., 2020; Tal ve ark., 2015; Committee Opinion, 2015).

### 2.1.1 DOR'un Sınıflandırılması

DOR, etiyolojisine ve ortaya çıkış biçimine göre temelde iki ana gruba ayrılmaktadır:

1- Fizyolojik (yaşa bağlı) DOR,
2- Patolojik (yaştan bağımsız) DOR (Broer ve ark., 2014; Cohen ve ark., 2014).

#### 2.1.1.1 Fizyolojik (Yaşa Bağlı) DOR

Fizyolojik DOR, over rezervindeki azalmanın doğal yaşlanma sürecinin bir parçası olarak geliştiği durumu ifade etmektedir. Kadınlarda doğumdan itibaren başlayan folikül kaybı, yaş ilerledikçe hızlanmakta ve özellikle 35 yaş sonrasında belirgin hâle gelmektedir. Bu grupta gözlenen over rezervindeki azalma, kronolojik yaş ile uyumlu olup, beklenen biyolojik süreçler çerçevesinde seyretmektedir. Fizyolojik DOR'da yalnızca oosit sayısında değil, aynı zamanda oosit kalitesinde yaşa bağlı bozulmalar da ortaya çıkmakta ve bu durum fertilizasyon potansiyelini olumsuz etkilemektedir (Sharara ve ark., 1998; te Velde & Pearson, 2002).

#### 2.1.1.2 Patolojik (Yaştan Bağımsız) DOR

Patolojik DOR ise over rezervindeki azalmanın kronolojik yaşla uyumsuz şekilde, beklenenden daha erken yaşlarda ortaya çıktığı durumu tanımlamaktadır. Bu gruptaki olgularda over rezervindeki azalma, genellikle genetik, çevresel, iatrojenik veya otoimmün faktörlere bağlı olarak gelişmektedir. Patolojik DOR'un başlıca nedenleri arasında genetik anomaliler (özellikle X kromozomu bozuklukları), over cerrahileri, kemoterapi ve radyoterapi öyküsü, otoimmün hastalıklar, endometriozis ve çevresel toksinlere maruziyet yer almaktadır. Bu hastalarda genç yaşta olmalarına rağmen

düşük AMH düzeyleri, azalmış antral folikül sayısı (AFC) ve kontrollü ovaryan stimülasyona zayıf yanıt gözlenebilmektedir (Practice Committee of ASRM, 2020; Broer ve ark., 2014).

Genç yaşta görülen patolojik DOR, üreme sağlığı açısından özellikle önemlidir çünkü bu durum sadece oosit sayısında değil, aynı zamanda embriyo kalitesi ve implantasyon potansiyelinde de azalma ile ilişkili olduğu bulunmuştur. (Zhou ve ark., 2021).

### 2.1.2 DOR Belirteçleri

Over rezervinin değerlendirilmesinde AMH düzeyi, AFC, FSH ve estradiol düzeyleri gibi biyokimyasal ve ultrasonografik parametreler kullanılmaktadır. Düşük AMH ve AFC değerleri ile yükselmiş bazal FSH ve/veya estradiol düzeyleri, DOR tanısı ile ilişkilidir (ASRM, 2020). Ancak, bu rezerv testleri fertilite potansiyelini yalnızca dolaylı olarak yansıtmaktadır; bu nedenle düşük rezerv her zaman gebelik şansının sıfır olduğu anlamına gelmemektedir (Cleveland Clinic, 2024).

### 2.1.3 DOR'u Etkileyen Faktörler

DOR gelişiminde yaş en önemli belirleyici faktör olmakla birlikte genetik, çevresel ve iatrojenik nedenler de etkili olmaktadır. BRCA1/2 gen mutasyonları, FMR1 premutasyonları gibi genetik değişiklikler erken over rezerv kaybına neden olabilmektedir (Zhou ve ark., 2021). Genetik faktörler yalnızca folikül sayısını değil, oositin mitokondriyal fonksiyonlarını da etkileyerek enerji üretimi, kromozomal stabilite ve embriyo gelişim potansiyelini azaltabilmektedir (Titus ve ark., 2013). Ayrıca sigara kullanımı, çevresel toksinler, radyoterapi, kemoterapi veya over cerrahisi gibi dış faktörler de over rezervini olumsuz etkilemektedir. Bu faktörler primordial folikül havuzunun erken tükenmesine, folikül gelişiminde bozulmalara ve oosit kalitesinde düşüşe yol açmaktadır (Yao ve ark., 2023).

DOR'un klinik açıdan en önemli sonucu, yardımcı üreme teknikleri kapsamında uygulanan tüp bebek tedavilerinde yetersiz over yanıtı alınması ve buna bağlı olarak

gebelik oranlarının azalmasıdır. Bu durum, özellikle kontrollü over stimülasyonu sırasında yetersiz folikül gelişimi ve sınırlı sayıda oosit elde edilmesiyle kendini göstermektedir. (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2020).

### 2.1.4 DOR'da Çevresel Faktörler ve Ağır Metaller

Son yıllarda infertilite etiyolojisinde çevresel faktörlerin rolü giderek daha fazla önem kazanmıştır. Özellikle çevresel kirleticiler arasında yer alan ağır metaller, yaygın kullanım alanları ve çevrede uzun süre kalıcı olmaları nedeniyle üreme sağlığı açısından önemli risk faktörleri olarak değerlendirilmektedir. Kadmiyum (Cd), kurşun (Pb), nikel (Ni), krom (Cr) ve çinko (Zn) gibi ağır metaller; endüstriyel faaliyetler, tarımsal uygulamalar ve gıda zinciri aracılığıyla insan vücuduna alınabilmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalar, bu metallerin kadın ve erkek üreme sistemi üzerinde toksik etkiler oluşturarak infertilite gelişimine katkıda bulunduğunu ortaya koymaktadır. (Tolunay ve ark., 2016; Miglietta ve ark., 2023).

Ağır metallerin üreme fonksiyonları üzerindeki olumsuz etkileri, birden fazla biyolojik mekanizma aracılığıyla ortaya çıkmaktadır. Bu metaller, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini artırarak oksidatif stresin yükselmesine neden olmakta ve hücresel antioksidan savunma sistemlerini baskılamaktadır. Artan oksidatif stres; DNA hasarı, protein denatürasyonu ve lipit peroksidasyonu gibi süreçler yoluyla oosit ve sperm hücrelerinin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü bozabilmektedir. Ayrıca ağır metallerin mitokondriyal fonksiyonları olumsuz etkileyerek hücresel enerji üretimini azalttığı ve bu durumun hücre döngüsü düzenlenmesi ile gamet olgunlaşmasını bozduğu gösterilmiştir (Tchounwou ve ark., 2012).

Bunun yanı sıra, ağır metallerin endokrin bozucu özellikler gösterebildiği ve hormonal dengeyi doğrudan etkileyebildiği bilinmektedir. Bu metaller, hipotalamus-hipofiz-gonad (HHG) aksı üzerinde baskılayıcı etki oluşturarak gonadotropin salgılanmasını bozabilmekte; östrojen, progesteron ve androjen gibi üreme hormonlarının sentez ve metabolizmasını olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Hormonal homeostazın

bozulması, folikül gelişimi, ovulasyon ve embriyo implantasyonu gibi temel üreme süreçlerinin aksamasına yol açabilmektedir (Frontiers in Reproductive Health, 2022).

Özellikle kadınlarda uzun süreli ve düşük dozda bu kimyasallara maruziyetin, üreme kapasitesi üzerinde kümülatif etkilere neden olabileceği ve over rezervi ile oosit kalitesini olumsuz yönde etkileyebileceği bildirilmektedir. Bu bağlamda, çevresel ağır metal maruziyetlerinin infertilite etiyolojisindeki rolünün aydınlatılması hem koruyucu halk sağlığı önlemleri hem de infertilite tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır (Tchounwou ve ark., 2012; Miglietta ve ark., 2023).

Kadınlar açısından metal maruziyeti; ağırlıklı olarak besin tüketimi, içme suyu, sigara dumanı, metal içerebilen kozmetik ve kişisel bakım ürünleri ile ev içi ve mesleki çevreler yoluyla meydana gelmektedir (Jaishankar ve ark., 2014).

Literatürde kadınların bazı ağır metallere erkeklere kıyasla daha yüksek düzeylerde maruz kalabildiği bildirilmektedir. Bunun temel nedenleri arasında kozmetik ve kişisel bakım ürünlerinin daha yoğun ve uzun süreli kullanımı, ev içi maruziyetlerin daha belirgin olması ve besin zinciri yoluyla alınan metallerin kadın fizyolojisinde farklı metabolik süreçlere tabi olması yer almaktadır. Özellikle ruj, fondöten, göz kalemi ve cilt bakım ürünlerinde kurşun, kadmiyum, krom ve nikel gibi metallerin eser miktarlarda bulunabildiği ve bu ürünlerin kronik kullanımının kümülatif metal birikimine yol açabileceği gösterilmiştir (Borowska & Brzóska, 2015). Ayrıca kadınların demir depolarının erkeklere kıyasla daha düşük olması, gastrointestinal sistemden ağır metal emilimini artırabilmekte ve bu durum özellikle kadmiyum ve kurşun gibi metaller için biyoyararlanımı yükseltebilmektedir. Hormonal dalgalanmalar, gebelik ve laktasyon dönemleri de metal metabolizmasını etkileyerek kadınlarda metal birikimini artırabilen fizyolojik faktörler arasında yer almaktadır. Bu nedenlerle kadınlar, çevresel metal maruziyetinin üreme sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerine karşı daha hassas bir grup olarak değerlendirilmektedir (Vigeh ve ark., 2011; Tchounwou ve ark., 2012).

Kurşun, kadmiyum, nikel, krom ve çinko gibi metaller, kontamine gıdaların tüketilmesi, sigara kullanımı, endüstriyel emisyonlara maruz kalınması ve metal içeren materyallerle uzun süreli temas sonucunda vücuda alınabilmektedir. Bu metallerin organizmada birikme eğilimi göstermesi ve hormonal denge ile hücresel işleyişi etkileyebilmesi, özellikle kadın üreme sağlığı açısından önemli riskler oluşturabilmektedir (Tchounwou ve ark., 2012; Jaishankar ve ark., 2014; World Health Organization [WHO], 2023). Özellikle kurşun maruziyeti, oosit kalitesinde düşüklük, embriyo gelişiminde bozulma ve düşük implantasyon oranları ile ilişkilendirilmiştir (Al-Saleh ve ark., 2008).

Bu tez çalışmamda, çevresel yaygın olan ve kadın üreme sağlığı ile infertilite üzerinde olumsuz etkileri bildirilen kadmiyum, kurşun , nikel, krom ve çinko ele alınmıştır (Dutta ve ark., 2022; Bhardwaj ve ark., 2021);

#### 2.1.4.1.Kadmiyum (Cd)

Kadmiyum, çevresel ve bireysel maruziyeti yaygın olan ağır metallerden biri olup, başlıca besin tüketimi ve sigara dumanı yoluyla vücuda alınmaktadır. Tarımsal üretimde kullanılan fosfatlı gübreler, endüstriyel emisyonlar ve çevresel kirlilik nedeniyle kadmiyumun toprak ve su kaynaklarına geçmesi, bu metalin besin zinciri aracılığıyla insanlara ulaşmasına neden olmaktadır. Özellikle tahıllar, yapraklı sebzeler ve deniz ürünleri kadmiyum maruziyetinin önemli kaynakları arasında yer almakta; sigara kullanımı ise kadınlarda kadmiyum düzeylerini anlamlı ölçüde artıran başlıca bireysel risk faktörlerinden biri olarak tanımlanmaktadır (Tchounwou ve ark., 2012; Jaishankar ve ark., 2014).

Kadmiyum, en toksik ağır metallerden biri olup oksidatif stres ve hücre hasarı yoluyla üreme hücrelerinde olumsuz etkiler oluşturabilmektedir. Kadmiyumun özellikle folikül gelişimini ve oosit olgunlaşmasını bozduğu, mitokondriyal fonksiyonlarda hasar meydana getirdiği bildirilmiştir (Geng ve ark., 2023). Kadınlarda yapılan çalışmalarda, serum veya foliküler sıvıda kadmiyum düzeylerinin yüksek olmasının

düşük fertilizasyon oranları ve gebelik başarısızlıkları ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Frontiers in Public Health, 2023).

#### 2.1.4.2.Kurşun (Pb)

Kurşun, çevresel ve mesleki maruziyeti yaygın olan toksik ağır metallerden biri olup, kadınlar açısından başlıca içme suyu, besin tüketimi, sigara dumanı ve çevresel kaynaklar aracılığıyla vücuda alınmaktadır. Özellikle eski su tesisatlarında kullanılan kurşun borular, endüstriyel atıklar, kurşun içeren boyalar, kontamine toprak ve gıdalar maruziyetin temel kaynakları arasında yer almaktadır. Bunun yanı sıra sigara dumanı ve hava kirliliği, kurşunun solunum yoluyla alınmasına katkıda bulunmakta ve uzun süreli düşük doz maruziyetin vücutta birikmesine neden olabilmektedir (Tchounwou ve ark., 2012; Jaishankar ve ark., 2014).

Kurşun ise hem kadın hem de erkek üreme sisteminde toksik etkiler göstermektedir. Kurşun maruziyeti, östrojen ve progesteron gibi steroid hormonların üretimini bozmakta, folikül gelişimini engellemekte ve implantasyon başarısını azaltmaktadır (Lee ve ark., 2020). Ayrıca, kurşun maruziyeti DNA hasarı ve kromozomal anomalilere yol açarak embriyo gelişimini olumsuz etkileyebilmektedir (McClam ve ark., 2023). Kurşunun oksidatif stres artışı ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu yoluyla granüloza hücrelerinde apoptozu tetiklediği ve foliküler mikroçevrenin kalitesini azalttığı bildirilmektedir. Kadınlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, kan kurşun düzeyleri ile infertilite arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. Özellikle 35–44 yaş aralığındaki kadınlarda yüksek kan Pb düzeylerinin infertilite riskini artırdığı bildirilmiştir (Lin ve ark., 2023).

#### 2.1.4.3.Nikel (Ni)

Nikel, çevresel ve mesleki maruziyeti yaygın olan ağır metallerden biri olup, kadınlarda başlıca besin tüketimi, içme suyu, metal içeren mutfak gereçleri, takılar ve endüstriyel çevreler yoluyla vücuda alınmaktadır. Özellikle paslanmaz çelik mutfak ekipmanları, nikel kaplı yüzeyler, bazı takılar ve aksesuarlar, nikel içeren gıdalar

(baklagiller, kuruyemişler, kakao ve bazı tahıllar) önemli maruziyet kaynakları arasında yer almaktadır. Bunun yanı sıra endüstriyel alanlarda çalışma ve çevresel hava kirliliği, nikelin solunum yoluyla alımına katkıda bulunabilmektedir (Tchounwou ve ark., 2012; Jaishankar ve ark., 2014).

Nikel iyonlarının hücre içi reaktif oksijen türlerini artırarak foliküler hücrelerde apoptozisi tetikleyebildiği bilinmekte olup, bu süreç folikül gelişiminin yavaşlamasına, steroidogenez dengesinin bozulmasına ve oosit maturasyonunun olumsuz etkilenmesine yol açabilmektedir. Artan oksidatif yük, mitokondriyal fonksiyonların zayıflamasıyla birlikte granüloza hücrelerinin enerji üretimini sınırlamakta ve bu durum hem folikül sağlığını hem de embriyo gelişim potansiyelini azaltabilmektedir. Nikel maruziyetinin ayrıca endokrin düzenleyici mekanizmaları etkileyerek FSH ve LH gibi temel üreme hormonlarının salınımında düzensizliklere neden olabileceği, bu nedenle hem doğal siklus hem de yardımcı üreme tedavilerindeki yanıtın olumsuz etkilenebileceği bildirilmektedir (Agarwal ve ark., 2020).

#### 2.1.4.4.Krom (Cr)

Krom, özellikle endüstriyel faaliyetlerle ilişkili maruziyeti yaygın olan ağır metallerden biri olup, kadınlarda başlıca içme suyu, besinler ve mesleki çevreler aracılığıyla vücuda alınmaktadır. Deri, boya, metal kaplama, paslanmaz çelik ve tekstil endüstrilerinde kullanılan krom bileşikleri; endüstriyel atıklar yoluyla su ve toprağa karışabilmekte ve bu durum gıda zinciri aracılığıyla insanlara ulaşmasına neden olmaktadır. Özellikle içme suyunun krom ile kontamine olduğu bölgelerde yaşayan bireylerde maruziyetin arttığı, Cr (VI) formunun yüksek biyoyararlanımı nedeniyle biyolojik dokularda daha belirgin etkiler gösterebildiği bildirilmektedir (Tchounwou ve ark., 2012; Jaishankar ve ark., 2014).

Kromun yüksek oksidasyon formu olan Cr (VI), özellikle güçlü oksidasyon kapasitesi nedeniyle gonadal dokuda ciddi biyolojik hasarlara yol açabilmektedir. Cr (VI)'nın hücre içine kolayca geçmesi sonrasında DNA zincir kırıkları, baz modifikasyonları ve onarım mekanizmalarının baskılanması gibi genotoksik etkilerin ortaya çıktığı; bu

nedenle oositin genetik bütünlüğünün tehdit altına girdiği gösterilmiştir. Krom maruziyetinin aynı zamanda oksidatif stres yanıtını artırarak antioksidan savunma sistemini zayıflattığı, folikül içinde lipid peroksidasyonunun yükselmesine ve oosit membran bütünlüğünün zarar görmesine neden olduğu rapor edilmektedir. Ayrıca Cr (VI)'nın mitokondriyal fonksiyonlara zarar vererek ATP üretimini azalttığı, bu durumun da oosit maturasyonunda aksamalara ve fertilizasyon potansiyelinde düşüşe yol açtığı belirtilmektedir. Tüm bu mekanizmalar birlikte değerlendirildiğinde, kromun üreme hücrelerinin canlılığı ve kalitesi üzerinde belirgin düzeyde olumsuz etki gösterdiği ve uzun süreli maruziyetin fertilite kaybı riskini artırabileceği anlaşılmaktadır (Zhou ve ark., 2021).

#### 2.1.4.5.Çinko (Zn)

Çinko, kadın üreme sistemi için fizyolojik açıdan gerekli olan esansiyel bir iz element olmakla birlikte, maruziyet düzeyinin artması durumunda toksik etkilere yol açabilmektedir. Çinko maruziyeti kadınlarda başlıca besin tüketimi, çinko içeren besin takviyeleri, bazı kozmetik ve kişisel bakım ürünleri ile metal kaplı mutfak gereçleri aracılığıyla gerçekleşmektedir. Özellikle kontrolsüz takviye kullanımı ve uzun süreli yüksek doz alımı, çinko homeostazının bozulmasına ve metal iyonları arasındaki dengenin kaymasına neden olabilmektedir (Prasad, 2014; Wu ve ark., 2022).

Fizyolojik düzeylerde çinko, antioksidan savunma sistemlerinin düzenlenmesi, DNA sentezi, hücre proliferasyonu ve oosit maturasyonu için gerekli olup, foliküler gelişim ve embriyonik erken dönem süreçlerinde önemli rol oynamaktadır. Ancak aşırı çinko birikiminin, hücre içi metal dengesini bozarak oksidatif stres yanıtını artırdığı, mitokondriyal fonksiyonları olumsuz etkilediği ve granüloza hücrelerinde hücresel stres mekanizmalarını aktive ettiği bildirilmektedir. Bu durum foliküler mikroçevrede redoks dengesizliğine, steroidogenez süreçlerinde aksamalara ve oosit kalitesinde düşüşe yol açabilmektedir (Wu ve ark., 2022).

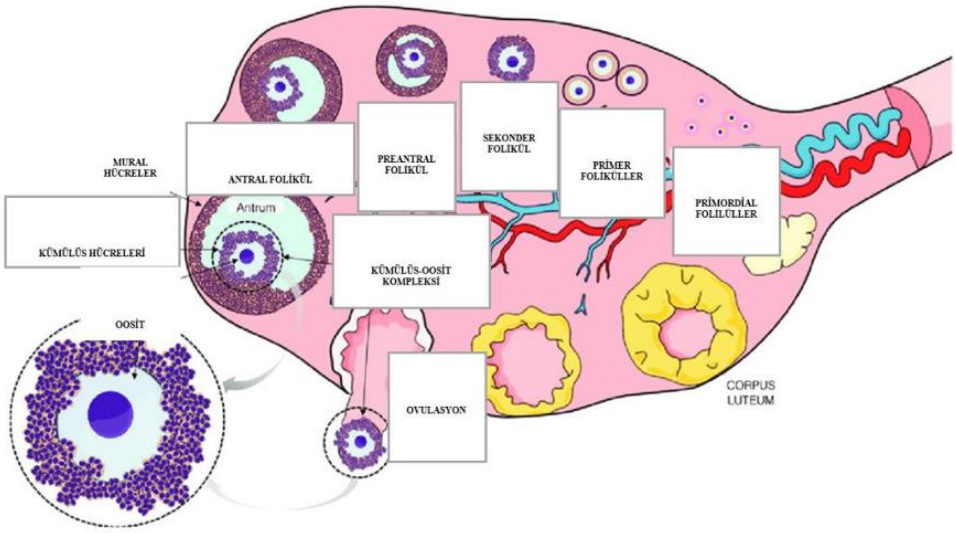
Ayrıca yüksek çinko düzeylerinin, kadmiyum ve bakır gibi diğer metallerin biyoyararlanımını etkileyerek dolaylı toksik etkilere neden olabileceği; bu durumun

folikül içi metal dengesini bozarak fertilizasyon ve embriyo gelişim potansiyelini olumsuz etkileyebileceği vurgulanmaktadır. Bu nedenle çinko, kadın üreme sağlığı açısından çift yönlü etki gösteren bir metal olarak değerlendirilmekte; fizyolojik sınırlar içinde yararlı, aşırı maruziyet durumunda ise potansiyel olarak zararlı etkiler ortaya koyabilmektedir (Prasad, 2014; Wu ve ark., 2022).

Ağır metallerin infertilite üzerindeki etkileri genellikle tek bir elementin maruziyetine bağlı olmayıp, çevrede bulunan metal karışımlarının sinerjik etkileriyle de ortaya çıkmaktadır. Kurşun, kadmiyum ve civa gibi metallerin birlikte bulunduğu ortamlarda, bu metallerin birbirlerinin toksisitesini artırabildiği gösterilmiştir (Arch Public Health, 2023). Ayrıca, düşük dozda fakat kronik maruziyetlerin bile üreme sistemi üzerinde uzun vadeli hasarlara yol açabileceği bildirilmektedir (Miglietta ve ark., 2023).

## 2.2 Foliküler Sıvı ve IVF Tedavisindeki Önemi

Foliküler sıvı, oositin gelişimini sürdüğü mikroçevreyi oluşturmakta olup bu sıvı içerisindeki biyokimyasal ve çevresel faktörler, embriyo kalitesi ve dolayısıyla IVF başarısı üzerinde doğrudan etkiye sahiptir (Hwang ve ark., 2022). Folikülogenez süreci boyunca primordial folikülden preovulatuar foliküle kadar geçen evrede oosit; granüloza ve teka hücreleri tarafından çevrelenmekte ve bu hücreler aracılığıyla metabolik, hormonal ve parakrin sinyallerle desteklenmektedir. Granüloza hücrelerinden salgılanan östrojenler, büyüme faktörleri (GDF-9, BMP-15), sitokinler ve antioksidan sistemler, foliküler sıvının bileşimini belirleyerek oositin nükleer ve sitoplazmik olgunlaşmasını düzenlemektedir. Bu nedenle foliküler sıvı, yalnızca pasif bir ortam değil, oosit kalitesini belirleyen aktif ve dinamik bir biyolojik mikroçevre olarak kabul edilmektedir (Hwang ve ark., 2022; Revelli ve ark., 2009).




**Şekil 2.1:** Yumurtalık anatomisi

Oosit, antral folikül içerisinde antrum sıvısı ile temas halinde olup, kumulus hücreleri olarak adlandırılan özelleşmiş granüloza hücreleri ile çevrilidir. Yumurtalık anatomisi ve folikül gelişim evreleri Şekil 2.1'de gösterilmiştir (Von Mengden vd. 2020 )..

Foliküler sıvının içeriği, folikülogenez sürecinin her aşamasında değişkenlik göstermekle birlikte, bu sıvı içerisinde bulunan iyonlar, eser elementler ve metabolitler oositin enerji metabolizması, hücre döngüsü kontrolü ve epigenetik düzenlenmesi üzerinde belirleyici rol oynamaktadır. Sağlıklı bir folikülogenez için redoks dengesinin korunması, mitokondriyal fonksiyonların sürdürülmesi ve hücresel stres yanıtlarının baskılanması gerekmektedir. Foliküler sıvı bileşiminde meydana gelen dengesizliklerin, özellikle oksidatif stres artışı ile birlikte oosit maturasyonunda gecikme ve embriyo gelişim potansiyelinde azalma ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (Butts ve ark., 2021; Rodríguez-Díaz ve ark., 2023).

Foliküler sıvıda ağır metallere maruziyetin artması, oosit-olgunlaşma süreçlerini bozarak embriyo derecesinin düşmesine ve IVF tedavi sonuçlarının olumsuz etkilenmesine yol açabilmektedir (Obasi, Frazzoli & Orisakwe, 2022). Ağır metallerin bu mikroçevrede birikmesi; granüloza hücrelerinde oksidatif stres artışı, mitokondriyal disfonksiyon ve apoptozisin tetiklenmesi gibi mekanizmalar aracılığıyla folikülogenez

sürecini sekteye uğratmaktadır. Bu durum, folikül içi hücreler arası iletişimin bozulmasına ve oositin sitoplazmik yeterliliğinin azalmasına neden olmaktadır (Obasi ve ark., 2022; Jaishankar ve ark., 2014).

Foliküler sıvı, bu yönüyle çevresel kirleticilerin üreme sistemine etkisini yansıtan bir biyolojik materyal olarak infertilite araştırmalarında özel bir öneme sahiptir; bu sıvı içerisinde ölçülen elementlerin yüksek düzeyleri ile fertilizasyon, blastosist oluşumu, implantasyon ve canlı doğum oranları arasında negatif korelasyonlar bildirilmiştir (Butts ve ark., 2021). Özellikle DOR tanısı almış kadınlarda, sınırlı sayıdaki folikülün çevresel stres faktörlerine karşı daha hassas olduğu ve foliküler sıvıda ağır metal birikiminin embriyo kalitesini daha belirgin şekilde olumsuz etkilediği rapor edilmiştir (Lin ve ark., 2023; Dutta ve ark., 2022).

Ayrıca foliküler sıvının sadece ağır metaller değil, mikro- ve makro-element dengesini de yansıttığı, örneğin demir, kalsiyum ve çinko gibi elementlerin aşırı ya da eksik düzeylerinin embriyo kalitesi ve gelişimi üzerine etkili olduğu bulunmuştur (Rodríguez-Díaz ve ark., 2023). Elementler arasındaki bu hassas denge, folikülogenez sürecinin sağlıklı ilerleyebilmesi için kritik olup, dengesizlikler oositin metabolik kapasitesini, embriyonun bölünme kinetiğini ve implantasyon potansiyelini olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Wu ve ark., 2022).

Bu bağlamda, foliküler sıvı değerlendirmesi, IVF sürecindeki hastaların risk profillerinin belirlenmesine ve tedavi protokollerinin kişiselleştirilmesine imkân sağlayan kritik bir araçtır (Revelli ve ark., 2009). Özellikle DOR tanısı alan olgularda foliküler sıvı analizlerinin, çevresel maruziyetlerin oosit ve embriyo kalitesi üzerindeki etkilerinin daha net ortaya konmasına katkı sağlayabileceği ve tedavi başarısını öngörmede tamamlayıcı bir biyobelirteç olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir (Dutta ve ark., 2022).

## 2.2 Klotho Proteini

Adını Yunan mitolojisinde kader tanrıçası "Klotho"dan alan klotho proteini, yakın zamanda keşfedilmiş, α, β ve γ izoformlarını içeren tek geçişli bir transmembran proteindir (Xu ve ark., 2020). İnsanlarda α-klotho, başlıca böbrek, paratiroid bezi, yağ dokusu ve koroid pleksusta eksprese edilmekte; ayrıca prostat, ince bağırsak, plasenta ve göbek kordonu kanında da bulunduğu bildirilmektedir (Neyra & Hu, 2017; Makoto, 2011; Guo ve ark., 2018). α-Klotho, hem membrana bağlı hem de çözünür formda bulunabilir ve çözünür formu, dolaşım sisteminde ana fonksiyonel biçim olarak kan, idrar ve beyin-omurilik sıvısında tespit edilmektedir (Makoto, 2011).

Klotho proteini, organizmada fosfat ve kalsiyum homeostazını sağlamak, antioksidan etki göstermek, inflamasyonu azaltmak ve yaşlanma sürecini düzenlemek gibi çeşitli biyolojik işlevlerde rol oynamaktadır (Hu ve ark., 2013). Böbrek, beyin ve üreme sistemi gibi organlarda klotho ekspresyonunun dengeli şekilde sürmesi hem metabolik hem de üreme fonksiyonlarının sağlıklı ilerlemesi açısından kritik öneme sahiptir (Xu ve ark., 2020). Yapılan deneysel çalışmalarda klotho geninin susturulmasının anormal mineral dengesine, hızlandırılmış yaşlanmaya ve kısalmış yaşam süresine neden olduğu; buna karşın aşırı ekspresyonunun ömrü uzatabildiği ve özellikle böbrek, koroid pleksus ve nöronlarda yüksek düzeyde ifade edildiği belirtilmiştir (Makoto ve ark., 1997; Makoto, 2008).

Kadın üreme sisteminde α-klotho; meme dokusu, over, salpenks ve uterus gibi yapılarda eksprese edilmekte ve hipotalamus-hipofiz-yumurtalık aksı ile yakından ilişki göstermektedir (Xu ve ark, 2020). Klotho geninin, östrojen dâhil olmak üzere çeşitli hormonal fonksiyonları düzenlediği, dolayısıyla kadın üreme sistemi hastalıklarının gelişiminde ve seyrinde etkili bir faktör olduğu bildirilmektedir (Takemura & Okabe, 2016; Lu ve ark., 2008). Yaşın ilerlemesiyle birlikte klotho gen ekspresyonunun azaldığı ve bunun hem hormonal denge hem de fertilite üzerinde olumsuz etkiler oluşturabileceği düşünülmektedir (Bıyık ve ark., 2021).

Gebelik sürecinde klotho gen ekspresyonu özellikle plasentada belirgin şekilde artış göstermekte; gebelerin plazma α-klotho seviyelerinin gebe olmayan kadınlara kıyasla daha yüksek olduğu ve gebelik ilerledikçe bu düzeylerin arttığı gözlemlenmiştir (Loichinger ve ark., 2016). Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda, klotho ile tedavi edilen dişi sıçanlarda gebelik oranının yükseldiği, yumurtalık fonksiyonunun düzenlendiği ve kistik folikül oluşumunun azaldığı, bunun sonucunda da yeni doğanların vücut ağırlığında artış gözlendiği bildirilmiştir (Mao ve ark., 2018).

Kadınlarda düşük serum klotho düzeylerinin infertilite riskini artırabileceği ileri sürülmektedir. Özellikle PKOS tanılı kadınlarda klotho düzeylerinin azaldığı, bunun da anormal folikül gelişimi, hormonal dengesizlik ve infertiliteyle ilişkili olabileceği saptanmıştır (Fan ve ark., 2016; Xu ve ark., 2020). Bununla birlikte, klotho düzeylerinin üreme fonksiyonları üzerindeki etkilerini tam olarak açıklayabilmek için daha çok klinik ve deneysel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

### 2.3 Embriyo Kalitesi

IVF süreci kapsamında elde edilen oositler, fertilizasyon işleminden sonra embriyo gelişimi açısından günlük olarak takip edilmektedir. Embriyoların gelişimi laboratuvar koşullarında 5. güne kadar kültüre edilerek, blastokist formuna ulaşmaları sağlanarak günlük olarak morfolojik değerlendirmeleri yapılmaktadır. Embriyo kalitesinin belirlenmesinde, pek çok laboratuvarda uluslararası geçerliliğe sahip olan Gardner ve Schoolcraft (1999) sınıflandırma sistemi kullanılmaktadır.

Bu sınıflandırmada blastokistlerin genişleme (ekspansiyon) derecesi, iç hücre kitlesi (ICM; Inner Cell Mass) ve trofoektoderm (TE; Trophectoderm) hücre morfolojisi dikkate alınmaktadır. Blastokist genişleme derecesi 1 ile 6 arasında puanlanmakta; “1” erken blastokist, “6” ise tamamen zona pellucida’dan çıkmış (hatched) blastokist aşamasını ifade etmektedir.

ICM ve TE kalitesi, hücre yoğunluğu ve bütünlüğüne göre;

“A” (yoğun ve sıkı hücre grubu),

“B” (orta yoğunlukta),

“C” (seyrek ve düzensiz hücre grubu) olarak derecelendirilmektedir (Alpha Scientists in Reproductive Medicine & ESHRE, 2011; ASRM, 2023).

Blastokistler, bu üç ölçüt birlikte ele alınarak örneğin “4AA” veya “5AB” gibi bir kalite notu ile değerlendirilmektedir. Buna göre, AA ve AB tipi embriyolar yüksek kalite (excellent ve good), BB ve BC tipi embriyolar orta kalite (average), CC tipi embriyolar ise düşük kalite (poor) olarak sınıflandırılmaktadır (Gardner & Schoolcraft, 1999; Chen ve ark., 2023).

Embriyoların morfolojik kalitesi, oositin folikülogenez sürecindeki biyolojik yeterliliğini ve fertilizasyon sonrası gelişim potansiyelini yansıtan önemli bir parametre olup, özellikle DOR tanısı alan olgularda embriyo derecelerinin daha düşük olduğu bildirilmiştir. DOR’lu kadınlarda sınırlı sayıda elde edilen oositlerin, artmış oksidatif stres ve mitokondriyal fonksiyon bozukluklarına daha duyarlı olduğu; bu durumun ICM ve TE gelişiminde yetersizliklere yol açarak embriyo kalitesini olumsuz etkileyebileceği belirtilmektedir (Hwang ve ark., 2022; Butts ve ark., 2021).

Ayrıca çevresel ağır metal maruziyetinin, embriyo kalitesi üzerinde dolaylı fakat belirgin etkiler oluşturabileceği gösterilmiştir. Kadmiyum, kurşun, nikel ve krom gibi ağır metallerin foliküler sıvı ve serumda artmış düzeylerinin; embriyo bölünme kinetiğinde yavaşlama, düşük dereceli blastokist oluşumu ve implantasyon başarısında azalma ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Bu etkilerin, ağır metallerin oosit ve erken embriyo döneminde oksidatif stres artışı ve DNA hasarı oluşturması yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir (Obasi ve ark., 2022; Lin ve ark., 2023).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, yaşlanma karşıtı ve antioksidan özellikleriyle bilinen Klotho proteininin, embriyo kalitesi ve IVF sonuçları ile ilişkili olabileceğini

göstermektedir. Klotho düzeylerinin azalmasının artmış oksidatif stres, hücresel yaşlanma ve mitokondriyal disfonksiyon ile ilişkili olduğu; bu durumun özellikle DOR'lu olgularda oosit ve embriyo gelişimini olumsuz etkileyebileceği bildirilmektedir. Bu bağlamda, ağır metal maruziyeti ile baskılanan Klotho ekspresyonunun, embriyo kalitesindeki düşüşte aracılık eden mekanizmalardan biri olabileceği düşünülmektedir (Xu ve ark., 2020; Ye ve ark., 2024).

# 3. GEREÇ VE YÖNTEM

## 3.1 Etik Onay

Bu çalışma için İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Fen ve Tıbbi Müdahale Gerektirmeyen Sağlık Bilimleri Araştırmaları Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (15.10.2024 tarihli ve 2024/10-1318 sayılı). Katılımcılara aydınlatılmış onam formu sunulmuş ve yazılı onamları alınmıştır. Gönüllü olgulara istedikleri zaman çalışmadan ayrılabilecekleri bildirilmiştir.

## 3.2 Araştırma Tasarımı

Bu araştırma, prospektif ve gözlemsel bir çalışma olarak tasarlanmış olup hem anket tabanlı veri toplama hem de laboratuvar temelli biyokimyasal analizleri kapsamaktadır. Katılımcıların çevresel ve yaşam tarzına bağlı olası toksin maruziyetlerini belirlemek amacıyla, gönüllülere yapılandırılmış ve araştırmacı tarafından yüz yüze uygulanan 20 soruluk anket formu kullanılmıştır.

Anket verileri, laboratuvar analizlerinden elde edilen biyokimyasal bulgular ve embriyolojik parametreler ile birlikte değerlendirilmiş; çevresel ve yaşam tarzı faktörlerinin serum Klotho düzeyleri, foliküler sıvı ağır metal konsantrasyonları ve embriyo kalitesi üzerindeki ilişkileri istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

Araştırmanın deneysel ve analitik süreçleri, üç farklı kurumun iş birliğiyle yürütülmüştür. Hasta örneklerinin toplanması ve embriyo kalite değerlendirmeleri Acıbadem Atakent Hastanesi Embriyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Serum Klotho düzeylerinin ölçümü, İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Yaşam Bilimleri Laboratuvarı'nda enzim bağlı immünosorbent analiz (ELISA)cihazı kullanılarak yapılmıştır. Foliküler sıvı örneklerindeki ağır metal (Pb, Cd, Ni, Cr ve Zn) konsantrasyonlarının ölçümleri ise Sivas Cumhuriyet Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (CÜTAM)'da, ICP-MS (Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometry) cihazı ile gerçekleştirilmiştir

### 3.3 Örneklem

Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Atakent Hastanesi Tüp Bebek Ünitesi'ne başvuran ve yaşları 18 ile 39 arasında değişen toplam 128 kadın olgu çalışmaya dâhil edilmiştir. Bu bireyler infertilite açısından değerlendirilmiş ve çalışma kapsamında IVF tedavisi uygulanmıştır.

**Dahil Edilme Kriterleri;**

DOR tanısı, Bologna kriterleri temel alınarak yapılmıştır (Ferraretti ve ark., 2011). Buna göre, aşağıdaki üç kriterden en az ikisini karşılayan hastalar DOR grubuna dahil edilmiştir. Bu çalışmada ise 1 ve 2 numaralı kriter dahil edilmiştir:

1. Önceki IVF siklusunda standart over stimülasyon protokolüne rağmen üç veya daha az oosit elde edilmesi,

2. Anormal over rezerv parametreleri, yani AFC <5–7 ve/veya AMH düzeyinin <0,5–1,1 ng/mL olması,

3. Yaşın 40'ın üzerinde olmaması dahil etme kriterlerindendir.

**Dışlama kriterleri kapsamında;**

-PKOS tanısı almış kadınlar,

-ultrasonografi ile over endometrioması tespit edilen olgular,

-daha önce endometriozis cerrahisi geçirmiş hastalar,

- 40 yaş üzeri olgular, çalışmadan dışlanmıştır.

Kontrol grubunu, normal over rezervine sahip kadınlar oluşturmuştur. Bu grup, serum AMH düzeyi 1,1–3,5 ng/mL aralığında olan bireyleri kapsamaktadır. OPU işlemi

sırasında 4-15 oosit elde edilen hastalar kontrol grubuna dâhil edilmiştir. 15'ten fazla oosit toplanan hastalar, aşırı over yanıtının karıştırıcı etkisini önlemek amacıyla çalışma dışında bırakılmıştır. Kontrol grubunu erkek faktör sebebiyle tedaviye gelen hastalar oluşturmaktadır.

### 3.4 Veri Toplama Yöntemleri

Araştırmada veri toplama aracı olarak, hasta anket formu kullanılmıştır. Anket formu, infertiliteye ilişkin demografik, klinik ve çevresel faktörleri değerlendirmeye yönelik toplam 20 sorudan oluşmaktadır. Anketin ilk bölümü, katılımcıların sosyo-demografik ve klinik bilgilerini içermekte; ikinci bölüm ise çevresel maruziyet ve yaşam tarzı faktörleri üzerine odaklanmaktadır. Bu kapsamda, katılımcıların kimyasal maddeye maruziyet durumu, beslenme biçimi, organik ürün tüketim sıklığı, dışarıda yemek yeme alışkanlığı, vitamin takviyesi kullanımı ve kozmetik ürün tercihleri gibi çevresel faktörlere ilişkin sorular yer almaktadır. Ayrıca, kişisel stres düzeyi 4 basamaklı öznel bir değerlendirme ölçeği ile belirlenmiştir.

Anketler, yüz yüze görüşme yöntemiyle, katılımcıların bilgilendirilmiş onamı alındıktan sonra, IVF tedavi süreci öncesinde araştırmacı tarafından birebir uygulanmıştır. Katılımcıların yanıtları gizlilik ilkesi doğrultusunda değerlendirilmiş; elde edilen veriler, daha sonra laboratuvar bulgularıyla birleştirilerek istatistiksel analizlere dahil edilmiştir.

### 3.5 Laboratuvar Analizleri

#### 3.5.1 Serum Klotho Analizi

Serumda klotho düzeylerini belirlemek için alınan kan örnekleri santrifüj edilerek (2000-3000 rpm, 20 dak) serumları elde edilmiştir ve elde edilen serumlar embriyoloji laboratuvarında -80 $^0$C'de steril 5 ml tüplerde muhafaza edilmiştir. Toplanan serum örneklerinin İYYÜ Yaşam Bilimleri Laboratuvarına transferi soğuk zincir ile gerçekleştirilmiştir.

Serum klotho analizi ticari Elisa Kit (Nepente-human.KL (Klotho), Katolog no:NE010272101) kullanılarak, optik yoğunluk (OD), 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm ile gerçekleştirilmiştir.

#### 3.5.2 Folikül Sıvısında Ağır Metal Analizi

OPU işleminden önce, her bir folikülün çapı ultrasonografi ile ölçülerek kaydedilmiştir. Her folikülden aspire edilen sıvı, önceden 37°C'de ısıtılmış tüplere alınarak embriyoloji laboratuvarına mikroskobik inceleme için verilmiştir. Kumulus–oosit kompleksleri (COCs) stereomikroskop altında tanımlanarak folikül aspiratlarından izole edilerek foliküler sıvıda (FF) 4-5 ml olacak şekilde Falcon tüplere toplanarak ve etiketlenerek -80°C'de muhafaza edilmiştir.

Örnekler soğuk zincir ile Sivas Cumhuriyet Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (CÜTAM)'nde ağır metal analizi için gönderilmiştir. Ağır metal analizi ile foliküler sıvı örneklerinde Pb, Cd, Ni, Cr, Zn düzeyleri belirlenmiştir.

Örneklerden 0.5 mL alınarak üzerine 1 mL $HNO_3$ eklenmiştir. 90 $^0$C de 1 saat su banyosunda kapakları gevşek kapanmış şekilde yakma işlemi uygulanmıştır. Böylelikle örneklerin içerdiği organik faz yakılarak uzaklaştırılmıştır. Ardından soğutulan örneklere 50 µL $H_2O_2$ eklenerek yarım saat daha su banyosunda gaz çıkışlarının tamamlanması beklenmiştir. Soğuyan örneklerin son hacmi 10 mL ye tamamlanmıştır. Son hacim 10 mL olan örneklerden 2 mL alınarak, içerisine 10 µL iç

standart eklendi ve son hacmi tekrar 10 mL ye tamamlanmıştır. Son olarak örneklerin içerisinde ki istenen ağır metal (Pb, Cd, Ni, Cr, Zn) düzeyleri ICP-MS (Thermo Scientific-ICAPQ-Germany) cihazında ölçülmüş, ppb olarak ifade edilmiştir.

### 3.5.3 Embriyo Kalitelendirilmesi

Embriyo kalitelendirme işlemleri, Acıbadem Atakent Hastanesi Embriyoloji Laboratuvarı'nda görevli iki deneyimli embriyolog tarafından çift kör (double-blind) şeklinde, mikroskop altında yapılmıştır. Değerlendirme sonuçları hasta kimliklerinden bağımsız olarak kodlanmış ve kayıt altına alınmıştır. Embriyolar, Capalbo ve ark. tarafından tanımlanan blastokist morfolojik derecelendirme sistemine göre dört gruba ayrılmıştır. Buna göre embriyolar en iyi (excellent), iyi (good), orta (averege) ve düşük (poor) kalite olmak üzere dört gruba ayrıldı: excellent (≥3AA), good (3AB, 4AB, 5AB, 6AB, 3BA, 4BA, 5BA, 6BA, 1AA ve 2AA), averege (3BB, 4BB, 5BB, 6BB, 3AC, 4AC, 5AC, 6AC, 3CA, 4CA, 5CA, 6CA, 1AB, 2AB, 1BA ve 2BA) ve poor (1BC, 2BC, 3BC, 4BC, 5BC, 6BC, 1CB, 2CB, 3CB, 4CB, 5CB, 6CB, 1CC, 2CC, 3CC, 4CC, 5CC, 6CC, 1BB ve 2BB).Bu şekilde elde edilen veriler, foliküler sıvıdaki ağır metal düzeyleri ve serum Klotho konsantrasyonları ile korelasyon analizlerinde kullanılmıştır.

### 3.5.4 İstatiksel Analiz

Bu çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi IBM SPSS Statistics 26.0 yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sürekli değişkenlerin dağılım özellikleri Shapiro–Wilk normallik testi ile değerlendirilmiştir. Normal dağılım gösteren sürekli değişkenler ortalama ± standart sapma (SS), normal dağılım göstermeyen değişkenler ise ortanca (çeyrekler arası aralık, Q1–Q3) olarak ifade edilmiştir.

İki bağımsız grup arasındaki karşılaştırmalarda, normal dağılım gösteren değişkenler için bağımsız örneklem t-testi, normal dağılım göstermeyen değişkenler için ise Mann–Whitney U testi kullanılmıştır. İkiden fazla grubun karşılaştırıldığı analizlerde,

normal dağılım varsayımının sağlanmadığı durumlarda Kruskal–Wallis testi uygulanmıştır.

Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Ki-kare testi ile analiz edilmiş; beklenen hücre frekanslarının 5'in altında olduğu durumlarda Fisher'ın kesin testi kullanılmıştır.

Foliküler sıvıda ölçülen ağır metal düzeyleri (Cr, Ni, Zn, Cd ve Pb) ile embriyo gelişim parametreleri (3. ve 5. gün embriyo sayıları ile 5. gün embriyo kalite sınıfları: excellent, good, average, poor) ve klotho düzeyi arasındaki ilişkiler Spearman sıra korelasyon analizi ile değerlendirilmiştir.

Ağır metal ve klotho düzeylerinin 3. ve 5. günde gelişen embriyo sayıları üzerindeki etkisini incelemek amacıyla çoklu doğrusal regresyon analizleri uygulanmıştır. Beşinci günde blastokist oluşumu (blastulasyon) (oluşan / oluşmayan) ve blastokist kalite sınıfları (excellent, good, average, poor) üzerine ağır metal ve klotho düzeylerinin etkisini değerlendirmek amacıyla çoklu lojistik regresyon analizleri gerçekleştirilmiştir. Regresyon analizlerinde sonuçlar katsayı (β) veya olasılık oranı (OR), %95 güven aralığı (GA) ve p değeri ile raporlanmıştır.

Tüm istatistiksel analizlerde $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

# 4. BULGULAR

DOR çalışma grubu (n=64) ve kontrol grubu (n=64) olmak üzere toplam 128 olguya ait demografik/klinik özellikler, yaşam tarzı–maruziyet değişkenleri, foliküler sıvı ağır metal düzeyleri (Cr, Ni, Zn, Cd, Pb) ve embriyo gelişim/kalite parametreleri karşılaştırılmıştır.

## 4.1. Demografik Sonuçlar

Çalışmaya dahil edilen olguların yaş ortalaması 23,6 (SS 4,7, min-maks 19 - 39), ortalama kilosu 163,7 (SS 5,8, min-maks 150 - 180), ortalama boyu 70,1 (SS 13,5, min-maks 45 - 118) ve ortalama vücut kütle indeksi (VKİ) 26,1 (SS 4,9, min-maks 17,6 - 43,3) olarak bulundu. DOR ve kontrol grubunda karşılaştırıldığında düşük over rezervi olan hastaların yaş ortalaması (33,4, SS 4,5), kontrol hastalarından (31,7, SS 4,7) anlamlı olarak yüksek, boy, kilo ve VKİ ortalamaları her iki grupta benzer bulunmuştur (p=0,035, p=0,719, p=0,953, p=0,946). Grupların demografik özellikleri Tablo 4.1'de sunulmuştur.

**Tablo 4.1:** Olguların demografik özellikleri

| | **Tüm Vakalar** | **DOR Grubu** | **Kontrol Grubu** | **p değeri** |
|---|---|---|---|---|
| **Yaş** | 23,6 ± 4,7 | 33,4 ± 4,5 | 31,7 ± 4,7 | **0,035*** |
| **Boy** | 163,7 ± 5,8 | 163,9 ± 6,0 | 163,5 ± 5,7 | 0,719* |
| **Kilo** | 70,1 ± 13,5 | 70,0 ± 13,0 | 70,2 ± 14,2 | 0,953* |
| **Vücut Kitle İndeksi** | 26,1 ± 4,9 | 26,1 ± 5,0 | 26,2 ± 4,8 | 0,946* |

**Veriler normal dağılan değişkenler için ortalama ± standart sapma (SS)(SD: Standard Deviation) olarak sunulmuştur. *: bağımsız t-testi**

36 (% 28,1) olgunun sigara, 32 (% 25,0) alkol, 22 (% 17,2) düzenli ilaç kullanımı ve 20 (% 15,6) olguda sistemik hastalık olduğu görüldü. Eğitim düzeyi incelendiğinde ise 8 (% 6,3) olguların ilkokul, 24 (% 18,8) ortaokul, 24 (% 18,8) lise ve 72 (% 56,3) üniversite mezunu olduğu görüldü. DOR ve kontrol grubunda karşılaştırıldığında gruplar ile sigara, alkol veya ilaç kullanımı, sistemik hastalık ve eğitim düzeyi arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (tüm p>0,05). Olguların tıbbi geçmiş ve eğitim özellikleri Tablo 4.2'de yer almaktadır.

**Tablo 4.2:** Olguların tıbbi geçmiş ve eğitim özellikleri

| | | **Tüm Vakalar** | **DOR Grubu** | **Kontrol Grubu** | **p değeri** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Sigara Kullanımı** | Var | 36 (% 28,1) | 13 (% 20,3) | 23 (% 35,9) | 0,076* |
| | Yok | 92 (% 71,9) | 51 (% 79,7) | 41 (% 64,1) | |
| **Alkol Kullanımı** | Var | 32 (% 25,0) | 15 (% 23,4) | 17 (% 26,6) | 0,839* |
| | Yok | 96 (% 75,0) | 49 (% 76,6) | 47 (% 73,4) | |
| **İlaç Kullanımı** | Var | 22 (% 17,2) | 12 (% 18,8) | 10 (% 15,6) | 0,815* |
| | Yok | 106 (% 82,8) | 52 (% 81,3) | 54 (% 84,4) | |
| **Sistemik Hastalık** | Var | 20 (% 15,6) | 11 (% 17,2) | 9 (% 14,1) | 0,808* |
| | Yok | 108 (% 84,4) | 53 (% 82,8) | 55 (% 85,9) | |
| **Eğitim Düzeyi** | İlkokul | 8 (% 6,3) | 4 (% 6,3) | 4 (% 6,3) | 0,298** |
| | Ortaokul | 24 (% 18,8) | 8 (% 12,5) | 16 (% 25,0) | |
| | Lise | 24 (% 18,8) | 14 (% 21,9) | 10 (% 15,6) | |
| | Üniversite | 72 (% 56,3) | 38 (% 59,4) | 34 (% 53,1) | |

**Değerler sayı (yüzde,%) olarak verilmiştir. *: Ki-kare testi, **: Fisher'ın Kesin testi**

94 (% 73,4) olgunun sağlıklı beslendiği, 13 (% 10,2) olguda ise kimyasal madde maruziyeti ve 66 (% 51,6) olguda kozmetik kullanımı olduğu görüldü. Ortalama infertilite süresi 3,1 (SS 2,3, min-maks 1 - 12) olduğu görüldü. DOR ve kontrol grubunda karşılaştırıldığında gruplar ile sağlıklı beslenme ve kimyasal maruziyet arasında arasında anlamlı bir ilişki saptanmamış iken kozmetik kullanımı oranının kontrol grubunda (%64,1) DOR grubundan (%39,1) anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü. İnfertilite süresi ortalaması her iki grupta benzer bulunmuştur (p=0,910).

DOR grubu ve kontrol grubunun yaşam tarzı özellikleri ve infertilite süresine Tablo 4.3'de gösterilmektedir.

**Tablo 4.3**: DOR ve kontrol gruplarının yaşam tarzı özellikleri ve infertilite süresi

| | | **Tüm Vakalar** | **DOR Grubu** | **Kontrol Grubu** | **p değeri** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Sağlıklı Beslenme** | Var | 94 (% 73,4) | 52 (% 81,3) | 42 (% 65,6) | 0,071* |
| | Yok | 34 (% 26,6) | 12 (% 18,8) | 22 (% 34,4) | |
| **Kimyasal Madde Maruziyeti** | Var | 13 (% 10,2) | 7 (% 10,9) | 6 (% 9,4) | 0,999* |
| | Yok | 115 (% 89,8) | 57 (% 89,1) | 58 (%90,6) | |
| **Kozmetik Kullanımı** | Var | 66 (% 51,6) | 25 (% 39,1) | 41 (% 64,1) | **0,008*** |
| | Yok | 62 (% 48,4) | 39 (% 60,9) | 23 (% 35,9) | |
| **İnfertilite Süresi (yıl)** | | 3,1 ± 2,3 | 3,1 ± 2,2 | 3,2 ± 2,5 | 0,910** |

**Veriler normal dağılan değişkenler için sayı (yüzde, %) ve ortalama ± standart sapma (SS)(SD: Standard Deviation) olarak sunulmuştur. *: Ki-kare testi, **: bağımsız t-testi**

## 4.2 Klinik, Laboratuvar ve Embriyo Kalitesi Dağılım Parametreleri

Olguların klinik ve IVF parametreleri incelendiğinde OPU'da elde edilen toplam oosit sayı ortancası 8,5 (ÇAA 9,8, min-maks 1 - 48), ortanca olgun oosit sayısı 5 (ÇAA 8,8, min-maks 0 - 33), ortanca 3. gün embriyo sayısı 4 (ÇAA 7,0, min-maks 0 - 26) ve ortanca 5. güne ulaşan embriyo sayısı 2 (ÇAA 4, min-maks 0 - 10) olarak bulundu. 5. güne ulaşan ortalama en iyi kalite embriyo sayısı ortancası 0 (ÇAA 1, min-maks 0 - 8), ortanca iyi kalite embriyo sayısı 1 (ÇAA 2,0, min-maks 0 - 6), ortanca orta kalite embriyo sayısı 0 (ÇAA 1, min-maks 0 - 6) ve ortanca düşük kalite embriyo sayısı ise 0 (ÇAA 0, min-maks 0 - 3) olarak bulundu. DOR ve kontrol grubunda karşılaştırıldığında kontrol grubu toplam oosit sayısı, olgun oosit sayısı, 3. ve 5. gün embriyo sayısı, 5. gün en iyi, iyi ve orta kalite embriyo sayı ortancaları kontrol grubunda DOR grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu (tümü $p<0,05$). Olguların klinik ve IVF parametreleri Tablo 4.4'de yer almaktadır.

**Tablo 4.4 :** Olguların klinik ve IVF parametreleri

| | Tüm Vakalar | DOR Grubu | Kontrol Grubu | p değeri |
|---|---|---|---|---|
| **Toplam Oosit Sayısı** | 8,5 (9,8) | 5,0 (5,0) | 13,5 (10,8) | **<0,001*** |
| **Olgun Oosit Sayısı** | 5,0 (8,8) | 3,0 (3,8) | 10,5 (8,8) | **<0,001*** |
| **3. Gün Embriyo Sayısı** | 4,0 (7,0) | 2,0 (3,0) | 8,5 (8,0) | **<0,001*** |
| **5. Gün Embriyo Sayısı** | 2,0 (4,0) | 2,0 (2,0) | 4,5 (4,0) | **<0,001*** |
| **5. Gün En İyi Kalite Embriyo Sayısı** | 0 (1,0) | 0 (1,0) | 1,0 (2,0) | **<0,001*** |
| **5. Gün İyi Kalite Embriyo Sayısı** | 1,0 (2,0) | 0 (1,0) | 2,0 (3,0) | **<0,001*** |
| **5. Gün Orta Kalit Embriyo Sayısı** | 0 (1,0) | 0 (1,0) | 1,0 (2,0) | **<0,001*** |
| **5. Gün Düşük Kalitede Embriyo Sayısı** | 0 (0) | 0 (0) | 0 (1,0) | 0,463* |

**Veriler normal dağılmayan değişkenler için ortanca (çeyrekler arası aralık, ÇAA)(IQR: Interquartile Range) olarak sunulmuştur. *: Mann-Whitney U test**

## 4.3. Embriyo Kalitesi, Ağır Metal Maruziyeti ve Serum Klotho Seviyesi Parametreleri

Olguların foliküler sıvıda ölçülen ağır metal düzeyleri incelendiğinde ortalama krom seviyesi 177,6 (SS 55,7, min-maks 24,3 - 392,0), ortanca nikel seviyesi 20,4 (ÇAA 8,9, min-maks 24,3 - 392,0), ortanca çinko seviyesi 397,7 (ÇAA 305,0, min-maks 0 - 1408,2), ortanca kadmiyum seviyesi 0,2 (ÇAA 0,2, min-maks -0,1-0,81) ve ortanca kurşun seviyesi 0,0 (ÇAA 1,2, min-maks 0 - 38,9) olarak bulundu. Klotho düzeyi ortancası ise 0,7 (ÇAA 0,8, min-maks 0,2-4,8) olarak bulundu. DOR ve kontrol grubunda karşılaştırıldığında DOR grubu krom ortalaması (187,7, SS 55,9), kontrol grubu ortalamasından (167,5, SS 54,1) ve DOR grubu çinko ortancası (464,8, ÇAA 269,3) kontrol grubundan (337,7, ÇAA 270,4) anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0,040$, $p<0,001$). Nikel, kadmiyum, kurşun ve klotho düzeyi her iki grupta benzer bulunmuştur (tüm $p>0,05$). Olguların folikül sıvısında ölçülen ağır metal ve serum Klotho düzeyleri Tablo 4.5'de gösterilmektedir.

**Tablo 4.5:** Olguların foliküler sıvıda ölçülen ağır metal ve serum Klotho düzeyleri

| | Tüm Vakalar | Kontrol Grubu | DOR Grubu | p değeri |
|---|---|---|---|---|
| **Cr (µg/L)** | 177,6 (55,7) | 167,5 (54,1) | 187,7 (55,9) | **0,040*** |
| **Ni (µg/L)** | 20,4 (8,9) | 20,3 (10,1) | 20,7 (8,8) | 0,839** |
| **Zn (µg/L)** | 397,7 (305,0) | 337,7 (270,4) | 464,8 (269,3) | **<0,001**** |
| **Cd (µg/L)** | 0,2 (0,2) | 0,2 (0,2) | 0,2 (0,2) | 0,814** |
| **Pb (µg/L)** | 0,0 (1,2) | 0,0 (0,7) | 0,1 (1,6) | 0,062** |
| **Klotho Düzeyi** | 0,7 (0,8) | 0,7 (0,7) | 0,8 (0,9) | 0,600** |

**Veriler normal dağılmayan değişkenler için ortanca (çeyrekler arası aralık, ÇAA)(IQR: Interquartile Range) olarak sunulmuştur. *: bağımsız t-testi, **: Mann-Whitney U testi**

Sigara kullanan ve kullanmayan gruplar arasında ağır metal düzeyleri ve serum klotho düzeyi karşılaştırıldığında sigara kullananlarda nikel ortancası (25,3, ÇAA 13,0) kullanmayanlarda (19,4, ÇAA 6,8), sigara kullananlarda çinko ortancası (550,1, ÇAA 285,7) kullanmayanlardan (371,5, ÇAA 193,6), sigara kullananlarda kadmiyum ortancası (0,2, ÇAA 0,2) kullanmayanlardan (0,1, ÇAA 0,1) ve sigara kullananlarda kurşun ortancası (2,2, ÇAA 2,5) kullanmayanlardan (0,0, ÇAA 0,02) anlamlı olarak yüksek çıkmışken krom seviyesi her iki grupta benzer bulunmuştur ($p<0,001$, $p=0,001$, $p<0,001$, $p<0,001$, $p=0,404$). Klotho düzeyi ortancası sigara kullanmayanlarda (0,8, ÇAA 0,8), sigara kullananlarda (0,5, ÇAA 0,3) anlamlı olarak yüksek çıkmıştır ($p=0,007$). Bulgular Tablo 4.6'da yer almaktadır.

**Tablo 4.6:** Sigara kullanan ve kullanmayan hastalarda foliküler sıvıda ölçülen ağır metal ve serum Klotho düzeylerinin karşılaştırılması

| | Sigara Kullanan (n=36) | Sigara Kullanmayan (n=92) | p değeri |
|---|---|---|---|
| **Cr (µg/L)** | 184,2 (55,1) | 175,0 (56,0) | 0,404* |
| **Ni (µg/L)** | 25,3 (13,0) | 19,4 (6,8) | **<0,001**** |
| **Zn (µg/L)** | 550,1 (285,7) | 371,5 (193,6) | **<0,001*** |
| **Cd (µg/L)** | 0,2 (0,2) | 0,1 (0,1) | **<0,001**** |
| **Pb (µg/L)** | 2,2 (2,5) | 0,0 (0,02) | **<0,001**** |
| **Klotho Düzeyi** | 0,5 (0,3) | 0,8 (0,8) | **0,007**** |

**Veriler normal dağılmayan değişkenler için ortanca (çeyrekler arası aralık, ÇAA)(IQR: Interquartile Range) olarak sunulmuştur. *: bağımsız t-testi, **: Mann-Whitney U testi**

Alkol kullanan ve kullanmayan gruplar arasında ağır metal düzeyleri karşılaştırıldığında nikel seviyesi ortancası alkol kullananlarda (23,0, ÇAA 10,9) kullanmayanlarda (19,6, ÇAA 8,3) ve kadmiyum seviyesi ortancası alkol kullananlarda (0,3, ÇAA 0,1) kullanmayanlardan (0,1, ÇAA 0,1) anlamlı olarak

yüksek çıkmışken krom, çinko kurşun seviyeleri ve klotho düzeyi benzer bulunmuştur (p=0,038, p<0,001, p=0,155, p=0,255, p=0,248, p=0,662). Bulgular Tablo 4.7'de yer almaktadır.

**Tablo 4.7 :** Alkol kullanan ve kullanmayan hastalarda foliküler sıvıda ölçülen ağır metal ve serum klotho düzeylerinin karşılaştırılması

| | **Alkol Kullanan (n=32)** | **Alkol Kullanmayan (n=96)** | **p değeri** |
|---|---|---|---|
| **Cr (µg/L)** | 188,6 (56,1) | 172,1 (68,2) | 0,155* |
| **Ni (µg/L)** | 23,0 (10,9) | 19,6 (8,3) | **0,038**** |
| **Zn (µg/L)** | 450,1 (258,8) | 395,4 (283,2) | 0,255** |
| **Cd (µg/L)** | 0,3 (0,1) | 0,1 (0,1) | **<0,001**** |
| **Pb (µg/L)** | 0,3 (1,8) | 0,0 (0,7) | 0,248** |
| **Klotho Düzeyi** | 0,9 (1,0) | 0,7 (0,7) | 0,662** |

**Veriler normal dağılmayan değişkenler için ortanca (çeyrekler arası aralık, ÇAA)(IQR: Interquartile Range) olarak sunulmuştur. *: bağımsız t-testi, **: Mann-Whitney U testi**

5. güne ulaşan embriyo kalitesi dağılımı her 2 grupta karşılaştırıldığında kontrol grubunda en iyi, iyi ve orta embriyo kalitesi ortancaları DOR grubundan kontrol grubundan anlamlı olarak düşük bulunmuş iken düşük embriyo kalitesi her iki grupta benzer bulunmuştur (p<0,001, p<0,001, p=0,001, p=0,463). DOR grubunda 5. Günde embriyo olaşması oranı (%57,1) kontrol hastalarından (%92,9) anlamlı olarak düşük bulunmuştur (p<0,001). 5.güne ulaşan embriyo kalite sayılarının DOR ve kontrol grubu arasında karşılaştırılması Tablo 4.8'de gösterilmektedir.

**Tablo 4.8:** 5. güne ulaşan embriyo kalite sayılarının DOR ve kontrol grubu arasında karşılaştırılması

| **Embriyo Kalitesi** | **DOR Grubu** | **Kontrol Grubu** | **p değeri** |
|---|---|---|---|
| **En İyi** | 0 (1,0) | 1,0 (2,0) | **<0,001*** |
| **İyi** | 0 (1,0) | 2,0 (3,0) | **<0,001*** |
| **Orta** | 0 (1,0) | 1,0 (2,0) | **<0,001*** |
| **Düşük** | 0 (0) | 0 (1,0) | 0,463* |
| **5. Günde Embriyo oluşan** | 41 (%64,1) | 59 (%92,2) | **<0,001**** |
| **5. Günde Embriyo oluşmayan** | 23 (%35,9) | 5 (%7,8) | |

**Veriler normal dağılmayan değişkenler için ortanca (çeyrekler arası aralık, ÇAA)(IQR: Interquartile Range) olarak sunulmuştur. *: Mann-Whitney U test, **: Ki-kare testi**

5. günde oluşan en iyi, iyi ve orta kalite embriyo sayıları ile ağır metal seviyeleri arasındaki ilişki korelasyon ile incelendiğinde çinko seviyesi ile orta kalite embriyo sayısı arasında zayıf (ρ=0,247, p=0,005) ve iyi kalite embriyo sayısı ile çok zayıf (ρ=0,186, p=0,035) bir ilişki bulunmuştur. Bulgular Tablo 4.9'da yer almaktadır.

**Tablo 4.9:** 5. günde oluşan en iyi, iyi, orta ve düşük kalitedeki embriyo sayıları ile ağır metal seviyeleri arasındaki ilişki

| | **En İyi Kalite Embriyo Sayısı** | **Orta Kalite Embriyo Sayısı** | **İyi Kalite Embriyo Sayısı** | **Düşük Kalite Embriyo Sayısı** |
|---|---|---|---|---|
| **Cr (µg/L)** | 0,074 (0,407) | 195 (0,027) | 0,124 (0,163) | 0,114 (0,201) |
| **Ni (µg/L)** | -0,147 (0,098) | 0,058 (0,515) | 0,032 (0,716) | -0,029 (0,746) |
| **Zn (µg/L)** | 0,160 (0,072) | 0,247 (0,005) | 0,186 (0,035) | 0,117 (0,190) |
| **Cd (µg/L)** | -0,013 (0,885) | 0,059 (0,506) | 0,076 (0,394) | 0,029 (0,741) |
| **Pb (µg/L)** | 0,031 (0,726) | 0,097 (0,275) | -0,032 (0,722) | -0,007 (0,941) |

**Veriler normal dağılmayan değişkenler için ortanca (çeyrekler arası aralık, ÇAA)(IQR: Interquartile Range) olarak sunulmuştur. *: bağımsız t-testi, **: Mann-Whitney U testi**

Düşük over rezervi (DOR) tanısı olan olgular ile kontrol grubu arasında serum Klotho düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır(p= 0,51).Düşük Over Rezervi grupta serum Klotho düzeylerinin medyan değeri 0,67 (Q1–Q3: 0,46–0,93) iken, kontrol grubunda bu değer 0,74 (Q1–Q3: 0,50–1,27) olarak bulunmuştur. Verilerin normal dağılım göstermemesi nedeniyle gruplar arası karşılaştırma Mann–Whitney U testi ile yapılmıştır. DOR ve kontrol grubu arasındaki serum Klotho düzeyleri Tablo 4.10'da karşılaştırılmıştır.

**Tablo 4.10:** DOR ve kontrol grubu arasındaki serum Klotho düzeylerinin karşılaştırılması

| **Çalışma Grupları** | **n** | **Medyan (Q1-Q3)** | **p değeri*** |
|---|---|---|---|
| **DOR** | 33 | 0,67 (0,46 – 0,93) | 0,51 |
| **Kontrol** | 48 | 0,74 (0,50 – 1,27) | |

*** Mann–Whitney U testi**

Serum Klotho düzeyleri ile 5. günde oluşan en iyi, iyi, orta ve düşük kalite embriyo sayıları arasındaki ilişki Spearman korelasyonu ile incelendiğinde anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (tümü p>0,05). Bulgular Tablo 4.11'de yer almaktadır.

**Tablo 4.11:** Serum Klotho düzeyleri ile 5. günde gelişen en iyi, iyi, orta ve düşük kalitedeki embriyo sayısı arasındaki ilişki

| | **5. Gün En İyi Kalite Embriyo Sayısı** | **5. Gün İyi Kalite Embriyo Sayısı** | **5. Gün Orta Kalite Embriyo Sayısı** | **5. Gün Düşük Kalite Embriyo Sayısı** |
|---|---|---|---|---|
| **Klotho Düzeyi** | -0,111 (0,322) | 0,044 (0,694) | 0,062 (0,581) | 0,019 (0,868) |

**Veriler normal dağılmayan değişkenler için ortanca (çeyrekler arası aralık, ÇAA)(IQR: Interquartile Range) olarak sunulmuştur. *: bağımsız t-testi, **: Mann-Whitney U testi**

Serum Klotho düzeyleri ile foliküler sıvı ağır metal seviyeleri arasındaki ilişki Spearman korelasyonu ile incelendiğinde Klotho seviyesi ile kadmiyum seviyesi arasında negatif yönde zayıf bir ilişki (ρ=-0,269, p=0,015) bulunmuş iken klotho seviyesi ile krom, nikel, çinko ve kurşun seviyeleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (tüm p>0,05). Serum Klotho düzeyleri ile foliküler sıvıda ağır metal düzeyleri arasındaki ilişki Tablo 4.12'de gösterilmektedir.

**Tablo 4.12:** Serum Klotho düzeyleri ile foliküler sıvı ağır metal düzeyleri arasındaki ilişki

| | **Cr (µg/L)** | **Cr (µg/L)** | **Cr (µg/L)** | **Cr (µg/L)** | **Cr (µg/L)** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Klotho Düzeyi** | -0,021 (0,855) | -0,051 (0,650) | -0,151 (0,179) | -0,269 (0,015) | -0,206 (0,065) |

**Veriler normal dağılmayan değişkenler için ortanca (çeyrekler arası aralık, ÇAA)(IQR: Interquartile Range) olarak sunulmuştur. *: bağımsız t-testi, **: Mann-Whitney U testi**

5. günde embriyo oluşumuna ağır metal ve klotho seviyelerinin etkisi çoklu lojistik regresyon modeli ile değerlendirildiğinde çinko seviyesinde 1 birim artışın 5. günde embriyo oluşumunu 1,004 (%95 GA 1,001 - 1,01) artışa neden olduğu görüldü (p=0,044). Bulgular Tablo 4.13'de yer almaktadır.

**Tablo 4.13:** 5. günde embriyo oluşmasına foliküler sıvı ağır metal ve serum Klotho düzeylerinin etkisi

| | Katsayı | %95 Güven Aralığı | p değeri |
|---|---|---|---|
| **Kesişim** | 0,72 | 0,07 - 6,07 | 0,674 |
| **Cr (µg/L)** | 1,00 | 0,99 - 1,01 | 0,949 |
| **Ni (µg/L)** | 0,98 | 0,93 - 1,0001 | 0,197 |
| **Zn (µg/L)** | 1,004 | 1,001 - 1,01 | **0,044** |
| **Cd (µg/L)** | 4,96 | 0,04 - 1933,33 | 0,472 |
| **Pb (µg/L)** | 1,14 | 0,90 - 2,26 | 0,625 |
| **Klotho Seviyesi** | 1,12 | 0,60 - 2,36 | 0,574 |

**Veriler normal dağılmayan değişkenler için ortanca (çeyrekler arası aralık, ÇAA)(IQR: Interquartile Range) olarak sunulmuştur. *: bağımsız t-testi, **: Mann-Whitney U testi**

# 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında, DOR tanısı olan olgularda ağır metal maruziyetinin serum Klotho düzeyi ve embriyo kalitesi üzerindeki etkileri kapsamlı biçimde değerlendirilmiştir. Çalışmadan elde edilen temel bulgular, DOR grubunda foliküler sıvıda krom (Cr) ve çinko (Zn) düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğunu ve bu artışın embriyo kalitesinde bozulma ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Buna paralel olarak, DOR grubunda en iyi, iyi ve orta kalite embriyo oranlarının daha düşük oranlarda izlendiği saptanmıştır.

Bu sonuçlar, düşük over rezervinin yalnızca yaşa bağlı folikül kaybı ile açıklanamayacağını; çevresel faktörlerin ve özellikle ağır metal maruziyetinin oosit ve embriyo gelişimi üzerinde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Literatürde de DOR'lu olgularda sınırlı sayıdaki folikülün çevresel stres faktörlerine karşı daha duyarlı olduğu ve bu nedenle toksik maruziyetlerin etkilerinin daha belirgin ortaya çıkabileceği bildirilmektedir (Broekmans ve ark., 2009; Dutta ve ark., 2022).

Foliküler sıvı, oositin geliştiği biyolojik mikroçevreyi doğrudan yansıtması nedeniyle çevresel toksinlerin üreme sistemi üzerindeki etkilerini değerlendirmede kritik bir biyolojik materyal olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada foliküler sıvıda Cr ve Zn düzeylerinin DOR grubunda daha yüksek bulunması, IVF hastalarında yapılan önceki çalışmalarla uyumludur. Foliküler sıvıda artmış krom ve çinko düzeylerinin oosit maturasyonu ve embriyo gelişimi üzerinde biyolojik etkiler oluşturabileceği bildirilmiştir. Kromun özellikle altı değerlikli formunun hücresel düzeyde reaktif oksijen türleri üretimini artırarak oosit ve granüloza hücrelerinde oksidatif stres yanıtını tetiklediği; buna bağlı olarak hücresel fonksiyonlarda bozulmaya yol açabildiği gösterilmiştir (Xu ve ark., 2020).

Krom ve çinkonun foliküler mikroçevrede yüksek konsantrasyonlarda bulunmasının, oksidatif stres artışı, mitokondriyal fonksiyonların etkilenmesi ve hücresel sinyal yolaklarında dengesizlik ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Her ne kadar çinko fizyolojik düzeylerde oosit maturasyonu ve embriyo gelişimi için gerekli bir eser

element olsa da, foliküler sıvıda artmış düzeylerinin redoks dengesini bozarak granüloza hücre fonksiyonlarını olumsuz etkileyebileceği bildirilmiştir. Bu süreçler steroidogenezde baskılanmaya, hücresel stres yanıtlarının artmasına ve foliküler mikroçevrenin bozulmasına yol açabilmektedir (Tolunay ve ark. 2016).

Bu tez çalışmasında serum Klotho düzeyleri de değerlendirilmiş; ancak DOR ve kontrol grupları arasında serum Klotho düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu bulgu, literatürde Klotho'nun DOR ile ilişkili olduğunu bildiren bazı çalışmalarla farklılık göstermektedir (Xu ve ark., 2020; Liang & Feng, 2023). Bununla birlikte, Klotho düzeylerinde anlamlı fark saptanmamış olması, bu proteinin üreme biyolojisindeki rolünü dışlamamakta; aksine Klotho'nun etkilerinin sistemik serum düzeylerinden ziyade lokal doku ekspresyonu veya hücresel düzeydeki fonksiyonlarıyla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (Takemura & Okabe, 2016; Hu ve ark., 2013; Liang & Feng, 2023)

Nitekim deneysel çalışmalarda ağır metal maruziyetinin oksidatif stres artışı yoluyla Klotho gen ekspresyonunu baskılayabildiği; ancak bu etkinin her zaman serum Klotho düzeylerine yansımayabileceği gösterilmiştir. Klotho'nun over, granüloza hücreleri ve foliküler mikroçevredeki lokal ekspresyonunun, dolaşımdaki serum düzeylerinden bağımsız olarak üreme hücrelerinin oksidatif stres yanıtını düzenleyebileceği bildirilmektedir (Hu ve ark., 2013). Bu nedenle çalışmamızda serum Klotho düzeylerinde gruplar arasında fark saptanmamış olması, ağır metal maruziyetinin embriyo kalitesi üzerindeki olumsuz etkilerinin Klotho'dan bağımsız gerçekleşmiş olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda sigara kullanan olgularda Ni,Zn,Cd ve Pb düzeylerinin daha yüksek bulunması, sigaranın önemli bir ağır metal kaynağı olduğunu gösteren literatürle uyumludur (Vigeh ve ark., 2011). Sigara dumanı yoluyla alınan kadmiyumun biyolojik yarılanma ömrünün uzun olması, foliküler sıvıda birikime ve oksidatif stres artışına yol açarak oosit ve embriyo kalitesini olumsuz etkileyebilmektedir. Bu durum, DOR'lu ve sigara kullanan kadınlarda embriyo kalitesinin daha belirgin şekilde

bozulmasını açıklayabilecek biyolojik bir zemin sunmaktadır (Vigeh ve ark., 2011; Tchounwou ve ark., 2012; Al-Saleh ve ark., 2008).

Sonuç olarak, bu tez çalışmasının bulguları düşük over rezervinin multifaktöriyel bir klinik durum olduğunu; ağır metal maruziyetinin oosit ve embriyo kalitesini olumsuz etkilediğini ve bu sürecin serum Klotho düzeylerinden bağımsız olarak da gerçekleşebileceğini göstermektedir. Klinik açıdan, DOR tanısı alan kadınlarda çevresel maruziyetlerin ve yaşam tarzı faktörlerinin değerlendirilmesi, ağır metal maruziyetinin azaltılmasına yönelik danışmanlık verilmesi ve bireyselleştirilmiş IVF yaklaşımlarının benimsenmesi, tedavi başarısını artırabilecek önemli stratejiler arasında yer alabilir. Gelecekte daha geniş örneklemli, çok merkezli ve moleküler düzeyde tasarlanmış çalışmalarla ağır metal–oksidatif stres–Klotho ekseni ile üreme sonuçları arasındaki ilişkilerin daha net ortaya konması önerilmektedir.

# 6.KAYNAKLAR


Agarwal, A., Baskaran, S., Parekh, N., Cho, C.-L., Henkel, R., Vij, S., Arafa, M., Panner Selvam, M. K., & Shah, R. (2021). Male infertility. *The Lancet*, 397(10271), 319–333. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32667-2

Agarwal, A., Gupta, S., & Sharma, R. (2020). Oxidative stress and its implications in female infertility. *Reproductive Biology and Endocrinology, 18*(1), 1–15. https://doi.org/10.1186/s12958-020-00615-x

Akinloye, O., & Arowojolu, A. O. (2020). Heavy metals and endocrine disruption: Implications for female fertility. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 62*, 126618. https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126618

Alpha Scientists in Reproductive Medicine & ESHRE Special Interest Group of Embryology. (2011). *The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: Proceedings of an expert meeting*. Human Reproduction, 26(6), 1270–1283. https://doi.org/10.1093/humrep/der037

Al-Saleh, I., Coskun, S., Mashhour, A., Shinwari, N., El-Doush, I., Billedo, G., … & Mohamed, G. E. D. (2008). Exposure to heavy metals (lead, cadmium and mercury) and its effect on the outcome of in-vitro fertilization treatment. *International Journal of Hygiene and Environmental Health, 211*(5–6), 560–579. https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2008.02.007

Al-Saleh, I., Coskun, S., Al-Rajudi, T., & Al-Rouqi, R. (2008). Lead exposure and its relationship to reproductive outcomes in women undergoing in vitro fertilization. *Reproductive Toxicology, 25*(2), 282–291. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.11.007

American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG). (2015). Female age-related fertility decline. *Committee Opinion No. 589.Obstetrics &Gynecology*, 125(2), 478–487. https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000460714.59156.30

American Society for Reproductive Medicine (ASRM). (2023). *Embryo grading and evaluation guidelines*. ASRM Academy. Retrieved from https://www.asrm.org

Arch Public Health. (2023). Associations between cadmium exposure and infertility among women of reproductive age: Evidence from the NHANES survey. *Archives of Public Health, 81*(1), 72. https://doi.org/10.1186/s13690-023-01172-6

ASRM. (2020). Testing and interpreting measures of ovarian reserve: A committee

opinion. *Fertility and Sterility, 114*(6), 1151–1157. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.08.025

Bhardwaj, J. K., Bikal, P., & Sachdeva, S. N. (2021). *Effects of heavy metals on reproduction owing to infertility*. Journal of Biochemical and Toxicology. https://doi.org/10.1002/jbt.22823

Bıyık, R., Şen, C., & Kaya, D. (2021). Klotho proteininin üreme sağlığı üzerindeki etkileri. *Journal of Experimental and Clinical Medicine, 38*(3), 401–407.

Broekmans, F. J. M., Soules, M. R., & Fauser, B. C. J. M. (2009). Ovarian aging: Mechanisms and clinical consequences. *Endocrine Reviews*, 30(5), 465–493. https://doi.org/10.1210/er.2009-0006

Broekmans, F. J., Soules, M. R., & Fauser, B. C. J. M. (2009). Ovarian aging: Mechanisms and clinical consequences. *Endocrine Reviews, 30*(5), 465–493. https://doi.org/10.1210/er.2009-0006

Broekmans, F. J., Moolhuijsen, L. M., Laven, J. S., & Fauser, B. C. (2020). Female reproductive ageing: Current knowledge and future trends.*Reproduction*, 160(3),R41–R54.https://doi.org/10.1530/REP-20-0096

Broer, S. L., Broekmans, F. J. M., Laven, J. S. E., & Fauser, B. C. J. M. (2014). Anti-Müllerian hormone: ovarian reserve testing and its potential clinical implications. *Human Reproduction Update, 20*(5), 688–701. https://doi.org/10.1093/humupd/dmu020

Bouet, P. E., El Hachem, H., Monceau, E., Gariépy, G., Kadoch, J. I., & Sylvestre, C. (2021). Implantation failure: Molecular mechanisms and clinical solutions. *Reproductive BioMedicine Online, 43*(4), 633–650. https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2021.07.013

Borowska, S., & Brzóska, M. M. (2015). Metals in cosmetics: Implications for human health. *Journal of Applied Toxicology, 35*(6), 551–572. https://doi.org/10.1002/jat.3129

Bukulmez, O., Babayev, S. N., & Reed, B. G. (2015). *Age-related ovarian reserve decline and its impact on IVF outcomes*. Fertility and Sterility, 103(5), 1127–1134. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.02.013

Butts, C. D., Bloom, M. S., McGough, A., Lenhart, N., Wong, R., Mok-Lin, E.,

Parsons, P. J., Galusha, A. L., Browne, R. W., Yucel, R. M., Feingold, B. J., & Fujimoto, V. Y. (2021). Toxic elements in follicular fluid adversely influence the likelihood of pregnancy and live birth in women undergoing IVF. *Human reproduction open*, *2021*(3), hoab023. https://doi.org/10.1093/hropen/hoab023

Capalbo, A., Rienzi, L., Cimadomo, D., Maggiulli, R., Elliott, T., Wright, G., Nagy, Z. P., & Ubaldi, F. M. (2014). Correlation between standard blastocyst morphology, euploidy and implantation: an observational study in two centers involving 956 screened blastocysts. *Human reproduction (Oxford, England)*, *29*(6), 1173–1181. https://doi.org/10.1093/humrep/deu033

Chen, M., Yang, Y., & Hu, X. (2023). *Blastocyst quality and reproductive outcomes in IVF/ICSI cycles: A retrospective cohort study*. *Frontiers in Endocrinology, 14*, 1069440. https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1069440 Cleveland Clinic. (2024).

Cohen, J., Chabbert-Buffet, N., & Darai, E. (2014). Diminished ovarian reserve, premature ovarian failure, poor ovarian responder—A plea for universal definitions. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 181*, 103–107. https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2014.08.016

Çelik, S., … (2023). Zonulin as a potential biomarker for diminished ovarian reserve. *Turkish Journal of Obstetrics and Gynecology*. https://doi.org/10.4274/tjod.galenos.2023.34567

Dutta, S., Gorain, B., Choudhury, H., Roychoudhury, S., & Sengupta, P. (2022). Environmental and occupational exposure of metals and female reproductive health. Environmental Science and Pollution Research, 29, 62067–62092. https://doi.org/10.1007/s11356-021-16581-9

Özçivit Erkan, İ. B., Öncül, M., Başıbüyük, Z., Çebi, C., & Çepni, İ. (2024). Serum anti-Mullerian hormone levels in Turkish girls aged 18 and younger for ovarian reserve determination. *Journal of the Turkish German Gynecological Association*, *25*(3), 138–143. https://doi.org/10.4274/jtgga.galenos.2024.2023-8-5

Fan, X., Wang, J., Song, M., … (2016). Serum Klotho levels are decreased in women with polycystic ovary syndrome. *Reproductive Biology and Endocrinology, 14*(1), 79. https://doi.org/10.1186/s12958-016-0205-2

Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BCJM, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L. ESHRE consensus on the definition of 'poor response to ovarian stimulation for in vitro fertilization: The Bologna criteria. *Human Reproduction*. 2011;26(7):1616-1624. doi:10.1093/humrep/der092

Frontiers in Public Health. (2023). Blood levels of cadmium, lead, and mercury in

relation to infertility: A population-based study. *Frontiers in Public Health, 11*, 1122183. https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1122183

Frontiers in Reproductive Health. (2022). Toxic effects of heavy metals on the female reproductive system: Mechanisms and epidemiological evidence. *Frontiers in Reproductive Health, 4*, 1037379. https://doi.org/10.3389/frph.2022.1037379

Gardner, D. K., & Schoolcraft, W. B. (1999). *Culture and transfer of human blastocysts*. In Jansen, R., & Mortimer, D. (Eds.), *Towards Reproductive Certainty: Fertility and Genetics Beyond 1999* (pp. 378–388). Parthenon Publishing.

Geng, X., Zhang, Y., Wang, L., & Liu, Y. (2023). Cadmium exposure and female reproductive toxicity: Mechanisms and health implications. *Archives of Public Health, 81*, 87. https://doi.org/10.1186/s13690-023-01067-3

Gore, A. C., Chappell, V. A., Fenton, S. E., Flaws, J. A., Nadal, A., Prins, G. S., Toppari, J., & Zoeller, R. T. (2023). EDC impacts on reproduction: A contemporary overview. *Nature Reviews Endocrinology, 19*, 235–252. https://doi.org/10.1038/s41574-023-00805-3

Guo, Y., Wang, Y., & Wang, J. (2018). Roles of α-Klotho in human diseases. *BioFactors, 44*(3), 212–223. https://doi.org/10.1002/biof.1423

Greil, A. L., Slauson-Blevins, K., & McQuillan, J. (2010). The experience of infertility: A review of recent literature. *Sociology of Health & Illness*, 32(1), 140–162. https://doi.org/10.1111/j.1467-9566.2009.01213.x

Hill, M. J., Richter, K. S., Heitmann, R. J., Graham, J. R., Tucker, M. J., & DeCherney, A. H. (2013). *Trophectoderm grade predicts outcomes of single-blastocyst transfer*. *Fertility and Sterility, 99*(5), 1283–1289. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.12.003

Hu, M. C., Shi, M., Zhang, J., … (2013). Klotho deficiency causes vascular calcification in chronic kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology, 24*(1), 77–85. https://doi.org/10.1681/ASN.2012030243

Hwang, K., Lee, J., Kim, Y., & Park, S. (2022). Follicular fluid biomarkers and embryo development in IVF cycles. *Reproductive Biology and Endocrinology, 20*, 1–12. https://doi.org/10.1186/s12958-022-00929-7

Hwang, S., Hood, R. B., Hauser, R., Schwartz, J., Laden, F., Jones, D., Liang, D., & Gaskins, A. J. (2022). Using follicular fluid metabolomics to investigate the association between air pollution and oocyte quality. *Environment International,*

*169*, 107552. https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107552

Hwang, J. Y., Kim, S. H., Lee, J. R., & Jee, B. C. (2022). Ovarian reserve, oocyte quality, and assisted reproductive outcomes. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine, 49*(2), 75–83. https://doi.org/10.5653/cerm.2022.04958

Kulaksız, D., … (2022). Evaluation of ovarian reserve at late reproductive age. *Osmangazi Journal of Medicine*, 44(3), 450–457. https://doi.org/10.20515/otd.123456

Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B. B., & Beeregowda, K. N. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology, 7*(2), 60–72. https://doi.org/10.2478/intox-2014-0009

Lee, Y. H., Kim, S. A., & Kim, J. H. (2020). Association between low-level exposure to heavy metals and infertility among women: NHANES 2013–2016. *International Journal of Environmental Research and Public Health, 17*(5), 1794. https://doi.org/10.3390/ijerph17051794

Liang, C., & Feng, Y. (2023).The role of klotho in female reproductive aging and oxidative stress regulation. *Reproductive Biology and Endocrinology, 21*, Article 18. https://doi.org/10.1186/s12958-023-01015-6

Lin, C. Y., Li, Y. C., & Hsieh, C. H. (2023). Blood lead levels and infertility risk in women aged 20–44 years: NHANES analysis. *Frontiers in Public Health, 11*, 1156198. https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1156198

Loichinger, M., … (2016). Expression of Klotho in human placenta and its correlation with pregnancy progression. *Placenta, 47*, 64–70. https://doi.org/10.1016/j.placenta.2016.08.001

Lu, P., Sun, W., & Zhang, L. (2008). Klotho gene and female reproductive function. *Endocrine Journal, 55*(5), 891–896. https://doi.org/10.1507/endocrj.K08-071

Makoto, K. (2008). Klotho as a regulator of oxidative stress and aging. *Biochemical and Biophysical Research Communications, 377*(1), 1–5. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.08.047

Makoto, K., … (1997). Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature, 390*(6655), 45–51. https://doi.org/10.1038/36285

Mao, Z., Lin, M., & Zhang, L. (2018). Klotho treatment improves ovarian function

and increases pregnancy rate in rats. *Reproductive Sciences, 25*(7), 1106–1113. https://doi.org/10.1177/1933719117732876

Mascarenhas, M. N., Flaxman, S. R., Boerma, T., Vanderpoel, S., & Stevens, G. A. (2012). National, regional, and global trends in infertility prevalence. *PLoS Medicine, 9*(12), e1001356. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001356

Matsumura, Y., Aizawa, H., Shiraki-Iida, T., Nagai, R., Kuro-O, M., & Nabeshima, Y. (1998). Identification of the Human Klotho Gene and Its Two Transcripts Encoding Membrane and Secreted Klotho Protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications, 242*(3), 626–630. https://doi.org/10.1006/bbrc.1997.8016

McClam, E., Figueroa, Z., & Cooper, A. (2023). Heavy metal exposure and self-reported infertility among U.S. women. *Archives of Public Health, 81*(1), 63. https://doi.org/10.1186/s13690-023-01163-7

Miglietta, S., Andreoli, C., & D'Errico, M. (2023). Environmental heavy metal exposure and female reproductive health: An updated systematic review. *Environmental Toxicology and Pharmacology, 104*, 103738. https://doi.org/10.1016/j.etap.2023.103738

Miglietta, S., Cristiano, L., Battaglione, E., Macchiarelli, G., Nottola, S. A., De Marco, M. P., … & Familiari, G. (2023). Heavy Metals in Follicular Fluid Affect the Ultrastructure of the Human Mature Cumulus-Oocyte Complex. *Cells, 12*(21), 2577. https://doi.org/10.3390/cells12212577

Nelson, S. M., et al. (2015). AMH as a marker of ovarian aging across populations. *Fertility Research and Practice*, 1(1), 1–10. https://doi.org/10.1186/s40738-015-0006-2

Neyra, J. A., & Hu, M. C. (2017). α-Klotho and chronic kidney disease. *Pediatric Nephrology, 32*(4), 615–628. https://doi.org/10.1007/s00467-016-3396-z

Obasi, C. N., Frazzoli, C., & Orisakwe, O. E. (2022). Heavy metals and metalloids exposure and in vitro fertilization: Critical concerns in human reproductive medicine. *Frontiers in Reproductive Health, 4*, 1037379. https://doi.org/10.3389/frph.2022.1037379

Obasi, C. N., Frazzoli, C., & Orisakwe, O. E. (2022). Heavy metals exposure and reproductive outcomes: Role of follicular fluid. *Environmental Science and Pollution Research, 29*, 7201–7214. https://doi.org/10.1007/s11356-021-16134-0

Poseidon Group (Patient-Oriented Strategies Encompassing IndividualizeD Oocyte Number). (2016). A new more detailed stratification of low responders to ovarian

stimulation: From a poor ovarian response to a low prognosis concept. *Fertility and Sterility, 105*(6), 1452–1453. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.02.005

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. (2020). Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss. *Fertility and Sterility*, 113(3), 533–535. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.11.025

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. (2020).Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. *Fertility and Sterility, 114*(6), 1151–1157. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.09.134

Prasad, A. S. (2014). Zinc is an antioxidant and anti-inflammatory agent: Its role in human health. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 28*(4), 364–371. https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2014.07.002

Revelli, A., Delle Piane, L., Casano, S., Molinari, E., Massobrio, M., & Rinaudo, P. (2009). Follicular fluid content and oocyte competence in IVF. *Reproductive BioMedicine Online, 18*(4), 469–481. https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60123-9

Revelli, A., Delle Piane, L., Casano, S., Molinari, E., Massobrio, M., & Rinaudo,P.(2009).Follicular fluid content and oocyte quality: From single biochemical markers to metabolomics. *Reproductive Biology and Endocrinology, 7*(1), 40. https://doi.org/10.1186/1477-7827-7-40

Rodríguez-Díaz, R., … (2023). The influence of follicular fluid metals on assisted reproduction outcome. *Biological Trace Element Research*. https://doi.org/10.1007/s12011-023-03779-2

Sezgin, H., & Hocaoglu, C. (2014). Psychiatric aspects of infertility. *Psikiyatride Guncel Yaklasimlar, 6*(3), 1–12.

Sharara, F. I., Scott, R. T., Jr, & Seifer, D. B. (1998). The detection of diminished ovarian reserve in infertile women. *American Journal of Obstetrics and Gynecology, 179*(3 Pt 1), 804–812. https://doi.org/10.1016/S0002-9378(98)70151-3

Sun, H., Gong, T. T., Jiang, Y. T., Zhang, S., Zhao, Y. H., & Wu, Q. J. (2019). Global trends of infertility prevalence from 1990 to 2019. *Reproductive Health, 16*(1), 1–12. https://doi.org/10.1186/s12978-019-0775-3

Takemura, T., & Okabe, M. (2016). Serum α-klotho concentrations during

preimplantation can predict aging or quality of human oocytes and clinical pregnancy rates. *SpringerPlus, 5*(1), 1–7. https://doi.org/10.1186/s40064-016-2626-8

Takemura, T., & Okabe, S. (2016). The role of Klotho in the female reproductive system. *Gynecological Endocrinology, 32*(9), 733–736. https://doi.org/10.3109/09513590.2016.1152230

Tal, R., Seifer, D. B., Arici, A., & Tal, O. (2015). Diminished ovarian reserve and poor response to ovarian stimulation: Definition, assessment, and predictivemarkers.*Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 27(3), 197–206. https://doi.org/10.1097/GCO.0000000000000176

Taha, Z., Hassan, A. A., & Ahmed, A. E. (2022). Environmental heavy metal exposure and female reproductive health: A comprehensive review. *Environmental Science and Pollution Research, 29*(5), 7064–7078. https://doi.org/10.1007/s11356-021-16032-0

Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2012). Heavy metal toxicity and the environment. *Experientia Supplementum, 101*, 133–164. https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6

te Velde, E. R., & Pearson, P. L. (2002).The variability of female reproductive ageing. *Human Reproduction Update, 8*(2),141–154. https://doi.org/10.1093/humupd/8.2.141

Titus, S., Li, F., Stobezki, R., Akula, K., Unsal, E., Jeong, K., Dickerson, E. H., Robson, M., Moy, F., Goswami, S., Oktay, K. (2013). Impaired DNA repair in ovarian aging. *Science Translational Medicine, 5*(172), 172ra21. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3004925

Tolunay, H., Gözükara, E. M., & Ünsal, A. (2016). Heavy metal concentrations in follicular fluid and their impact on assisted reproductive outcomes. *Turkish Journal of Medical Sciences, 46*(3), 634–640. https://doi.org/10.3906/sag-1505-73

Tolunay, H. E., Şükür, Y. E., Ozkavukcu, S., Seval, M. M., Ateş, C., Türksoy, V. A., … & Sönmezer, M. (2016). Heavy metal and trace element concentrations in blood and follicular fluid affect ART outcome. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 198*, 73–77. https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2015.11.010

Tremellen, K. (2020). Oxidative stress and poor IVF outcomes: Strategies to improve fertility. *Human Fertility, 23*(2), 89–95. https://doi.org/10.1080/14647273.2019.1585979

World Health Organization. (2023). *Infertility fact sheet*. WHO. https://doi.org/10.1038/s41591-023-02431-w

Wu, X., Zhang, Y., Liu, X., & Li, Y. (2022). Zinc homeostasis and female reproductive health. *Antioxidants, 11*(8), 1567. https://doi.org/10.3390/antiox11081567

Wu, H., Wang, H., Xu, C., & Liu, G. (2022). Role of trace elements in ovarian function and oocyte quality: Focus on zinc homeostasis. *Frontiers in Endocrinology, 13*, 891234. https://doi.org/10.3389/fendo.2022.891234

Xie, T., Ye, W., Liu, J., Zhou, L., & Song, Y. (2021). The Emerging Key Role of Klotho in the Hypothalamus-Pituitary-Ovarian Axis. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, *28*(2), 322–331.https://doi.org/10.1007/s43032-020-00277-5

Xu, X., Hao, Y., Zhong, Q., Hang, J., Zhao, Y., & Qiao, J. (2020). Low KLOTHO level related to aging is associated with diminished ovarian reserve. *Fertility and Sterility, 114*(6), 1250–1255. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.07.025

Xu, Y., Sun, Z., & Wang, X. (2020). The regulatory role of Klotho in aging and female reproductive health. *Frontiers in Endocrinology, 11*, 543–552. https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00543

Xu, Y., Wang, J., Li, L., Zhang, X., & Liu, Y. (2020).Serum klotho levels are associated with ovarian reserve and embryo quality in women undergoing in vitro fertilization. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 37*(6), 1341–1349. https://doi.org/10.1007/s10815-020-01768-1

Xu, X., Zhang, J., Huang, Q., Chen, Y., & Zhang, H. (2020). Heavy metals exposure and female reproductive health: A systematic review. *Environmental Pollution, 259*, 113878. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113878

Vigeh, M., Yokoyama, K., Ramezanzadeh, F., Dahaghin, M., Sakai, T., & Morita, Y. (2011). Lead and other trace metals in preeclampsia: A case–control study in Tehran, Iran. *Environmental Research, 111*(3), 412–417. https://doi.org/10.1016/j.envres.2011.01.009

Von Mengden, L., Klamt, F., Smitz, J. (2020). Redox Biology of Human Cumulus Cells: Basic Concepts, Impact on Oocyte Quality, and Potential Clinical Use. Antioxidants redox https://doi.org/10.1089/ars.2019.7984 signaling, 32(8), 522–535.

Yao, S., Lei, W., Xu, D., … (2023). Potential factors result in diminished ovarian

reserve. *Journal of Ovarian Research, 16*, 71. https://doi.org/10.1186/s13048-023-01296-x

Ye, W., Xia, S., Xie, T., Ye, H., Yang, Y., Sun, Y., … Song, Y. (2024). Klotho accelerates the progression of polycystic ovary syndrome. *Biology of Reproduction, 111*(3), 625–639. https://doi.org/10.1093/biolre/ioae094

Zhou, X., Yang, L., & Shi, Y. (2021). Genetic determination of the ovarian reserve: A literature review. *Journal of Ovarian Research, 14*(4). https://doi.org/10.1186/s13048-021-00850-9

Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., & Wang, T. (2021). Hexavalent chromium-induced reproductive toxicity: Mechanisms of oxidative stress, DNA damage, and follicular dysfunction. *Chemico-Biological Interactions, 337*, 109394. https://doi.org/10.1016/j.cbi.2021.109394

World Health Organization. (2023). *Preventing disease through healthy environments: Exposure to heavy metals*. https://www.who.int

# 7.EKLER

## EK-1 : Hasta Anket Formu

**HASTA ANKET FORMU**

**KİŞİSEL BİLGİLER**

| |
|---|
| **ADI -SOYADI:** |
| **YAŞ:** |
| **BOY (cm)/KİLO (kg):** |
| **Eğitim Bilgisi:** İlkokul ( ) Ortaokul ( ) Lise( ) Üniversite ( ) |
| **MESLEK:** |

**ANKET SORULARI**

**1.**İnfertilite nedeni kime ait?
( ) Kadın ( ) Erkek ( ) Her ikisine de ( ) Açıklanamayan

**2**.Kaç yıldır infertilsiniz:.....

**3.**Kaç yıldır infertilite tedavisi görüyorsunuz?.....

**4.**Herhangi bir sistemik hastalığınız ve kullandığınız ilaç var mı?

(Vasküler demans, kronik hipertansiyon, kronik böbrek hastalığı, karaciğer hastalığı, kardiyovasküler hastalık vb.) Eğer evet ise belirtiniz.

Evet ( ) Hayır ( )

…….

**5.**Herhangi bir kalıtsal genetik hastalığınız var mı? Eğer evet ise belirtiniz.

**…….**

**6.**Sigara kullanıyor musunuz? Kullanıyorsanız günde kaç tane içtiğinizi belirtiniz.

( ) Kullanmıyorum

( )1-10 tane

( ) 11-20 tane

( ) 20 ve üstü

**1**

**7.**Alkol kullanıyor musunuz?

Evet ( ) Hayır ( )

**8.**Sağlıklı ve düzenli beslenme alışkanlıklarınızın olduğunu düşünüyor musunuz?

Evet ( ) Hayır( )

**9.**Düzenli vitamin takviyesi alıyor musunuz? Eğer Evet ise hangi vitamini ne kadar sıklıkta olduğunu belirtiniz.

Evet ( ) Hayır ( )

…….

**10.**Günlük yaşamda ve çalışma ortamında herhangi bir kimyasala maruz kalıyor musunuz? Eğer evet ise maruziyeti belirtiniz**.**

Evet ( ) Hayır ( )

……

**11.**Aşağıda numaralandırılmış kişisel psikolojik stres ölçeğini belirtiniz.

( ) 1.Neredeyse hiç stres yok

( ) 2.Bazen stresli hissediyorum.

( ) 3.Sık Sık stresli hissediyorum

( ) 4.Her zaman stresli hissediyorum

**12.**Son birkaç ay içerisinde yaşam tarzı ve ortamınızı değiştirdiniz mi? Eğer evet ise değişiklikleri belirtiniz**.**

Evet ( ) Hayır ( )

……

**13.**Yardımcı Üreme Teknikleri (YÜT) ile infertilite tedavisi süresince kontrollü ovaryan hipersitimülasyon (KOH) için kullanılan ilaç ve/veya ilaçlarınızın adı kullanım süresini belirtiniz.

**……..**

**2**

**14.**Daha önce yumurtalık cerrahisi, kemoterapi, radyasyon tedavisi, pelvik inflamatuar hastalık (PID) yada güçlü aile öykü geçmişiniz var mı? Evet ise belirtiniz.

Evet ( ) Hayır ( )

……..

**15.**Beslenme alışkanlığınız ve tüketim sıklığınız konusunda uygun olan/olanları işaretleyiniz;

Tahıl ve tahıl ürünleri(buğday, mısır, pirinç vb):

☐ Her gün ☐ Haftada 3-4 defa ☐ Haftada 1 defa ☐ Ayda 1 defa

Meyve-sebze (lahana, bezelye, bakla vb):

☐ Her gün ☐ Haftada 3-4 defa ☐ Haftada 1 defa ☐ Ayda 1 defa

Et Ürünleri (Kırmızı et, tavuk eti, balık):

☐ Her gün ☐ Haftada 3-4 defa ☐ Haftada 1 defa ☐ Ayda 1 defa

Süt Ürünleri (Süt, peynir ) :

☐ Her gün ☐ Haftada 3-4 defa ☐ Haftada 1 defa ☐ Ayda 1 defa

Çay ve kahve :

☐ Her gün ☐ Haftada 3-4 defa ☐ Haftada 1 defa ☐ Ayda 1 defa

**16.** Organik beslenmeye dikkat eder misiniz?

☐ Evet ☐ Hayır ☐ Bazen

**17.** Hazır gıda/paketli ürün tüketir misiniz?

☐ Evet ☐ Hayır ☐ Bazen

**18.** Ne kadar sıklıkla dışardan yemek yersiniz?

☐ Haftada 1 ☐ Haftada 2 ☐ Haftada 3 ☐ Daha fazla

**19.** Kozmetik ürünler kullanıyor musunuz?

☐ Evet ☐ Hayır ☐ Bazen

**20.** Hangi ürünleri kullanıyorsunuz?.....

**3**