



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**YAPAY OLARAK HAZIRLANMIŞ DONMUŞ EMBRİYO TRANSFER (FET)
SİKLUKLARINDA LUTEAL FAZ DESTEĞİNDE FARKLI PROGESTERON
UYGULAMALARININ ETKİNLİĞİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Tuğba AKKÖK

UZMANLIK TEZİ

Bursa-2023



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**YAPAY OLARAK HAZIRLANMIŞ DONMUŞ EMBRİYO TRANSFER (FET)
SİKLUSLARINDA LUTEAL FAZ DESTEĞİNDE FARKLI PROGESTERON
UYGULAMALARININ ETKİNLİĞİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Tuğba AKKÖK

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Doç. Dr. Işıl KASAPOĞLU

Bursa-2023

İÇİNDEKİLER

Tablolar	iv
Şekiller	v
Kısaltmalar	vi
Özet	vii
İngilizce Özet.....	ix
Giriş.....	11
I. Menstrüel Siklus Fizyolojisi.....	12
II. İnfertilite	16
III. In Vitro Fertilizasyon (IVF)	18
IV. Luteal Faz Yetmezliği.....	25
V. Luteal Faz Desteği.....	26
VI. Luteal Faz Desteğinde Kullanılan İlaçlar	29
Gereç ve Yöntem	33
I. Etik Kurul Onamı.....	33
II. Çalışmanın Amacı.....	33
III. Hasta Seçimi ve Yöntem.....	33
IV. Teknik Bilgiler.....	34
V. İstatistiksel Analiz	35
Bulgular	36
Tartışma ve Sonuç.....	50
Kaynaklar	58
Teşekkür.....	72
Özgeçmiş	73

TABLolar

Tablo- 1: Protokol gruplarına göre serum β -hCG pozitifliklerinin(biyokimyasal gebelik), klinik gebelik ve canlı doğum sonuçlarının karşılaştırması	36
Tablo- 2: Yaş, BKI ve infertilite süresinin protokol gruplarına göre karşılaştırılması.....	38
Tablo- 3: Protokol gruplarına göre göre FSH, LH, E2, AMH, AFC karşılaştırması.....	39
Tablo- 4: Protokol gruplarına göre luteal faz destek başlangıç günü serum progesteron ve endometrium kalınlıklarının karşılaştırması.....	40
Tablo- 5: Serum progesteron ve endometrium kalınlık ölçümlerinin protokol gruplarına göre , luteal faz destek başlangıç günü, embriyo transfer günü ve transferden 7 gün sonrasındaki ölçümlerinin karşılaştırılması	42
Tablo- 6: Serum progesteron ve endometrium kalınlıklarının yüzde değişimlerinin protokol gruplarına göre karşılaştırılması	43
Tablo- 7: Serum β -hCG pozitif ve serum β -hCG negatif grupları arasında luteal destek başlangıç günü ölçülen serum progesteron ve endometrium kalınlıklarının protokol bazında karşılaştırılması	45
Tablo- 8: Protokoller bazında serum β -hCG pozitifliğine göre serum progesteron ve endometrium kalınlıklarının luteal faz desteği başlangıç günü, embriyo transfer günü ve embriyo transferinden sonraki 7. gün değerlerinin karşılaştırılması.....	47
Tablo- 9: Serum progesteron ve endometrium kalınlıklarının yüzde değişimlerinin protokol grupları bazında serum β -hCG pozitif ve negatif gruplar arasında karşılaştırılması	48

ŞEKİLLER

Şekil- 1: Menstrüel siklus fizyolojisi: Hormonal, ovaryan ve endometrial değişiklikler (17).....	13
Şekil- 2: FET protokolleri (88)	28
Şekil- 3: Protokol gruplarına göre serum β -hCG pozitifliği(biyokimyasal gebelik), klinik gebelik, canlı doğum ve IVF nedeni dağılım grafikleri	37
Şekil- 4: Protokol gruplarına göre yaş, BKİ ve infertilite süresi ortalamalarının grafiği	38
Şekil- 5: Protokol gruplarına göre FSH, LH, E2, AMH ve AFC ortalamalarının grafiği	40
Şekil- 6: Protokol gruplarına göre luteal faz destek başlama günü ölçülen serum progesteron ve endometrial kalınlıklarının ortalamaları	41
Şekil- 7: Serum progesteron ve endometrium kalınlık değerlerinin protokol gruplarına göre luteal destek başlangıç günü,embriyo transfer günü ve embriyo transferinden 7 gün sonrası medyanlarının karşılaştırılması	43
Şekil- 8: Protokol gruplarına göre serum progesteron ve endometrium kalınlıklarının % değişimi	44
Şekil- 9: Serum β -hCG pozitif ve β -hCG negatif grupları arasında luteal destek başlangıç günü ölçülen progesteron ve endometrium kalınlıklarının değerlerinin protokol gruplarında karşılaştırılması	45
Şekil- 10: ROC analizi.....	49

KISALTMALAR

AFC	: Antral Folikül Sayısı
AMH	: Anti Müllerian Hormon
B	: Luteal Faz Desteği Başlangıç Günü
BKI	: Beden Kitle İndeksi
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
E2	: Östradiol
EM	: Endometrium
ET	: Embriyo Transferi
FET	: Donmuş Embriyo Transferi
FSH	: Folikül Stimulan Hormon
GnRH	: Gonadotropin-Releasing Hormon
hCG	: İnsan Koryonik Gonadotropin
HSG	: Histerosalpingografi
ICSI	: İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu
IVF	: İn Vitro Fertilizasyon
LH	: Luteinizan Hormon
LPD	: Luteal Faz Defektleri
LPS	: Luteal Faz Desteği
MG	: Miligram
ML	: Mililitre
NG	: Nanogram
PID	: Pelvik İnflamatuvar Hastalık
PRG	: Progesteron
T	: Embriyo Transfer Günü
T+7	: Embriyo Transferden 7 Gün Sonra
YÜT	: Yardımcı Üreme Teknikleri

ÖZET

YAPAY OLARAK HAZIRLANMIŞ DONMUŞ EMBRİYO TRANSFER (FET) SIKLUSLARINDA LUTEAL FAZ DESTEĞİNDE FARKLI PROGESTERON UYGULAMALARININ ETKİNLİĞİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Giriş ve Amaç: Günümüzde, infertil çiftlerin yardımcı üreme tedavi seçeneklerinden biri de in vitro fertilizasyon (IVF) tedavisidir. IVF tedavisi taze siklus (FRESH) ve donmuş embriyo transfer (FET) siklusu şeklinde yapılmaktadır. Özellikle FET sikluslarında, gebeliğin devamı için luteal faz desteğinin progesteron kullanımı yoluyla sağlanması gerekmektedir. Progesteronun farklı uygulama yolları vardır. Bu çalışmada, yapay olarak hazırlanmış donmuş embriyo transfer sikluslarında kullanılan farklı progesteron uygulama yöntemleri arasında bir karşılaştırma yapılması amaçlanmaktadır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinin Tüp Bebek Merkezinde Haziran 2022 ile Aralık 2022 arasında IVF gerçekleştirilen, 237 infertil kadının dahil edildiği randomize kontrollü ve prospektif bir çalışmadır. FET prosedürü uygulanan hastalar, luteal faz progesteron rejimine göre randomize edilerek üç gruba ayrılmıştır. Grup 1 (artan dozlarda vajinal progesteron; 400mg-600mg-800 mg), Grup 2 (devamlı 600 mg vajinal) ve Grup 3 (600 mg vajinal progesterona embriyo transfer günü 25 mg subkutan progesteron eklenen). Serum progesteron düzeyleri ve endometrium kalınlıkları progesteron uygulamasına başlama günü, embriyo transferi günü ve gebelik testi yapılacak günlerde ölçülmüştür. Bu değerler ile biyokimyasal gebelik, klinik gebelik ve canlı doğum sonuçları karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Toplam 237 hastanın dahil edildiği bu çalışmada, Grup 1'de yer alan 67 hastanın medyan serum progesteron düzeyleri diğer gruplardan önemli ölçüde yüksekti [Sırasıyla; 12.9 ng/ml (6.6-24.5), 10.5 ng/ml (0.20-25.9), 9.8 ng/ml (3-25.5), $p<0.01$]. Canlı doğum oranları (CDO) ise gruplar arasında benzerdi (Sırasıyla; %37, %34.8, %28.3, $p=0.345$). ROC analizi, embriyo transfer günündeki progesteron düzeyi ile canlı doğum oranı arasında

anlamalı bir ilişki olduğunu gösterdi (Eğri altındaki alan: 0.65, p=0.004) ve canlı doğumu tahmin etmek için progesteron eşđi 10.65 ng/ml olarak belirlendi (%71 duyarlılık ve %51 özgüllük).

Sonuç: Düşük serum progesteron seviyeleri (<10 ng/ml), vajinal progesteron ile luteal faz desteği (LPS) uygulanan FET sikluslarında azalmış canlı doğum oranları ile ilişkilidir. Bununla birlikte, FET sikluslarında farklı progesteron uygulama yolları luteal faz desteği protokolleri ile serum progesteron seviyeleri arasındaki ilişki konusunda belirsizlik vardır. Embriyo transferi gününde serum progesteron seviyesi 10,65 ng/ml'den yüksek olanlar, progesteron rejiminden bağımsız olarak daha yüksek canlı doğum oranları ile ilişkilidir.

Anahtar kelimeler: Yardımcı üreme teknolojisi, donmuş embriyo transferi, progesteron, vitrifikasyon

SUMMARY

COMPARISON OF DIFFERENT PROGESTERONE APPLICATIONS IN LUTEAL PHASE SUPPORT IN ARTIFICIALLY PREPARED FROZEN EMBRIO TRANSFER (FET) CYCLES

Introduction and Aim: In vitro fertilization (IVF) is one of the assisted reproductive technologies available for infertile couples. In IVF, fertilization occurs in a laboratory setting, where sperm and eggs are brought together to form an embryo, which is then transferred to the uterus in an attempt to establish a pregnancy. However, there is still debate regarding the appropriate use of progesterone support for this process. Specifically, in cycles where frozen embryos are being transferred, luteal phase support must be provided through the use of progesterone. Choosing between different methods of progesterone administration to provide luteal phase support can affect treatment success and pregnancy rates. Therefore, comparing the effectiveness of different progesterone administration methods in frozen embryo transfer cycles is an important research topic. The objective of this study is to compare different progesterone administration methods used in artificially prepared frozen embryo transfer cycles.

Materials and Methods: A randomized prospective study including 237 infertile women was performed between June 2022 and December 2022 in the IVF center of a tertiary university hospital. Patients who underwent HRT-FET (single – blastocyst) were randomized into three groups depending on the luteal phase progesterone regimen; Group 1 (incrementally increased vaginal progesterone doses; 400mg-600mg-800 mg), Group 2 (600 mg vaginal) and Group 3 (on the day of ET subcutaneous progesterone 25 mg added to 600 mg vaginal). Serum progesterone levels were measured on the day of starting progesterone administration, on the day of embryo transfer and on the day of pregnancy testing.

Results: A total of 237 patients were included (67 in Group1, 95 in Group2, 75 in Group3). The median serum progesterone levels on the day of

ET in Group 1 were significantly higher than the other groups [Respectively ; 12.9 ng/ml (6.6-24.5), 10.5 ng/ml (0.20-25.9), 9.8 ng/ml (3-25.5), $p < 0.01$]. Live birth rates (LBR) were similar between the groups (Respectively; 37%, 34.8%, 28.3%, $p = 0.345$). The ROC analysis showed a significant correlation between progesterone level on ET day and LBRs (Area under curve: 0.65, $p = 0.004$) and a threshold of progesterone to predict the LB was found at 10.65 ng/ml (71% sensitivity and 51% specificity).

Conclusion: Lower serum progesterone levels (< 10 ng/ml) were associated with reduced live birth rates and higher miscarriage in FET cycles LPS with vaginal progesterone. However, there is uncertainty about the association between serum progesterone levels and different routes of progesterone administration luteal phase support protocols in HRT-FET cycles. A serum progesterone level on the day of embryo transfer greater than 10.65 ng/ml is related to higher live birth rates, regardless of the progesterone regimen.

Keywords: Assisted reproductive technology, frozen embryo transfer, progesterone, vitrification

GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, korunmasız ve düzenli ilişkiye rağmen bir yıl ve üzerinde gebelik elde edilememesi infertilite olarak tanımlanmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 2023 yılında yayımlanan rapora göre infertilite prevalansı %17.5'tir (1). Evli çiftlerin çoğunluğu için gebe kalma yolu yardımcı üreme teknikleri olup, infertilite hastalarının %15'i bu tekniklere başvurmaktadır. (2). Doğal yollardan veya in-utero inseminasyon ile gebelik elde edemeyen çiftler ya da bu yöntemlere uygun olmayan infertil hastalar için in-vitro fertilizasyon (IVF) ideal tedavi yöntemidir (3).

Luteal faz defektleri (LPD) uyarılmış in vitro fertilizasyon (IVF) sikluslarında sık karşılaşılan bir sorundur. LPD'lerin ana nedenleri arasında yüksek serum steroid konsantrasyonları, luteinizan hormon (LH) salınımının engellenmesi, erken luteoliz ve yetersiz progesteron sentezi yer almaktadır (4). Bu nedenle, IVF uygulanan kadınlara eksojen progesteron sağlamak esastır (5).

Progesteron oral, vajinal, intramusküler veya subkutan olarak uygulanabilir ve her yolun belirli avantajları ve dezavantajları vardır. Oral uygulama yolunun intramusküler ve vajinal yollara kıyasla daha az etkili olduğuna dair yeterli veri bulunamamıştır.(6). Çeşitli yağ bazlı progesteron formülasyonlarının kas içi enjeksiyonları ağrılıdır, önemli cilt iltihabına ve bazen steril apse oluşumuna yol açabilir (7).

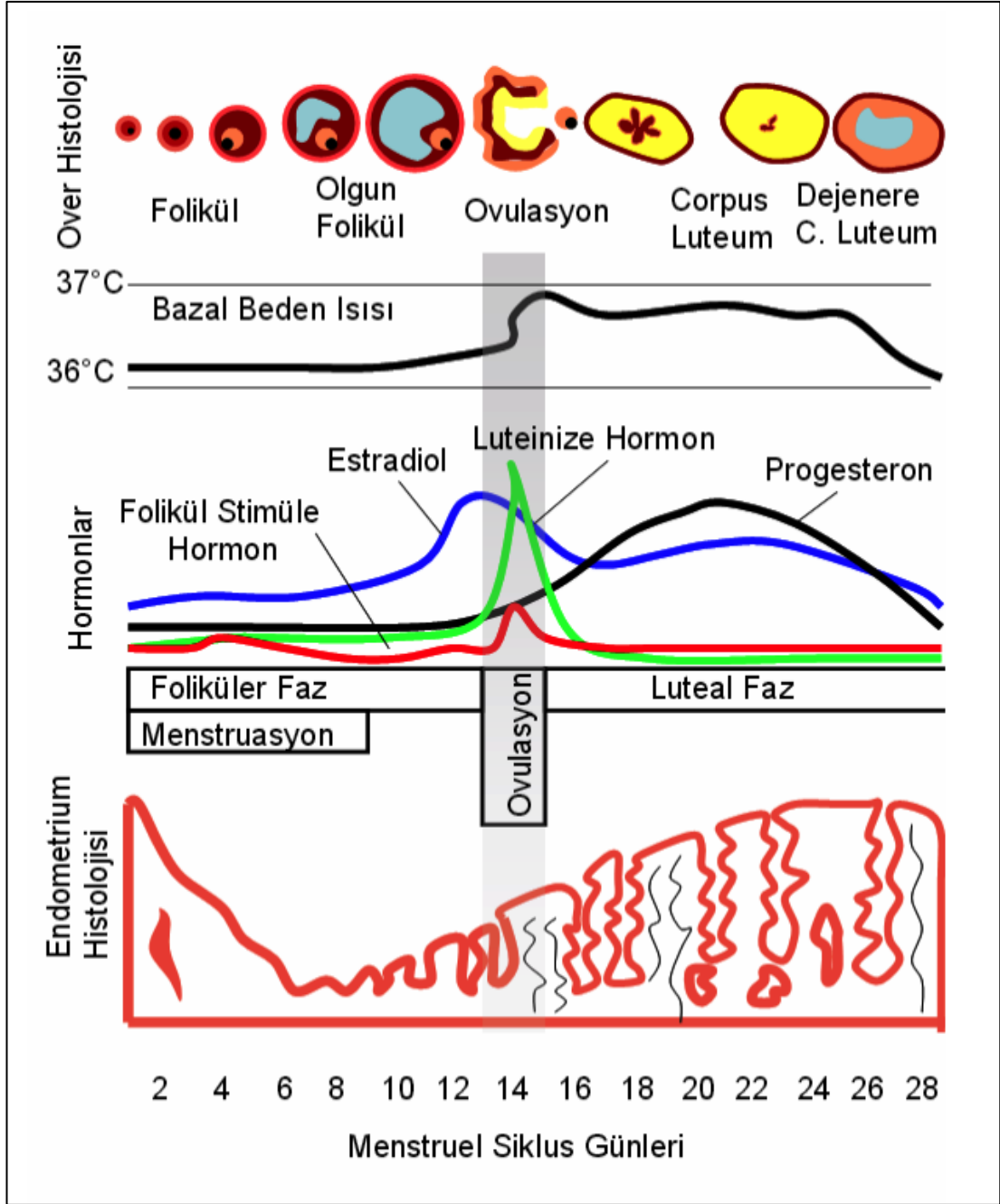
Subkutan progesteron enjeksiyonu, 2014 yılında günlük 25 mg dozunda suda çözünür bir bileşik olarak piyasaya sürülmüştür (8). Klinik çalışmalar, endojen progesteron yokluğunda bile günlük 25 mg subkutan progesteron dozunun endometriyal reseptiviteye ulaşmak için yeterli olduğunu ortaya koymuştur (9). Hastaların görüşleri üzerine yapılan prospektif bir çalışma, subkutan progesteron enjeksiyonu uygulanan hastalarda, vajinal yolla progesteron uygulananlara göre daha yüksek düzeyde memnuniyet olduğunu göstermiştir (10). Vajinal progesteron uygulaması dünya genelindeki IVF merkezlerinin çoğunda yaygın olarak kullanılsa da, makul sayıda hasta enjeksiyonu tercih etmektedir (11, 12, 13). Subkutan progesteron, 2013 yılında

Avrupa ve ABD’de yapılan iki büyük, randomize, kontrollü faz III çalışmasına dayanarak incelenmiş ve onaylanmıştır; subkutan progesteron enjeksiyonları ile tedavi edilen IVF hastalarının vajinal jel veya tablet kullanan hastalarla benzer gebelik oranları sergilediği tespit edilmiştir (7, 14, 15).

Bu çalışmada yapay olarak hazırlanmış donmuş embriyo transfer sikluslarında farklı progesteron uygulama şekilleri ile uygulanan luteal faz desteği sırasında, transfer günü bakılan serum progesteron düzeyleri, endometrial kompaksiyon ve bunların siklus başarı sonuçlarına etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

I. Menstrüel Siklus Fizyolojisi

Normal menstrüel döngü, çeşitli uyarıcı ve inhibe edici faktörler tarafından sıkı bir şekilde düzenlenen ve yüz binlerce oosit havuzundan birinin olgunlaşarak salınmasını sağlayan bir döngüdür. Bu döngü, hipotalamus, hipofiz ve gonadal organlar arasında otokrin ve parakrin mekanizmalarla kontrol edilir. Menstrüel döngünün fizyolojisi ve biyokimyasal parametreleri hala tam olarak anlaşılmaya çalışılan bir alandır. Menstrüel döngünün ilk günü, adet kanamasının başladığı gün olarak kabul edilir ve sonrasında ilk 14-21 gün foliküler faz, ikinci 14 gün ise luteal faz olarak adlandırılır. Bu döngü genellikle 28-35 gün arasında değerlendirilir. (Şekil1) (16).



Şekil- 1: Menstrüel siklus fizyolojisi: Hormonal, ovaryan ve endometrial değişiklikler (17).

I.I. Erken Foliküler Faz

Erken foliküler faz, yumurtalıkların en az aktif olduğu dönemdir ve düşük serum östrojen ve progesteron düzeylerine sahiptir. Bu dönemde gonadotropin releasing hormon (GnRH) salınımının pulsatilitesi, östrojen, progesteron ve İnhibin A'nın negatif geri bildirim etkisiyle artar ve folikül

stimülan hormon (FSH) düzeyinde küçük bir artış meydana gelir. Bu artış, dominant folikülün seçimi için önemlidir. Ayrıca, henüz seçilime uğramamış ve dominant folikül haline gelmemiş foliküllerden salgılanan İnhibin B, bu dönemde maksimum seviyededir ve FSH'nın baskılanmasına katkıda bulunur. Bu dönemde luteinizan hormon (LH) salınım sıklığı da geç luteal fazdakine kıyasla belirgin bir artış gösterir. (18, 19)

Anti-müllerian hormon (AMH), küçük antral foliküller tarafından salgılanır ve kadınlarda over rezervinin göstergelerinden biri olarak kabul edilir. Menstrüel döngü boyunca, bu hormondaki değişimin minimal olduğu düşünülmektedir. Erken foliküler faz sırasında ultrasonografik incelemede, önceki döngünün luteal fazından kalan korpus luteum dışında overlerin sessiz olduğu ve endometriumun adet sırasında belirsizleştiği, adet sonrasında ise ince bir çizgi halini aldığı görülebilir (20).

I.II. Midfoliküler Faz

Midfoliküler fazda ise seçilmiş olan folikül kohortunun belirlenmesi ve büyümesi etkili olan faktörler mevcuttur. Bu dönemde FSH'da meydana gelen küçük artış folikülogenez ve östradiol üretimi sağlar. Granüloza hücreleri hipertrofiye uğrar ve İnhibin A salgılamaya başlar. Ayrıca, FSH'ın etkisiyle aromataz uyarılır ve estradiol düzeyleri artar. Bu dönemde estradiol düzeylerindeki artış, hipotalamus ve hipofize negatif geri bildirim mekanizmasını tetikler ve FSH ve LH düzeylerinde ve LH pulsatilitesinde azalmaya neden olur. Bunun sonucunda, GnRH pulsatilitesi artarak saatte bir atıma geçer. Ultrasonografik olarak, adet döngüsünün yaklaşık 7. gününde overlerde birkaç adet 9-10 mm boyutlarında antral folikül gözlemlenebilir. Ayrıca, artan östrojen düzeyi ile birlikte endometriumda trilaminer görüntü ortaya çıkar. (21)

I.III. Geç Foliküler Faz

Geç foliküler fazda büyüyen folikülden östradiol ve İnhibin A salınımı artar, bu da FSH ve LH düzeylerinde azalmaya yol açar. Dominant folikül seçildikten sonra FSH, overde LH reseptörünü indükler ve intrauterin büyüme faktörleri gibi ovaryan salgılanma faktörlerinin salınımı artar. Ultrasonografik incelemede, dominant folikülün 20-26 mm'ye kadar büyüdüğü ve diğer

foliküllerin atreziye uğradığı görülür. Ayrıca, serum östradiol düzeyindeki artış ile birlikte endometriumun kalınlaştığı izlenir (22).

I.IV. Luteal Faz: Midsiklus Dalgalanması ve Ovulasyon

Luteal faz, midsiklus dalgalanması ve ovulasyonu içerir. Ovulasyondan bir gün öncesine kadar serum estradiol düzeyleri artmaya devam eder. Ardından, midsiklus dalgalanması olarak adlandırılan bir fenomen gerçekleşir. Bu durumda, ovaryan hormonlar tarafından sağlanan östrojen ve progesteron gibi hormonların LH üzerindeki negatif geri bildirim etkisi ani bir şekilde pozitif geri bildirim etkisine dönüşür ve serum LH düzeylerinde yaklaşık 10 kat artışa neden olur. LH salınımı saatte bir sıklıkla devam ederken, amplitüd belirgin bir şekilde artar. LH artışı ile birlikte dominant foliküldeki oosit, ilk mayotik bölünmesini tamamlar ve ovulasyon için gerekli olan sitokinlerin salınımı artar. LH pikinden yaklaşık 36 saat sonra ovulasyon gerçekleşir. Bu mekanizma sayesinde ovulasyonun gerçekleşip gerçekleşmediği, LH seviyeleri ile değerlendirilebilir. Ovulasyon öncesinde, oositin çevresindeki granüloza hücrelerinden progesteron salınımı başlar. Bu progesteron artışı, endometrial hücrelerde mitozun durmasına ve glandların organizasyonuna neden olur. Ovulasyondan kısa bir süre sonra, endometriumdaki trilaminer görüntü kaybolur ve daha parlak ve belirgin bir görünüm alır. (21, 22)

I.V. Orta ve Geç Luteal Faz

Orta ve geç luteal fazda, korpus luteumdan salgılanan progesteronun etkisiyle LH salınımının frekansı düşer. Aynı zamanda korpus luteum İnhibin A üretir ve İnhibin A düzeyleri midluteal dönemde pik noktaya ulaşır. Oositin döllemesi gerçekleşmezse LH salınımındaki azalma ile birlikte korpus luteumdan östradiol ve progesteron salınımı azalır. Ancak, dölleme gerçekleşirse, endometriuma implante olan embriyo korpus luteumdan progesteron salınımını destekleyen koryonik gonadotropin oluşturur. Azalan estradiol ve progesteron düzeyleri ile birlikte endometriuma olan kan akımı azalır ve LH pikinden yaklaşık 14 gün sonra menstrüel kanamanın başlamasına neden olur. Korpus luteumdan salgılanan steroid miktarındaki düşüş, hipotalamus ve hipofiz üzerindeki negatif geri bildirim etkisini ortadan

kaldırır ve FSH düzeylerinde artışa neden olarak bir sonraki döngünün başlamasına yol açar (23, 24).

II. İnfertilite

İnfertilite, tek bir bireyi değil bir çifti ilgilendiren benzersiz bir medikal durumdur. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre korunmasız ve düzenli ilişkiye rağmen bir yıl ve üzeri bir sürede gebelik elde edilememesi ile sonuçlanan üreme sistemi hastalığı klinik infertilite olarak açıklanmaktadır (25). Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (American Society of Reproductive Medicine, ASRM) ise infertilite sınırını kadın yaşına göre iki farklı gruba ayırarak çizmiştir: 35 yaş altında bir yıl olarak kabul edilen süre, 35 yaş ve üzerinde daha erken tanı ve tedavi olanağı sağlayabilmek adına çiftin medikal öyküsü ve fizik muayene bulguları da göz önünde bulundurularak altı ay sınırına çekilmiştir (26). Üreme çağındaki çiftlerin yaklaşık %15'i infertilite problemi ile karşılaşmakta, bu çiftlerin %55 kadarı da yardımcı üreme tekniklerine başvurmaktadır (27). Türkiye Üreme Sağlığı ve İnfertilite Derneği'nin açıklamış olduğu 2009 yılı verilerine göre ülkemizde yaklaşık 110 üremeye yardımcı teknikler merkezi bulunmakta, bir yılda ise yaklaşık 5000 tedavi siklusunun gerçekleştiği düşünülmektedir (28).

Normal fertilité için sınırların belirlenmesi kolay olmamıştır ve hangi aşamada müdahale edilmesi gerektiği tartışma konusu olmaya devam etmektedir. Çalışmalar, sağlıklı çiftlerin %80-90 kadarının korunmasız düzenli cinsel ilişki ile bir yıl içerisinde gebelik elde edebildiğini, %5-15 kadarının ise gebe kalınmaya çalışılan ikinci 12 ayda hamile kalabildiğini ve hiçbir patolojiye sahip olmadığını göstermektedir. Aynı çalışmalarda vurgulanan en önemli faktör ise doğurganlığın zamanla ve kadın partnerin yaşının artışı ile birlikte azaldığıdır (29). Böylelikle iki yıl içerisinde sağlıklı çiftlerin %95'inin gebelik elde edebildiği ortaya konmuştur (30, 31). Genel olarak kabul gören yaklaşım, kadın partner yaşı 30'un altında, infertilite süresi 2 yıldan az, açıklanabilir herhangi bir faktörü bulunmayan çiftlerin (endometriozis, tubal faktör, düşük over rezervi, erkek faktör gibi) tedavi uygulanmaksızın basit konvansiyonel yöntemler ile takibinin daha iyi prognoza sahip olduğu yönündedir. Çiftin hiç

gebelik elde edememesi durumu primer infertilite olarak adlandırılırken, herhangi bir şekilde sonuçlanmış bir ve/veya birden fazla gebeliği takiben belirtilen sürelerde tekrarlayan bir gebelik elde edilememesi ise sekonder infertilite olarak tanımlanmaktadır (32).

II.I. İnfertilite Nedenleri

İnfertilite, over rezervinin azalması, erkek faktör, ovulatuvar faktör, tubal faktör, pelvik faktör, uterin faktör ve açıklanamayan nedenler gibi ana sebeplere dayanmaktadır. İnfertilite vakalarının yaklaşık %30-40'ı erkek faktöre, %30-40'ı kadın faktöre ve %10-15'i multifaktöryel faktörlere bağlıdır. %10-15'lik bir kesimde ise infertilite için bir neden tespit edilememiş ve bunlar açıklanamayan infertilite olarak adlandırılmaktadır. İnfertilite nedenlerinin insidansı, yaşa ve infertilite süresine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Genç hastalarda ovulasyon bozukluğu daha yaygınken, erkek faktörü ve açıklanamayan infertilite daha yaşlı çiftlerde daha sık görülmektedir (33, 34).

İnfertilite, kadının yaşı, infertilite süresi, önceki gebelik öyküsü gibi faktörlere bağlı olarak farklılık gösterir. Tedavisiz canlı doğum olasılığı, yaşın ve infertilite süresinin artmasıyla azalır (35, 36). Tedavisiz gebe kalma olasılığı, kadının her bir yaşında %5 azalmaktadır (37).

En iyi prognoza sahip hastalar, anovulasyon ve açıklanamayan infertilite grubundaki hastalardır. Sekonder infertilite vakaları, primer infertilite vakalarına göre daha iyi bir prognoza sahiptir. Bir yıldan uzun süre düzenli korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebe kalamayan tüm hastaların değerlendirilmesi önerilmektedir. Bununla birlikte, pelvik enfeksiyon, endometriozis, geçirilmiş pelvik cerrahi, bilinen semen kalitesi yetersizliği gibi ek risk faktörleri olan hastalarda bir yıl beklenmeden değerlendirme yapılmalıdır (38).

II.II. Yardımla Üreme Teknikleri

İnfertil çiftlerin tedavi sürecinde kullanılan yöntemler arasında ovulasyon indüksiyonu, intrauterin inseminasyon ve in vitro fertilizasyon bulunmaktadır. Seçilecek tedavi kararı, kadının yaşı, infertilite sebebi, over rezervi, infertilite süresi gibi birçok faktöre bağlı olarak değişebilir. Tedavi seçimi, tedaviye ulaşılabilirlik, etkinlik, maliyet, güvenilirlik ve riskler gibi önemli

faktörlerden etkilenecektir. İnfertilite tedavisinde, tubal ve pelvik patoloji %35, ovulasyon disfonksiyonu %15, açıklanamayan infertilite %10, nadir sorunlar %5 ve erkek faktörü %35 oranında görülebilmektedir. Tedaviye başlamadan önce, semen analizi, ovulasyonun değerlendirilmesi ve tubal açıklığın gösterilmesi gibi temel parametrelerin değerlendirilmesi gerekmektedir (39).

III.İn Vitro Fertilizasyon (IVF)

İn vitro fertilizasyon (IVF), diğer adıyla tüp bebek yöntemi, yardımcı üreme tekniklerinin (YÜT) en yaygın olarak kullanılan yöntemidir. "In vitro" terimi, oositlerin canlı organizma dışında bir laboratuvar ortamında seçilen sperm ile döllendiği ve ardından embriyoların uterusu gebeliğe dönüştüğü anlamını taşır (40).

IVF prosedürü, olgunlaşmış oositlerin uyarılmış overlerden sonografi eşliğinde transvajinal olarak toplanmasıyla başlar. Daha sonra, laboratuvar ortamında sperm ve oositler in vitro olarak birleştirilerek fertilizasyon sağlanır. Başarı elde edildiğinde, canlı embriyolar transservikal yolla endometriyal kaviteye transfer edilir (41).

Yardımcı üreme teknikleri, infertil çiftlerde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır ve IVF bu teknikler arasında en sık tercih edilen yöntemdir (42). IVF, endometriozis, ovulasyon disfonksiyonu, tubal faktörler, luteal defektler, immunolojik nedenler, erkek faktörü ve açıklanamayan nedenlere bağlı infertilite tedavilerinde kullanılmaktadır (43). IVF, oositlerin alınması ve fertilizasyonun laboratuvar ortamında gerçekleştirilmesi sayesinde birçok infertil kadına çocuk sahibi olma fırsatı sunmaktadır (44).

IVF, dünya genelinde milyonlarca doğumu mümkün kılmış olup ABD ve Avrupa'da tüm doğumların %1-3'ünü oluşturmaktadır. Başarı oranı annenin yaşına bağlı olarak değişmektedir. Genellikle 35 yaşından genç kadınların %30'u ilk denemede gebelik elde edebilirken, 35-37 yaş arasında bu oran %25'e, 38-40 yaş arasında %17'ye ve 40 yaşın üstünde %5'e düşmektedir (45).

IVF yöntemi, başlangıçta tubal faktöre sahip olan kadınlarda kullanılırken, artık endometriozis, erkek faktörü ve açıklanamayan infertilite

gibi çeşitli nedenlere bağlı infertilite tedavilerinde yaygın olarak uygulanmaktadır. Ayrıca, over yetmezliği veya yaşa bağlı olarak oosit sayısının azalması durumunda, donör oosit kullanılarak IVF ile başarılı gebelikler elde edilebilmektedir (46).

İlk insan IVF deneyimi 1973'te gerçekleştirilmiş, ancak elde edilen embriyo implante olmamıştır. İnsanlar üzerinde başarılı ilk IVF deneyimi ise 1978'de Steptoe ve Edwards tarafından gerçekleştirilmiştir (47). Bugüne kadar, IVF yöntemiyle dünya genelinde yaklaşık sekiz milyon bebeğin dünyaya geldiği tahmin edilmektedir (48). Türkiye'de ise IVF yöntemiyle elde edilen ilk bebek 1989'da dünyaya gelmiştir (49).

III.I. IVF Endikasyonları

IVF kararı verilmeden önce, çiftlerin infertilite açısından kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi ve infertilite sebebinin belirlenmesi gerekmektedir. Kadınlarda tubal yapısal veya fonksiyonel bozukluklar, önemli IVF endikasyonlarından biridir. Ovaryan rezervi azalmış olanlar, ağır pelvik yapışıklığı olan endometriozis hastaları ve infertilite sebebi bilinmeyen hastalar da IVF tedavisi için uygun adaylardır. Infertil kadınların yaklaşık %25 ila %35'i tuboperitoneal hastalığa sahip olduğu bildirilmiştir ve pelvik inflamatuvar hastalık (PID), tubal hasarın en yaygın nedenidir. PID genellikle Chlamydia trachomatis enfeksiyonları sonucunda ortaya çıkar. Bakteriyel enfeksiyonlar tubal tıkanıklığa veya in vivo fertilizasyon olasılığını azaltan peritübüler adezyonlara yol açabilir. IVF, embriyoların doğrudan uterusu transfer edilmesiyle tubal hasarın fertilité üzerindeki olumsuz etkilerini atlatabilir (50, 51).

Endometriozis, uterusun kavitenin dışında endometrial dokunun bulunduğu ve kronik inflamatuvar bir hastalık olarak tanımlanır. Endometriozis, infertiliteye sahip kadınlarda olmayanlara göre anlamlı olarak daha yaygındır. Endometriozisin infertiliteye etki mekanizmaları tam olarak anlaşılamamış olsa da, araştırmalar endometriozisli kadınlarda pelvik yapışıklıklar, kronik intraperitoneal inflamasyon, bozulmuş folikülogenez ve azalmış embriyo implantasyonunun rol oynadığını göstermektedir. Ne yazık ki, endometriozisli kadınlar, diğer infertilite nedenlerine kıyasla IVF ile önemli ölçüde daha düşük

başarı oranlarına sahiptir ve hastalığın şiddeti IVF başarı oranlarıyla ters orantılıdır. Kötü sperm kalitesi, çiftlerin %20'sinde infertilite nedenidir. Azalan sperm sayısı, hareketlilik veya morfoloji (sperm şekli) gibi sorunlar, erkeklerin yaklaşık %50'sinde tıbbi veya cerrahi tedavilerle başarılı bir şekilde düzeltilebilir. İUI, erkek partnerin düşük hareketli sperm sayısına sahip olduğu çiftlerde gebelik oranlarını artırabilir. Bu tür tedaviler başarısız olursa, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) ile IVF veya tek başına IVF uygulanabilir. Obstrüktif azospermi veya testiküler hipofonksiyon vakalarında, testis veya epididimden elde edilen sperm, sadece ICSI ile IVF döngüsünde kullanılabilir (52; 53).

III.II. IVF Kontrendikasyonları

IVF'nin mutlak bir kontrendikasyonu bulunmamaktadır. Ancak, gebelik durumunda önemli ölüm riski olan kadınlarda uygulanmamalıdır. Gebelik önerilmeyen yüksek riskli durumlara örnek olarak Marfan sendromu, New York Kalp Derneği (NYHA) sınıf 3 veya 4 kalp yetmezliği, Eisenmenger sendromu, ciddi kalp kapak darlığı (aort veya mitral stenoz), pulmoner hipertansiyon veya aort koarktasyonu gibi durumlar sayılabilir (53).

III.III. IVF Başarısıyla İlgili Siklus Öncesi Faktörler

Anne yaşı, in vitro fertilizasyon (IVF) başarısını etkileyen önemli faktörlerin başında gelmektedir (54, 55). Özellikle 40 yaş üzeri kadınlarda IVF başarısı belirgin şekilde azalmaktadır. Yaş ilerledikçe, overlerin gonadotropin stimülasyonuna verdiği yanıt, mevcut oosit sayısı ve oosit kalitesi azalmakta ve IVF başarısı düşmektedir (54, 55). IVF için genellikle üst yaş sınırı 45 yaş olarak kabul edilmekle birlikte, bölgesel farklılıklar gösterebilir (55). Gerçekten de 45 yaş üzeri IVF hastalarının dahil edildiği bir çalışmada, canlı doğum oranının %2,1 olduğu ve genel başarı oranının oldukça düşük olduğu bulunmuştur (56).

Serum folikül stimüle edici hormon (FSH) ve östradiol (E2) seviyeleri, IVF başarısını etkileyen diğer önemli faktörlerdir. Siklusun üçüncü gününde (erken foliküler faz), yüksek FSH konsantrasyonu, IVF ile elde edilen gebeliklerde kötü bir prognoz faktörü olarak belirlenmiştir (57, 58). Serum FSH seviyesi, sikluslar arasında dalgalanabilir, bu nedenle sadece bir siklusa

ölçülen yüksek FSH seviyesi kötü bir prognoz faktörü olarak değerlendirilmemelidir (58). Serum FSH testlerinin standardizasyonunun eksikliği, IVF başarısını tahmin etmedeki kullanımını sınırlamaktadır. Ancak yine de tek bir ölçümde çok yüksek bir FSH değeri (üst sınırın 3 katı veya daha yüksek seviyeler), IVF başarısızlığını öngörebilir (59).

Erken foliküler fazda ölçülen yüksek E2 seviyesi, düşük oosit sayısı ile ilişkili bulunmuş ve bu durumun IVF sonuçlarını olumsuz etkilediği gösterilmiştir. Merkezler arasında farklı uygulamalar olmakla birlikte, genellikle IVF planlanan 35 yaş üzeri kadınlarda adet üçüncü gününde ölçülen FSH seviyesi >20 mIU/mL veya serum E2 seviyesi >100 pg/mL olanlarda IVF siklusları başlatılmamaktadır (60).

Serum FSH ve E2 ölçümünün yanı sıra, yumurtalık rezervini öngörebilmek için farklı testler de yapılmaktadır. Bu testler arasında klomifen yükleme testi, antral folikül sayımı, ultrasonografi (USG) ile over hacminin değerlendirilmesi, ekzojen FSH ile ovaryan rezerv testi, inhibin B ölçümü ve AMH düzeyi ölçümü bulunmaktadır (61).

Hidrosalpenks, IVF başarısını olumsuz etkileyen bir klinik durumdur. Hidrosalpenksli hastalarda canlı doğum oranları yarı yarıya azalmaktadır. Çalışmalar, bu hastalarda IVF tedavisi öncesi yapılan salpenjektomi operasyonu ile birlikte IVF başarısının arttığını göstermiştir (62). Bununla birlikte, salpenjektomi sonrası yumurtalık rezervinin azaldığı, daha yüksek gonadotropin dozlarına ihtiyaç duyulduğu ve toplanan oosit sayısının azaldığına dair çalışmalar da mevcuttur (63).

Sigara kullanımının toplanan oosit sayısını azalttığı ve bu nedenle IVF başarısını düşürdüğü kanıtlanmıştır. Bu nedenle, IVF tedavisi öncesinde sigaranın kesinlikle bırakılması önerilmektedir (64).

Uterus mikrobiyotasının IVF başarısıyla ilişkili olabileceğine dair sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (65). Uterus mikrobiyotasında Bacteroides ve Lactobacillus türlerinin baskın olduğu gösterilmiştir. 35 vakadan oluşan bir seride, Lactobacillus baskın olmayan mikrobiyotalarda implantasyon, gebelik, devam eden gebelik ve canlı doğum oranlarının düşük olduğu bulunmuştur. Myomlar, endometrioma ve endometriozis, tekrarlayan başarısız IVF

denemeleri, obezite ve trombofililer de IVF başarısını etkileyebilecek diğer faktörlerdir (64).

III.IV. IVF Öncesi Değerlendirme

Bir infertil çiftin değerlendirilmesinde, öncelikle spontan gebelik şansı belirlenmelidir. Çiftlerin yaklaşık %85'i, bir yılın sonunda yardımcı üreme tekniklerine ihtiyaç duymadan gebelik elde edebilmektedir. Eğer bir yıl boyunca düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebelik gerçekleşmezse, hastanın iyi bir anamnez alınmasının ardından üreme sağlığı açısından değerlendirilmesi gerekmektedir. Oligomenore veya amenore öyküsü, uterus, tüp, periton veya endometriozis gibi sorunları olanlar, azalmış over rezervine sahip olanlar, bilinen veya şüpheli erkek subfertilitesi olanlar ve 35 yaşın üzerindeki kadınlar daha erken bir değerlendirmeyi gerektirebilir (66).

Anamnez

Çocuk isteğiyle başvuran çiftlerin öyküleri detaylı bir şekilde alınmalıdır. İnfertilite süresi, cinsel birliktelik sıklığı, cinsel öykü, adet düzeni, alkol, sigara ve ilaç kullanımı, adet sancısı, sistemik hastalıklar, ağrılı cinsel ilişki, süt salgılama durumu, anormal servikal smear sonuçları, geçirilmiş operasyonlar, cinsel yolla bulaşan hastalık öyküsü, tiroid hastalıkları, meslek, daha önce alınan infertilite tedavileri, yapılan embriyo transferleri, ailede infertilite öyküsü ve ortalama menopoz yaşları gibi faktörler anamnezde ele alınmalıdır. Ovulasyon döneminde veya bir hafta öncesinde non-steroid antiinflamatuvar ilaç kullanımının, o siklustaki gebelik oranını düşürdüğü gözlemlenmiştir. Sigara kullanımının hem kadın hem de erkek infertilitesini olumsuz etkilediği bilinmektedir. Sigara, erkeklerde azalmış semen hacmi ve bozulmuş semen parametreleri, kadınlarda ise azalmış doğurganlık ve artmış infertilite riskiyle ilişkilidir (67).

İnfertil çiftlerde kadın yaşının tedavi etkinliğinde önemli bir rol oynadığı unutulmamalıdır. Düzenli ovulasyon sikluslarına rağmen, menopozdan yıllar önce fertilité azalmaktadır. Kadınlar için en yüksek doğurganlık düzeyi genellikle 20 ila 25 yaş arasındadır. İnfertilite değerlendirilirken çiftlerin yaşam tarzı, beslenme alışkanlıkları, aşırı kilo alımı veya kilo kaybı, aşırı fiziksel

aktivite gibi değiştirilebilir faktörler de dikkate alınmalıdır. İnfertilite tipi (primer veya sekonder infertilite) de anamnezde sorgulanmalıdır (68).

Fizik Muayene

Arteriyel kan basıncı ve nabız ölçülmeli, hastanın kilosu ve beden kitle indeksi (BKİ) hesaplanmalıdır. Kadınlarda obezite ve menstrüel bozukluklar değerlendirilmelidir. Eğer daha önce IVF tedavisi almışsa, hangi protokolün uygulandığı öğrenilmelidir. Gebelik oluşumunda gecikme, siklus başına gebelik ve doğum oranlarında düşüş, artmış düşük yapma oranı, morbiditede artış, infertilite tedavilerinde yetersizlik veya yanlış protokolle ilişkilidir. Obezite, kadınları etkilediği kadar erkekleri de etkileyebilir. Yüksek BKİ, sperm konsantrasyonunu azaltabilir ve motilite bozukluklarına neden olabilir (69).

Jinekolojik muayene ile vajina ve serviks incelenmeli, konjenital ve anatomik patolojiler açısından değerlendirilmelidir. Rektovajinal muayene de pelvik muayenenin bir parçası olarak yapılmalıdır. Erkek hastanın muayenesi de detaylı bir şekilde yapılmalıdır. Meme gelişimi, kıllanma, mikropenis varlığı, testis boyutu, varikosel varlığı gibi faktörler değerlendirilmelidir. Konjenital bilateral vas deferens yokluğu, kistik fibrozis transmembran düzenleyici gen (CFTR) bozukluğu ile ilişkilidir ve erkek infertilitesinde önemli bir rol oynar (70).

Laboratuvar İncelemeleri ve Görüntüleme Teknikleri

Semen Analizi: Semen örneği, en az iki, en fazla yedi gün süren cinsel perhiz sonrasında alınmalıdır. Alınan semen örneği, en fazla bir saat içinde incelenmelidir. Eğer anormal sonuçlar elde edilirse, semen analizi tekrarlanmalıdır. Semen analizi için WHO'nun 2010 referans değerleri kullanılmaktadır (71).

Ovaryan Rezerv Testleri: Ovaryan rezerv testleri iki kategoriye ayrılır:

Statik testler: Yaş, bazal serum estradiol düzeyi, bazal serum FSH düzeyi, bazal FSH/LH oranı, bazal serum inhibin-B düzeyi, bazal serum antimüllerian hormon (AMH) düzeyi, over volümü, bazal antral follikül sayısı ve over stromal kan akımını içeren testlerdir (57).

Dinamik testler: GnRH agonist stimölasyon testi (GAST), Klomifen sitrat challenge testi (CCCT) ve Ekzojen FSH ovaryan rezerv testidir (EFORT) (57).

Menstrüel Düzen:

Progesteron: Progesteron ölçümü, beklenen adet tarihinden yedi gün önce yapılması daha uygun bir yaklaşımdır. Progesteron düzeyinin 3 ng/mL üzerinde olması ovulasyonun gerçekleştiğini gösterir. Normal luteal faz için minimum serum progesteron seviyesi konusunda bir fikir birliği bulunmamaktadır, ancak genellikle 10 ng/mL'den yüksek kabul edilir (72).

LH: Siklus ortasında meydana gelen LH dalgalanmasının ölçümü önemlidir. Beklenen LH yükselmesinden 48 ila 72 saat önce testlerin başlaması önerilir ve LH pik süresi 48 ila 50 saat sürer. Pik sonrası 48 saat, gebelik olasılığının en yüksek olduğu dönemdir (73).

Uterin Kavite ve Tubal Geçirgenlik Değerlendirmesi: Tubal geçirgenliğin ve uterin kavitenin değerlendirilmesi, infertil çiftlerde önemli bir yer tutar. Tubal geçirgenlik ve uterin kavite genellikle histerosalpingografi (HSG) ile değerlendirilir. HSG ile uterin kavitedeki miyomlar, polipler, sineşiler (yapışıklıklar), tubal tıkanıklıklar ve müllerian defektler tespit edilebilir. Ayrıca mekanik bir temizleme etkisiyle tubalar açılabilir. HSG'nin dezavantajları, peritubal adezyonlar için yetersiz olması, ağrılı bir işlem olması ve enfeksiyon riski taşımasıdır. Histeroskopi, HSG ile tespit edilen intrauterin patolojilerin çıkarılmasında oldukça faydalıdır. Salin infüzyon sonohisterografi (SIS), radyasyon maruziyeti olmadan ofis ortamında uygulanabilen bir işlemdir ve endometrial kavitenin değerlendirilmesini sağlar (74).

Ultrasonografi (USG): Ultrasonografi ile endometrium kalınlığı, adneksiyel kitleler, ovaryan ve paraovaryan kistler, endometrioma, polikistik over sendromu, intrakaviter patolojiler, uterusun boyutu, pozisyonu, uterin miyomların lokalizasyonu ve boyutu, konjenital anomaliler ve hidrosalpenks değerlendirilir. Ultrasonografi aynı zamanda over rezervi hakkında da bilgi sağlayabilir. Over volümü ve antral folikül sayısı değerlendirilir (75).

Over Volümü: Otuz sekiz yaşından menopoza kadar olan dönemde over volümünde folikül kaybı gözlenir. İnfertil hastalarda, benzer yaşlardaki fertil hastalara kıyasla over volümünün daha düşük olduğu bulunmuştur. Over volümündeki düşüklük (<3 mL), zayıf stimülasyon cevabını belirlemede yüksek bir spesifite (%80-90) gösterir. Sensitivite aralığı ise geniştir (%11-80) (76).

Antral Folikül Sayısı (AFC) : Yaşla birlikte antral folikül sayısının azaldığı görülmüştür. 37 yaşına kadar olan dönemde yaklaşık %5'lik bir azalma, sonraki her yıl için ise yaklaşık %12'lik bir düşüş görülmüştür (77).

Laparoskopi: Laparoskopi, pelvik anatomiye daha net değerlendirmek için kullanılır. HSG'si anormal olan, geçmişte pelvik enfeksiyon hikayesi olan, rüptüre apandisit veya abdominopelvik cerrahi geçmişi olan hastalar genellikle laparoskopi ile değerlendirilir. Laparoskopinin dezavantajları hastanede yatmayı gerektirmesi, enfeksiyon riski taşıması, mesane, bağırsak ve damar hasarı riski ve maliyetli bir işlem olmasıdır. Günümüzde seçilmiş vakalarda tercih edilmektedir (78).

IV. Luteal Faz Yetmezliği

İmplantasyonun başarısı, reseptif bir endometrium, sağlıklı bir blastokist ve senkronize bir hormonal ortamla ilişkilidir. Bu süreçte progesteron, implantasyon ve gebeliğin devamı için gereklidir. Korpus luteum fonksiyonunda herhangi bir bozukluğun olması, progesteron üretiminde bozukluğa neden olabilir ve infertilite veya düşük gebelik sonuçlarıyla ilişkilendirilebilir (24). Luteal faz yetmezliği, normal sekretuar endometriumun sürdürülmesi, embriyo implantasyonu ve büyümesi için gereken progesterona yetersiz maruziyet olarak tanımlanabilir. Klinik olarak, luteal faz yetmezliği, on günden daha kısa süren luteal faz olarak tanımlanabilir. Ancak sağlıklı, normal, fertil kadınların yaklaşık %5'inde kısa luteal faz tespit edilmiştir (79).

Klinik luteal faz yetmezliği, iki mekanizma nedeniyle ortaya çıkabilir. İlk olarak, korpus luteum fonksiyon bozukluğu ve buna bağlı olarak yetersiz östrojen ve progesteron üretimi olabilir (80). Korpus luteum fonksiyon bozukluğu, zayıf gelişen dominant folikülden veya normal gelişen dominant folikülün korpus luteum gelişimini uyarmasının bozuk olmasından kaynaklanabilir. Diğer bir görüş ise uygun progesteron seviyeleri olsa bile endometrial yanıtın bozuk olabileceğidir. Bu da endometrial yanıtın sadece progesterona bağlı olmadığını, başka moleküler mekanizmalarla ilişkili olabileceğini göstermektedir (81).

Progesteron seviyeleri, luteal fazın ortasında 4-40 ng/mL arasında değişebilir ve 90 dakika içinde sekiz kez dalgalanabilir (82). Bu nedenle fertil kadınların luteal fazdaki progesteron seviyeleri için standart bir eşik değeri yoktur. Tek bir serum progesteron değeri, luteal faz yetmezliği tanısı koymak için yeterli değildir (72).

Luteal fazdaki endometrial biyopsi, günümüzde luteal faz yetmezliği tanısı için kabul görmese de, geçmişte altın standart olarak kabul edilmiştir. Ancak daha sonraki araştırmalar, fertil kadınların LH pikinin olduğu gün endometrium biyopsisinin alınmasıyla aralarında zayıf bir korelasyon olduğunu göstermiştir (83). Çok merkezli bir randomize kontrollü çalışmada, infertil ve fertil kadınların orta ve geç luteal fazlarda alınan endometrial biyopsileri karşılaştırılmış ve iki grup arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur (84).

Luteal faz yetmezliği tanısı için geçerliliği olan bir yöntem olmaması, bu sorunun infertilite patofizyolojisinde önemli olduğunu ve klinik olarak premenstrüel lekelenme veya tekrarlayan gebelik kayıpları şeklinde kendini gösterebileceğini göstermektedir. Sonuç olarak, başarılı bir ovulasyon olmadığı takdirde sağlıklı bir luteal faz dönemi olmayacaktır.

V. Luteal Faz Desteği

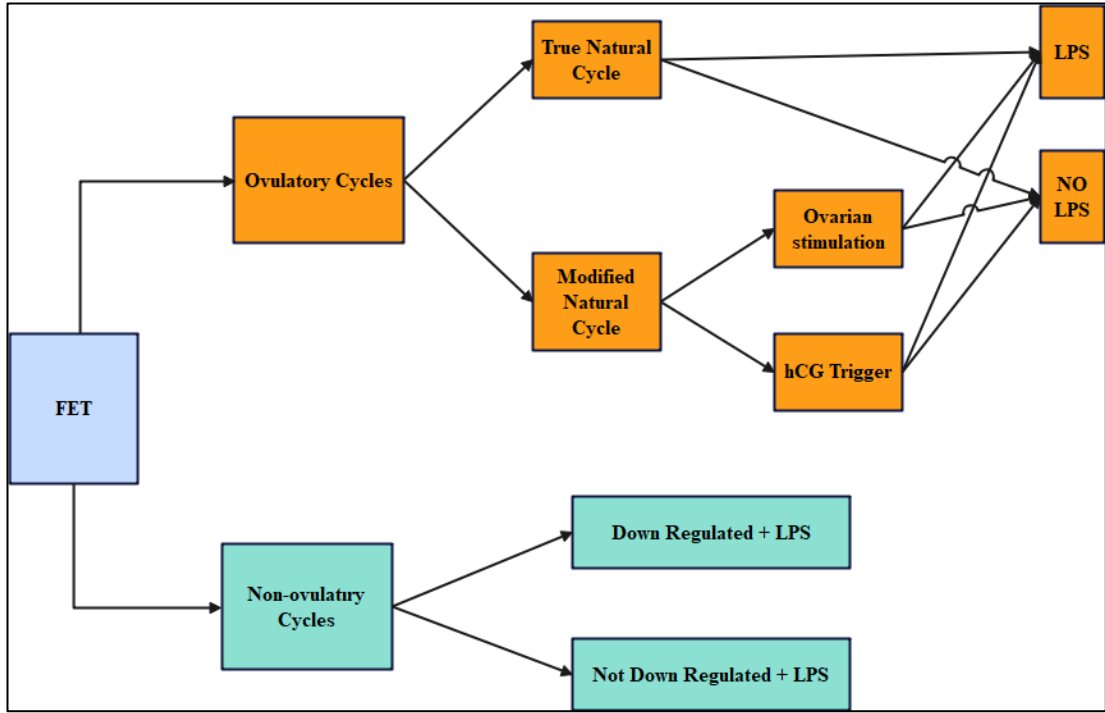
Kontrollü ovaryan stimülasyon sürecinde, genellikle birden fazla korpus luteum gelişmektedir. Bu nedenle IVF sikluslarında, luteal fazda normalden daha yüksek progesteron ve östradiol salgılanır. GnRH analogları, erken LH salınımını engellemek amacıyla kullanıldığında endojen LH salgısını baskılar. GnRH agonisti veya antagonist tedavisi sonlandırıldıktan sonra, rezidüel endojen LH üzerindeki baskı devam eder. Luteal fazda düşük olan luteal LH seviyeleri, luteal fonksiyonu sürdürme ve implantasyon veya erken gebeliği destekleme açısından yetersiz olabilir. Bu nedenle, implantasyonu hazırlamak veya erken dönem gebeliği desteklemek için ek önlemler alınması gerekmektedir (85).

Uterin reseptivite, implantasyon sırasındaki endometrial hormonal ortama bağımlıdır. Endometrial hücrelerin proliferasyonunu sağlayan östrojen, progesteron reseptörlerini artırırken; stromal tabakanın desidualizasyonunu ve

endometrial bezlerin sekresyonunu sağlayan progesteronun mevcut olması embriyo implantasyonu öncesi optimal endometrial olgunluğun sağlanması için gereklidir. Doğal sikluslarda, ovulasyondan yaklaşık dört gün sonra pik seviyelere ulaşan steroid hormonlar, bir hafta boyunca bu seviyelerde kalır ve menstrüel periyottan beş gün önce düşmeye başlar. Uyarılmış sikluslarda luteal faz hormon üretimi, birden fazla korpus luteum varlığı nedeniyle suprafizyolojiktir, ancak daha kısa sürelidir. IVF sikluslarında, oosit toplandıktan sonra birinci haftada steroid üretimi yeterlidir. Ancak suprafizyolojik hormon düzeyleri nedeniyle korpus luteum fonksiyonunun anormal olduğu görülmüş ve dolayısıyla luteal faz desteğinin önemi ortaya çıkmıştır. Progesteron kadar östrojen de doğrudan luteinizasyonu sağlamasa da, progesteron reseptörünün yenilenmesinde gereklidir, bu nedenle hCG'nin korpus luteumdan hem östrojen hem de progesteron salgılanması üzerinde uyarıcı etkisi olduğu bildirilmiştir. GnRH antagonist tedavisi endojen LH üzerinde sürekli bir baskı oluşturur. Folikül aspirasyonu sonrası oluşan korpus luteumlar, LH uyarısı olmadığı için progesteron da üretmez. Luteal faz desteğinde temel hormon progesterondur. Östrojen ve hCG de kullanılır. Progesteron ve östrojen doğrudan hormonal etki gösterirken, hCG korpus luteumdan bu hormonların salgılanmasını sağlar. Endometriumu implantasyona hazırlama ve erken dönemdeki gebeliği destekleme adına progesteron takviyesi gereklidir (86).

Dondurulmuş çözülmüş embriyo transferinde (FET), taze embriyo transferi (ET)'nden farklı olarak, endometriyal hazırlık ovaryan stimülasyona ikincil değildir ve genellikle fonksiyonel bir korpus luteum yokluğunda gerçekleşir. FET'te luteal faz desteği (LPS)'nin katkısını değerlendirirken, endometriyal hazırlığın türü, ajanlar ve uygulama yollarının yanı sıra bir ovülasyon tetikleyicisinin kullanımı da dikkate alınmalıdır. Başta (1) spontan ovülasyonu takiben çözülmüş bir embriyonun transfer edildiği gerçek doğal siklus (tNC); (2) hCG ile tetiklenen ovülasyonu takiben ET'nin gerçekleştiği modifiye doğal siklus (mNC); ve (3) hormon replasman tedavisi (HRT) olarak da bilinen yapay siklus (AC) ve korpus luteum (CL) yokluğunda östrojen ve progesteron kaynağının yalnızca eksojen olduğu programlanmış FET

protokolü olmak üzere çeşitli endometriyal hazırlık protokolleri vardır (Şekil-2). Bu nedenle HRT protokollerinin iki ana hedefi vardır. Birincisi, tatmin edici endometriyal kalınlığa ulaşan yeterli endometriyal proliferasyonu indüklemektir. İkincisi ise progesterona maruz kalma süresini çarpıtabilecek ve implantasyon aralığını değiştirebilecek folikül gelişimini ve spontan erken ovülasyonu önlemektir. Bunları ele almak için, HRT protokolleri genellikle endometriyal proliferasyonun yanı sıra hipofiz FSH sekresyonunun baskılanmasını ve sonuçta foliküler recruitment (işe alım) ve gelişmeyi indükleyen yüksek dozda östradiolün erken foliküler uygulamasına dayanır. Alternatif olarak, HRT protokolleri folikül gelişimini baskılamak için bir GnRH agonisti içerebilir. Bu protokoller genellikle baskılamalı HRT olarak adlandırılır (87, 88).



Şekil- 2: FET protokolleri (88)

Doğal ve modifiye doğal sikluslarda, embriyo çözme ve transferi, doğal LH dalgalanması veya ovulasyon tetiklemesinin gözlemlenmesine dayanır. Bu yöntemler en çok ovulasyon döngüsü olan bireyler için uygundur ve endometriyumu embriyonun implantasyon penceresiyle, tipik olarak

yumurtlama sonrası 7 ila 10. günle senkronize etmeyi amaçlar (89). Doğal döngülerde FET'i takiben luteal destek ihtiyacı tartışmalı bir konu olmaya devam etmektedir (90, 91). Modifiye edilmiş doğal sikluslarda ovülasyon LH veya hCG kullanılarak tetiklenir ve bazı literatür hCG'nin luteotropik etkisi nedeniyle bu sikluslarda ek luteal desteğin gereksiz olduğunu öne sürmektedir (92). Bununla birlikte, yakın zamanda yapılan bir meta-analiz, doğal veya modifiye doğal sikluslarda ek progesteron desteğinin etkinliğine ilişkin kesin olmayan kanıtlar bulmuştur (93).

Yapay östradiol ve ardından progesteron uygulaması yoluyla adet döngüsünün foliküler fazını taklit eden programlanmış FET döngüleri, anovuluar döngüleri olan veya yakın izleme sağlayamayanlar için faydalıdır. Korpus luteum yokluğu nedeniyle bu döngülerde genişletilmiş luteal destek çok önemlidir (94). Korpus luteumun yokluğu, anjiyogenez molekülü salgılanmasındaki azalmaya bağlı olarak olumsuz perinatal sonuçlara yol açabilir (95). Progesteron desteğinin, programlanmış FET döngülerinin orta luteal fazı sırasında ayarlanması gerekebilir; bazı çalışmalar, sonuçları optimize etmek için minimum serum progesteron seviyesi eşiği (>9-10 ng/mL) önermektedir. Bununla birlikte, en uygun progesteron destek yöntemi belirsizliğini korumaktadır (96, 97).

VI. Luteal Faz Desteğinde Kullanılan İlaçlar

Luteal faz desteği için kullanılabilecek tedavi yöntemleri; progesteron, insan koryonik gonadotropin (hCG), GnRH agonistleri, östrojendir.

VI.I. Progesteron

Yardımcı üreme tekniklerinde, luteal faz desteği sağlamak için progesteron kullanımı yaygın bir yaklaşımdır. Bu konuda uygulama yöntemi, dozu ve zamanıyla ilgili birçok karşılaştırmalı veri bulunmaktadır. Optimal uygulama yöntemi ve yolu hala tartışmalıdır. Progesteronlar doğal ve sentetik olmak üzere iki farklı formda bulunur. Mevcut formları arasında oral, vajinal, rektal, intramusküler ve subkutan (cilt altı) şekillerde çeşitlilik gösterir. Vajinal yolla uygulanan mikronize kapsül, intramusküler enjeksiyonlar, jel ve oral sentetik progesteron olan didrogesteron gibi uygulama şekilleri bulunmaktadır.

Vajinal mikronize progesteron, 21 karbon atomlu steroid yapılı doğal progesteron formudur ve uzun yıllardır oral veya vajinal yolla luteal faz desteği amacıyla kullanılmaktadır. Vajinal kullanımın tercih edilme nedenleri arasında daha yüksek biyoyararlanım, karaciğerde metabolizmaya uğramadan hızlı bir şekilde emilimi sağlanması ve daha az yan etkiye sahip olması bulunmaktadır. Sıklıkla iki farklı vajinal progesteron formu kullanılmaktadır: mikronize 100-200 mg kapsüller günde 2 kez veya kontrollü uzun salınımlı jel formu günde bir kez 90 mg şeklinde uygulanır. Mikronize kapsül progesteronun vajinal uygulamasıyla birlikte yan etkiler olarak akıntı, ısı artışı ve irritasyon gibi durumlar ortaya çıkabilir (13, 24, 98).

Oral mikronize progesteron, karaciğerde enzimatik olarak parçalanması nedeniyle düşük biyoyararlanıma sahiptir. Yüksek dozlarda kullanılması durumunda ise yan etkiler, örneğin uyuşukluk ve aşırı uyku hissi gibi durumlar artabilir. İntramusküler progesteron uygulamaları daha uzun etki süresi ve yüksek kan konsantrasyonları sağlar, ancak vajinal progesteronların intramusküler uygulamalar kadar etkili olduğunu gösteren veriler giderek artmaktadır. Ayrıca ağrılı enjeksiyon, döküntü, inflamatuvar reaksiyon ve enfeksiyon gibi yan etkileri olabilir (4).

VI.II. Didrogesteron

Didrogesteron, 1950'li yıllarda geliştirilen ve 1960'lı yıllarda klinik kullanıma geçen, yüksek oral biyoyararlanıma sahip bir retroprogesteron olan progesteronun stereoizomeridir. Progesteron molekülünden farklı olarak, 6. ve 7. karbon atomları arasında ek bir çift bağ içermektedir. Didrogesteron, 10. karbondaki metil grubunun beta pozisyonundan alfa pozisyonuna ve 9. karbondaki hidrojen atomunun alfa pozisyonundan beta pozisyonuna geçmesi nedeniyle progesterona göre daha kolay bükülebilen bir moleküldür. Didrogesteron, yüksek selektiviteye sahip bir progestin olup sadece progesteron reseptörlerine bağlanır. Ancak progesterona göre biraz daha düşük affiniteye sahiptir. Yan etkileri arasında migren, baş ağrısı, bulantı, meme hassasiyeti ve ağrısı yer alabilir. Didrogesteron, endojen progesteron ile benzer farmakolojik etkilere sahiptir. Her iki molekül de progestojenik özellik gösterirken, androjenik ve östrojenik etkilere sahip değildirler. Ayrıca her iki

molekül de düşük antimineralkortikoid ve düşük antiandrojenik aktiviteye sahiptirler. Bununla birlikte, progesteron molekülünün antogonadotropik ve glukokortikoid etkisi vardır (99). Didrogesteron, dismenore, menometroraji, adet düzensizlikleri, endometriyozis, tekrarlayan düşük tedavisi, premenstrüel sendrom, luteal faz desteği, hormon replasman tedavisi gibi birçok alanda kullanılmaktadır (100).

Son zamanlarda, yüksek oral biyoyararlanıma sahip olan didrogesteronun vajinal progesteronlar kadar etkili olup olmadığını araştıran çalışmalar gündemdedir. 2018 yılında, IVF siklusları için yapılan 3386 kadını içeren 8 randomize kontrollü çalışmanın birleştirildiği bir meta-analizde, oral didrogesteronun vajinal progesteron kadar etkili olduğu bildirilmiştir (101). Bununla birlikte, prematür over yetmezliği olan bir grup üzerinde yapılan benzer bir çalışmada, vajinal progesteron ve didrogesteronun karşılaştırıldığı durumda, vajinal progesteron verilen grupta sekretuar faz transformasyonunun daha fazla olduğu gözlemlenmiştir (102).

VI.III. hCG

Luteal faz döneminde hCG'nin varlığı, korpus luteumda regresyonu önler ve östrojen ve progesteron üretimini sürdürür. hCG'nin LH reseptörlerine afinitesi olduğu, uzun yarılanma ömrüne sahip olduğu ve luteotropik aktiviteye sahip olması nedeniyle ovaryan hiperstimülasyon sendromu (OHSS) riski taşıdığı bilinmektedir. Bu nedenle luteal faz desteğinde hCG'nin yerine progesteronlar tercih edilmektedir (72).

Literatürde, luteal faz desteğinde P, hCG ve hCG+P'nin etkinliğini karşılaştıran birçok çalışma bulunmaktadır. Luteal faz desteğinde hCG genellikle aralıklı dozlarda (500-2000IU) kullanılmıştır. hCG ve progesteron kullanımını karşılaştıran çalışmalarda, her iki yöntemin etkileri arasında bir fark olmadığı görülmüştür. 2002 yılında yapılan bir meta-analizde, hCG ve intramusküler veya vajinal progesteron kullanımının gebe kalma oranları üzerinde benzer etkilere sahip olduğu bulunmuştur (103).

hCG'nin devam eden gebelik ve canlı doğum oranları üzerinde daha etkili olduğu, ancak progesterona hCG eklenmesinin sonuçları etkilemediği görülmüştür, ancak OHSS riskinde artış gözlenmiştir (104). Birçok çalışmada

hCG kullanımının OHSS gelişimini vurgulanmıştır. Serum östrojen düzeyi yüksek olan, ultrasonda çok sayıda folikül gözlenen ve OHSS riski taşıyan hasta gruplarında luteal faz desteğinde hCG kullanımının önerilmediği belirtilmektedir. hCG, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) üzerinden etki ederek apoptozise etki eder. Günümüzde minimal over stimülasyonu protokollerinin kullanılması, düşük doz hCG veya GnRH analogları ile ovülasyonun tetiklenmesi sonucunda luteal faz desteği için düşük doz hCG'nin alternatif bir yöntem olarak düşünülebileceği bildirilmiştir (72).

VI.IV. Östrojen

Yardımcı üreme teknikleri tedavilerinde midluteal fazda serum östrojen (E2) seviyelerinin düşük olmasının, gebelik oranlarının düşük olmasıyla ilişkili olabileceği düşünülerek, luteal faz desteği olarak progesteron (P) ile birlikte E2 kullanımı hakkında birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan farklı sonuçlar elde edilmiştir (103). 2002 yılında yapılan bir meta-analizde, luteal fazda P ile birlikte E2 verilmesinin implantasyon oranlarını artırdığı bildirilmiştir (104). Başka bir meta-analizde ise 4 randomize kontrollü çalışma incelenmiş ve toplam 587 hastada luteal faz desteği için P ile E2 verilen hastalarla sadece P verilen hastalar arasında gebe kalma oranlarına bakılmış ve benzer sonuçlar elde edilmiştir (105).

Bununla birlikte, araştırmacılar sınırlı sayıdaki siklus, farklı analog protokoller ve farklı östrojen dozları ve tipleri gibi alt grup analizlerinin yapılmadığını belirtmişlerdir. Yapılan çalışmalardaki E2 preparatlarının uygulanma yolları ve dozları heterojendir. 2015 yılında yapılan on beş farklı çalışmanın meta-analizinde, östrojen eklenmesinin IVF sonuçları üzerinde etkisinin olmadığı, oral östrojenin farklı dozlarının (2, 4, 6 mg) ve kullanımının sonuçlarının benzer olduğu tespit edilmiştir. Östrojenin vajinal veya transdermal yolla kullanımı ve kullanım süresiyle ilgili daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir (106).

GEREÇ VE YÖNTEM

I. Etik Kurul Onamı

Çalışmamız Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak düzenlenmiştir. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumunun 01.06.2022 tarih ve E-68869993-514.05.01-772516 sayılı kararı ile etik kurul izni alınmıştır.

II. Çalışmanın Amacı

Çalışmanın amacı, yapay olarak hazırlanmış donmuş embriyo transfer sikluslarında farklı progesteron uygulama şekilleri ile uygulanan luteal faz desteği sırasında, transfer günü bakılan serum progesteron düzeyleri, endometrial kompaksiyon ve bunların siklus başarı sonuçlarına etkisini değerlendirmektir.

III. Hasta Seçimi ve Yöntem

Haziran 2022 – Aralık 2022 tarihleri arasında infertilite tedavisi için UÜTF Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD Üremeye Yardımcı Tedaviler Merkezi'nde IVF sikluslarında, donmuş embriyo transferi uygulanan 237 hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışma prospektif randomize kontrollü araştırma olarak planlandı.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

1. 18-48 yaş arasında olma,
2. Endometriumu hormon verilerek hazırlanmış FET uygulanması,
3. 5. gün iyi kalite blastosist transferi,
4. BKİ değeri 18-38 arasında olması

Çalışmadan dışlanma kriterleri:

1. Yardımcı üreme veya gebelik için kontrendike olan herhangi bir klinik olarak ilgili sistemik hastalığın varlığı,

2. Embriyo transferinden sonra üçten fazla başarısız yardımcı üreme döngüsü veya üçten fazla klinik gebelik kaybı öyküsü,
3. Uterin anomalisi olanlar,
4. BMI <18 veya >40 kg/m² olması,
5. Protokolün gerekliliklerine uymayı reddetme veya yerine getiremememe.

Çalışma kapsamında hastalar her grupta benzer sayıda hasta olacak şekilde 1:1:1 randomize edilerek 3 gruba ayrıldı. 1. gruptaki hastalara 400mg-600mg-800mg vajinal progesteron, 2. gruptaki hastalara 600mg vajinal progesteron ve 3. gruptaki hastalara 600 mg vajinal progesterona ek olarak subkutan progesteron uygulandı. Çalışmada luteal destek başlangıç gününde yaş, BKİ, IVF nedeni, infertilite nedeni, FSH, LH, E2, AMH, AFC, serum progesteron ve endometrium kalınlık değerleri kaydedildi. Embriyo transfer gününde yapılan işlemin kaçınıcı transfer olduğu, embriyo kalitesi, serum progesteron ve endometrium kalınlığı kayıt altına alındı. Embriyo transferinden sonraki 7. Günde serum β -hCG değeri alınarak, birlikte serum progesteron ve endometrium kalınlığı ölçümleri tekrarlandı. İzlem altına alınan hastaların klinik gebelik ve canlı doğum pozitiflikleri kaydedildi.

IV. Teknik Bilgiler

Çalışmaya, UÜTF Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezinde hormon ile hazırlanmış sikluslarla donmuş embriyo transferi yapılan hastalar dahil edildi.

Yapay olarak hazırlanmış donmuş embriyo transferi tedavi siklusu hastaların menstrüel sikluslarının 2. günü hastanın ilk değerlendirilmesi ile başlatıldı. Yapılan değerlendirmede hastanın endometrial kalınlıkları ve overlerinde tedaviye engel bir durum gözlenmediği takdirde siklusa başlandı. Tedavinin yedinci gününde hasta endometrial kalınlığının değerlendirilmesi için kontrole çağırıldı. Bu değerlendirme sonrasında hastanın endometrial kalınlığına göre hastanın transfer günü planlanarak alacak (endometriumu 7 mm üzerinde ve trilaminer olduğunda progesteron desteğine başlanmak üzere

ayarlanır) transfer gününe kadar 6 gün progesteron kullanmış olacak şekilde luteal faz desteği planlandı. Tüm değerlendirmeler sırasında tüm hastalardan rutin olarak progesteron ve ultrasonografik değerlendirilme yapıldı.

Donmuş embriyo transfer siklusunda olan hastaların, luteal faz için progesteron başlanma zamanının belirlenmesi ve transfer gününün belirlenmesi amacı ile hastalar belirli aralıklarla kontrole çağırıldı. Bu takipler sırasında rutin olarak hastaların ultrasonografi ile endometrium kalınlıkları ölçüldü ve serum hormon düzeyleri (estrojen, progesteron) ölçüldü. Bu değerlendirme parametrelerine göre hastaların embriyo transfer zamanlamaları yapıldı. Tedavi başlangıcında, transfer zamanında ve takiben embriyo transferinden sonraki 7. günde tüm hastaların endometrial kalınlıkları ölçüldü ve serum progesteron düzeyleri kaydedildi. Kılavuzlarca önerilen ve bizim kliniğimizde uyguladığımız 3 farklı luteal faz destek protokollünde olan hastalar kendi içlerinde siklus takipleri sırasında ve embriyo transfer günü yapılan endometrium ölçümleri ve serum progesteron seviyeleri açısından karşılaştırıldı ve bu değerlerin elde edilen gebelik sonuçlarına etkisi değerlendirildi.

V. İstatistiksel Analiz

Araştırma verilerinin analizinde Verinin istatistiksel analizi IBM SPSS 26.0 (IBM Corp. Released 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 26.0. Armonk, NY: IBM Corp.) istatistik paket programı kullanıldı. Verilerin normal dağılım analizinde Shapiro-Wilk testi ile Skewness ve Kurtosis değerleri kontrol edildi. Tanımlayıcı istatistikler, sayısal veriler için *ortalama ± standart sapma* ve *medyan (minimum-maksimum)*, kategorik veriler için ise *sayı (yüzde)* olarak verildi. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı.

Normal dağılım gösteren veriler Tek Yönlü Anava ile birlikte Post-Hoc testlerinden Bonferroni kullanılarak analiz edildi. Normal dağılım göstermeyen verilerde Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi, Bağımsız Örneklemeler Kruskal-Wallis Testi ve Mann Whitney-U Testi kullanıldı. Veriler %95 güven aralığında ve %5 anlamlılık düzeyinde değerlendirildi.

BULGULAR

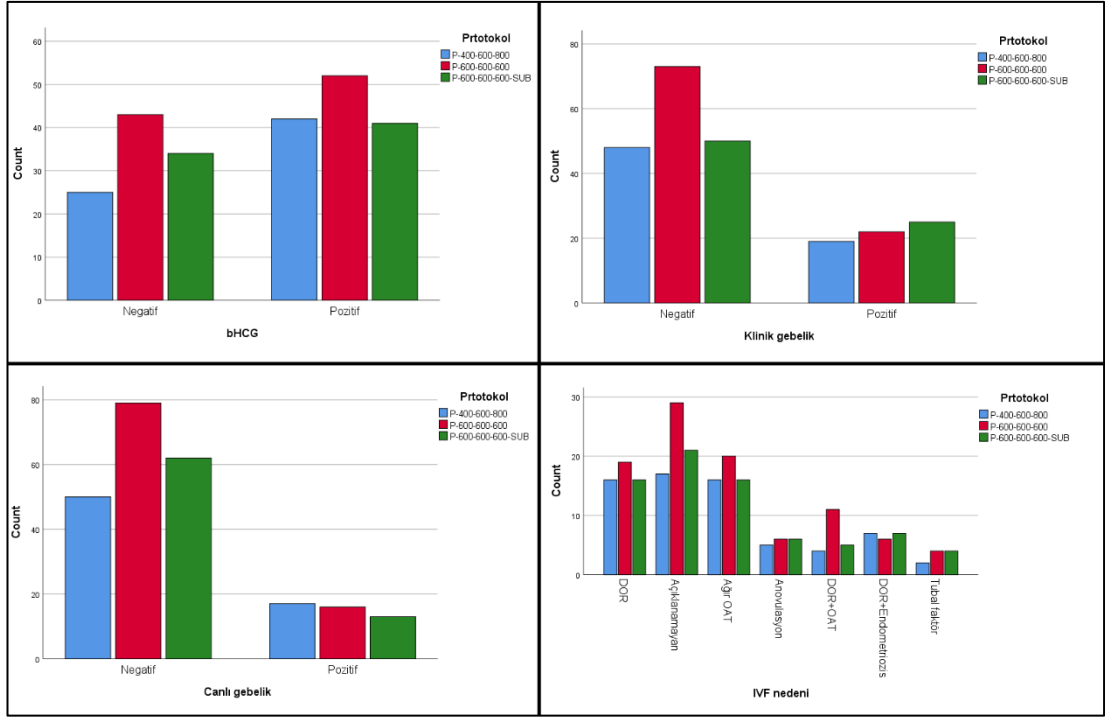
Tablo-1'e göre protokol grupları ile serum β -hCG pozitifliği(biyokimyasal gebelik), klinik gebelik, canlı doğum ve IVF nedeni arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p>0.05$). Olgular biyokimyasal gebelik, klinik gebelik ve canlı doğum sonuçları bakımından protokol gruplarında homojen dağılmaktadır.

Tablo- 1: Protokol gruplarına göre biyokimyasal gebelik, klinik gebelik ve canlı doğum sonuçlarının karşılaştırması

	Protokol			Test istatistikleri †	
	Grup1 n=67	Grup2 n=95	Grup3 n=75	χ^2	p
β-hCG, n (%)					
Negatif (n=102)	25 (%24.5)	43 (%42.2)	34 (%33.3)	0.54	0.536
Pozitif (n=135)	42 (%31.1)	52 (%38.5)	41 (%30.4)		
Klinik gebelik, n (%)					
Negatif (n=171)	48 (%28.1)	73 (%42.7)	50 (%29.2)	2.17	0.338
Pozitif (n=66)	19 (%28.8)	22 (%33.3)	25 (%37.9)		
Canlı gebelik, n (%)					
Negatif (n=191)	50 (%26.2)	79 (%41.4)	62 (%32.5)	2.13	0.345
Pozitif (n=46)	17 (%37.0)	16 (%34.8)	13 (%28.3)		
IVF nedeni, n (%)					
DOR (n=51)	16 (%31.4)	19 (%37.3)	16 (%31.4)	4.22	0.979
Açıklanamayan (n=67)	17 (%25.4)	29 (%43.3)	21 (%31.3)		
Ağır OAT (n=52)	16 (%30.8)	20 (%38.5)	16 (%30.8)		
Anovulasyon (n=17)	5 (%29.4)	6 (%35.3)	6 (%35.3)		
DOR+OAT (n=20)	4 (%20.0)	11 (%55.0)	5 (%25.0)		
DOR+Endometriozis (n=20)	7 (%35.0)	6 (%30.0)	7 (%35.0)		
Tubal Faktör (n=10)	2 (%20.0)	4 (%40.0)	4 (%40.0)		

†: Ki kare testi (χ^2); Özet istatistikler sayı (yüzde) olarak verildi.

Şekil-3'de protokol gruplarına göre biyokimyasal gebelik, klinik gebelik, canlı doğum ve IVF nedeni dağılım grafikleri verildi.



Şekil- 3: Protokol gruplarına göre biyokimyasal gebelik, klinik gebelik, canlı doğum ve IVF nedeni dağılım grafikleri

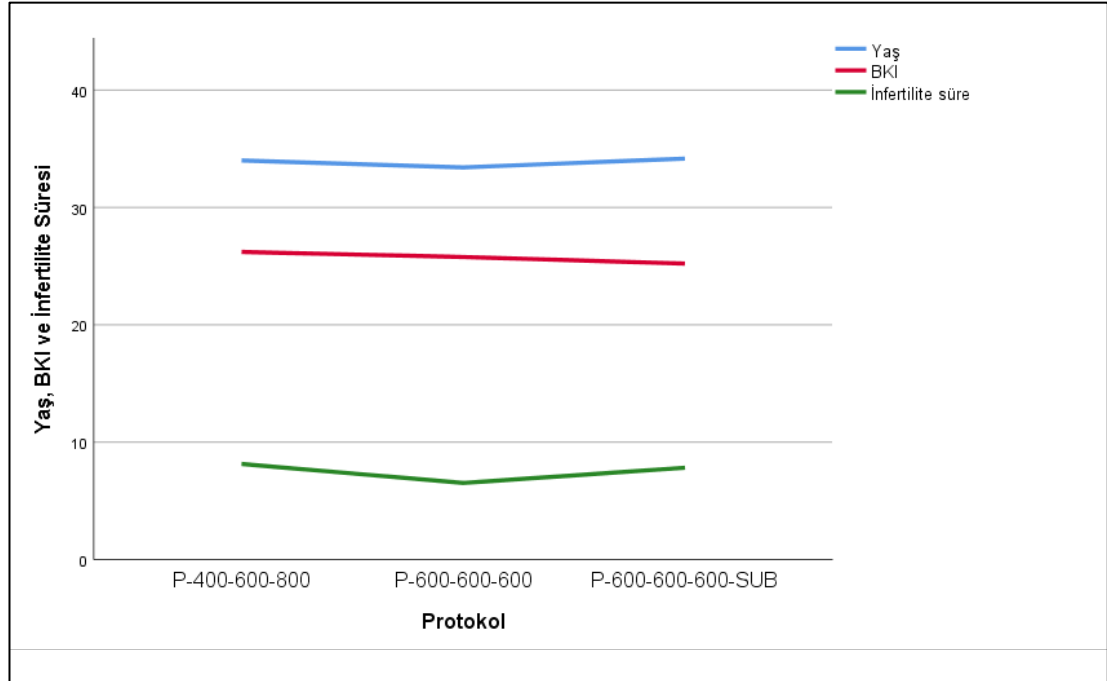
Tablo-2'de protokol gruplarına göre yaş, BKİ ve infertilite süresi değişkenlerinin karşılaştırılmasına ilişkin sonuçlar yer almaktadır. Protokol grupları arasında yaş ve BKİ yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmazken ($p>0.05$), infertilite süresi yönünden anlamlı farklılık bulundu ($p<0.05$). Grup2(600-600-600) protokolünün infertilite süresi Grup1(400-600-800) ve Grup3(600-600-600+subkutan prg) protokollerinden daha düşüktü.

Tablo- 2: Yaş, BKI ve infertilite süresinin protokol gruplarına göre karşılaştırılması

	Protokol			Test istatistikleri [¶]	
	Grup1 n=67	Grup2 n=95	Grup3 n=75	F	p
Yaş					
Ort±ss	34±4.47	33.41±4.04	33.81±4.15	0.78	0.461
M (min-max)	34(24-40)	33(24-40)	35(24-40)		
BMI					
Ort±ss	26.21±4.31	25.78±4.72	25.22±3.93	1.02	0.364
M (min-max)	26.2(16.0-36.1)	26.0(15.2-37.0)	24.9(17.0-38.0)		
İnfertilite süresi					
Ort±ss	8.14±4.05 ^a	6.53±3.57 ^b	7.82±3.62 ^a	4.41	0.013
M (min-max)	8(1-20)	6(1-16)	7(1-18)		

[¶]Tek Yönlü ANOVA. Tanımlayıcı istatistikler ortalama ± standard sapma olarak verildi. Koyu işaretli alanlar istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. Bonferroni: a>b>c Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı temsil etmektedir (p<0.05).

Şekil-4'te protokol gruplarına göre yaş, BKI ve infertilite süresi ortalamalarının grafiği verilmiştir.



Şekil- 4: Protokol gruplarına göre yaş, BKI ve infertilite süresi ortalamalarının grafiği

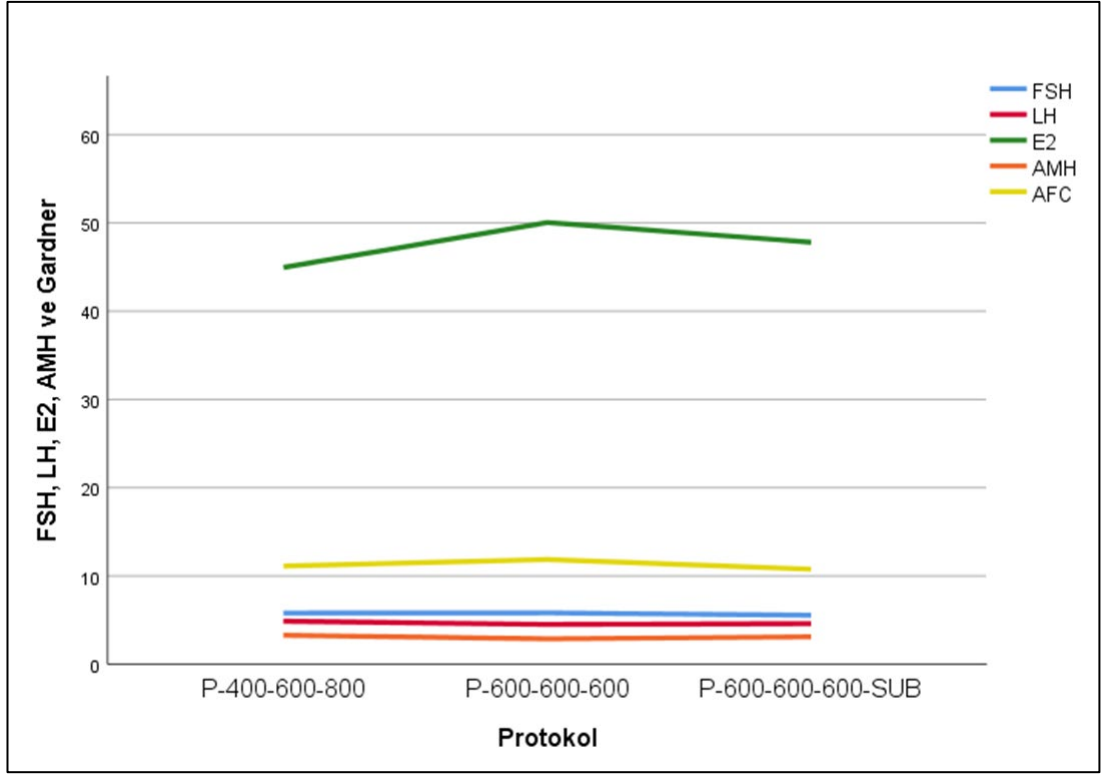
Tablo-3'te protokol gruplarına göre FSH, LH, E2, AMH ve AFC değişkenlerinin karşılaştırılmasına ilişkin sonuçlar yer almaktadır. Protokol grupları arasında göre FSH, LH, E2, AMH ve AFC yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0.05$). Olgular FSH, LH, E2, AMH ve AFC bakımından protokol gruplarında homojen dağılmaktadır.

Tablo- 3: Protokol gruplarına göre göre FSH, LH, E2, AMH ve AFC karşılaştırması

	Protokol			Test istatistikleri [¶]	
	Grup1 n=67	Grup2 n=95	Grup3 n=75	F	p
FSH					
<i>Ort±ss</i>	5.80±1.79	5.81±2.90	5.55±1.53	0.35	0.707
<i>M (min-max)</i>	5.5(2.73-12.49)	5.3(1.83-27.0)	5.41(2.81-10.4)		
LH					
<i>Ort±ss</i>	4.86±2.69	4.51±2.85	4.59±2.46	0.36	0.696
<i>M (min-max)</i>	4.2(0.76-13.90)	3.6(1.0-18.7)	4.20(0.68-13.7)		
E2					
<i>Ort±ss</i>	44.96±23.42	50.04±25.22	47.81±23.42	0.86	0.423
<i>M (min-max)</i>	41.0(10.0-141.0)	43.0(14.0-134.0)	42.0(14.0-169.0)		
AMH					
<i>Ort±ss</i>	3.28±3.21	2.87±2.30	3.10±3.01	0.42	0.656
<i>M (min-max)</i>	2.5(0.02-18.01)	2.6(0.1-9.6)	2.12(0.5-21.0)		
AFC					
<i>Ort±ss</i>	11.12±6.20	11.86±6.72	10.76±5.79	0.69	0.505
<i>M (min-max)</i>	10.0(2-25)	11.0(1-25)	10.0(2-25)		

[¶]Tek Yönlü ANOVA. Tanımlayıcı istatistikler *ortalama ± standard sapma* olarak verildi. Koyu işaretli alanlar istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. Bonferroni: a>b>c Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı temsil etmektedir ($p<0.05$).

Şekil-5'te protokol gruplarına göre FSH, LH, E2, AMH ve AFC ortalamalarının grafiği verildi.



Şekil- 5: Protokol gruplarına göre FSH, LH, E2, AMH ve AFC ortalamalarının grafiği

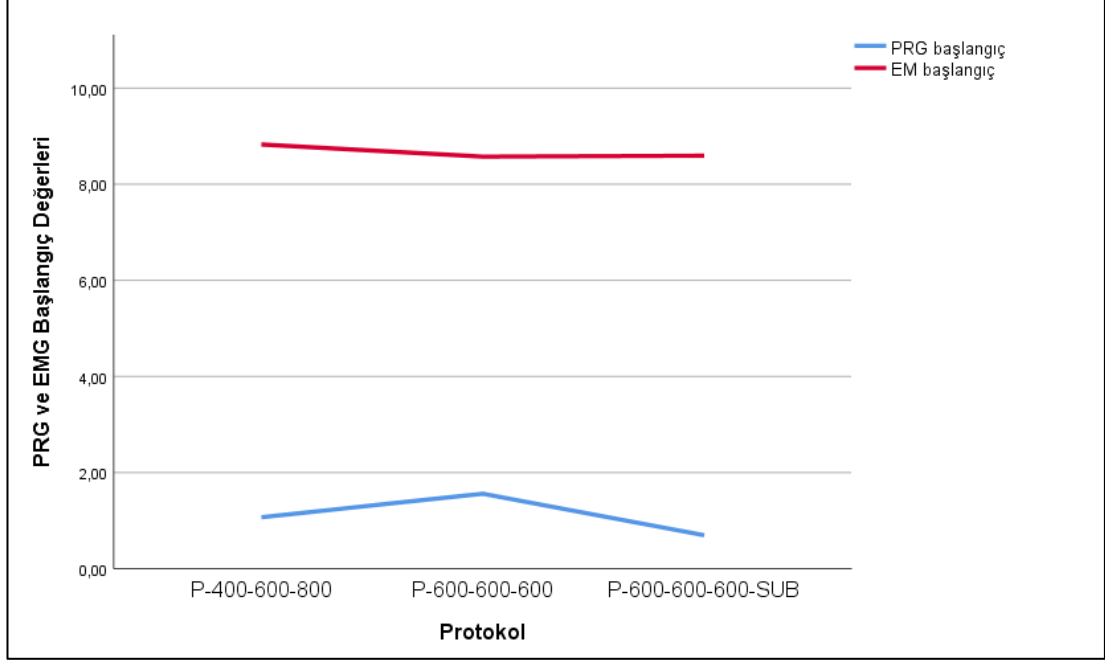
Tablo-4'e göre protokol grupları arasında luteal faz destek başlangıç günü ölçülen serum progesteron ve endometrium kalınlıkları bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$). Olgular progesteron ve endometrium kalınlıkları bakımından protokol gruplarında homojen dağılmaktadır.

Tablo- 4: Tablo- 4: Protokol gruplarına göre luteal faz destek başlangıç günü serum progesteron ve endometrium kalınlıklarının karşılaştırması

	Protokol			Test istatistikleri [¥]	
	Grup1 n=67	Grup2 n=95	Grup3 n=75	F	p
PRG					
Ort±ss	1.07±2.86	1.56±3.55	0.70±2.33	1.75	0.176
M (min-max)	0.1(0.1-15.2)	0.1(0.1-15)	0.2(0.1-13.7)		
EM					
Ort±ss	8.83±1.73	8.57±1.87	8.59±2.05	0.40	0.670
M (min-max)	9(5.5-13.7)	8.1(4-13)	8.5(4-14)		

[¥]Tek Yönlü ANOVA. Tanımlayıcı istatistikler *ortalama ± standard sapma* olarak verildi. Koyu işaretli alanlar istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. Bonferroni: a>b>c Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı temsil etmektedir ($p<0.05$).

Şekil-6'da protokol gruplarına göre PRG başlangıç ve EM başlangıç ortalamalarının grafiği verilmiştir.



Şekil- 6: Protokol gruplarına göre luteal destek başlama günü ölçülen serum progesteron ve endometrial kalınlıklarının ortalamaları

Tablo-5'te serum progesteron ve endometrium kalınlık ölçümlerinin protokol gruplarına göre , luteal faz destek başlangıç günü, embriyo transfer günü ve transferden 7 gün sonrasındaki ölçümlerinin karşılaştırılması sonuçları sunuldu:

Tablo- 5:Serum progesteron ve endometrial kalınlıklarının protokol gruplarına göre luteal destek başlama günü(B), embriyo transfer günü(T) ve embriyo transferinden 7 gün sonrası(T+7) değerlerinin karşılaştırılması

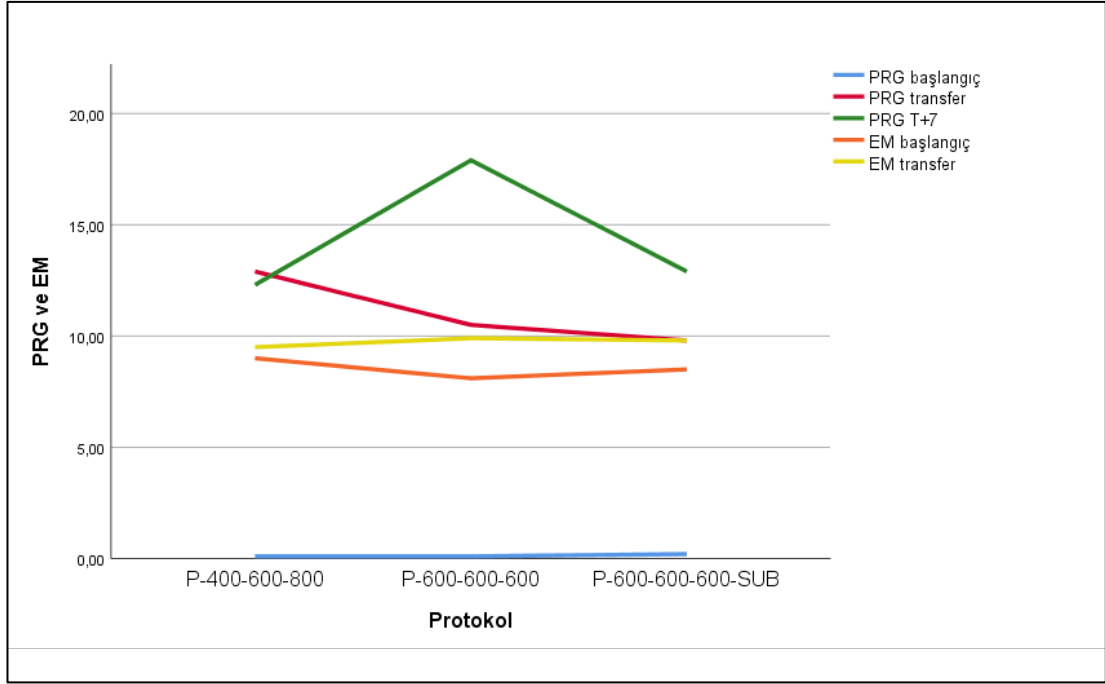
	Zaman			Test istatistikleri ^{&}	
	Başlangıç (B) M(min-maks)	Transfer (T) M(min-maks)	T+7 M(min-maks)	B-T p	B-T+7 p
PRG					
Grup 1 (n=67)	0.10(0.10-15.2)	12.9(6.6-24.5)	12.30(3.70-75.90)	<0.001	<0.001
Grup 2 (n=95)	0.10(0.10-15.0)	10.5(0.20-25.9)	17.90(0.20-68.90)	<0.001	<0.001
Grup 3 (n=75)	0.20(0.10-13.7)	9.8(3.0-25.5)	12.9(2.6-45.0)	<0.001	<0.001
EM					
Grup 1 (n=67)	9.0(5.5-13.7)	9.5(6.0-13.9)		<0.001	
Grup 2 (n=95)	8.1(4-13)	9.9(4-18.5)		<0.001	
Grup 3 (n=75)	8.5(4.0-14.0)	9.8(5.0-18.0)		<0.001	

[&] Wilcoxon İşaretili Sıralar Testi. Tanımlayıcı istatistikler *medyan(min-maks)* olarak verildi. Koyu işaretli alanlar istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

Tüm protokol grupları için luteal destek başlama günü ,embriyo transfer günü ve transferden sonraki 7. gün sonraki serum progesteron değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p<0.001$). Progesteronun başlangıç değerine göre embriyo transfer zamanı ve transferden 7. gün değerlerinde artış vardı.

Tüm protokol grupları için luteal destek başlangıç günü ölçülen endometrium ile embriyo transfer zamanı ölçülen endometrium kalınlıklarının arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p<0.001$). Endometrium kalınlıklarının luteal faz desteği başlama günü, embriyo transfer gününe göre kıyaslandığında transfer günü bakılan değeri artmıştı.

Progesteron ve endometrium kalınlıklarının protokol gruplarına göre luteal destek başlama günü, transfer günü ve transferden 7 gün sonrası medyanlarının karşılaştırılmasına ilişkin grafik Şekil-6'da verildi.



Şekil- 7: Serum progesteron ve endometrium kalınlık değerlerinin protokol gruplarına göre luteal destek başlangıç günü, embriyo transfer günü ve embriyo transferinden 7 gün sonrası medyanlarının karşılaştırılması

Progesteron ve endometrium kalınlığının luteal faz desteği başlangıç gününe göre değişimini belirleyebilmek için artış yüzdeleri hesaplandı. Hesaplama aşağıdaki formül kullanıldı ve karşılaştırma sonuçları Tablo-6'da sunuldu.

$$\% \text{değişim} = \frac{\text{son değer} - \text{ilk değer}}{\text{ilk değer}} * 100$$

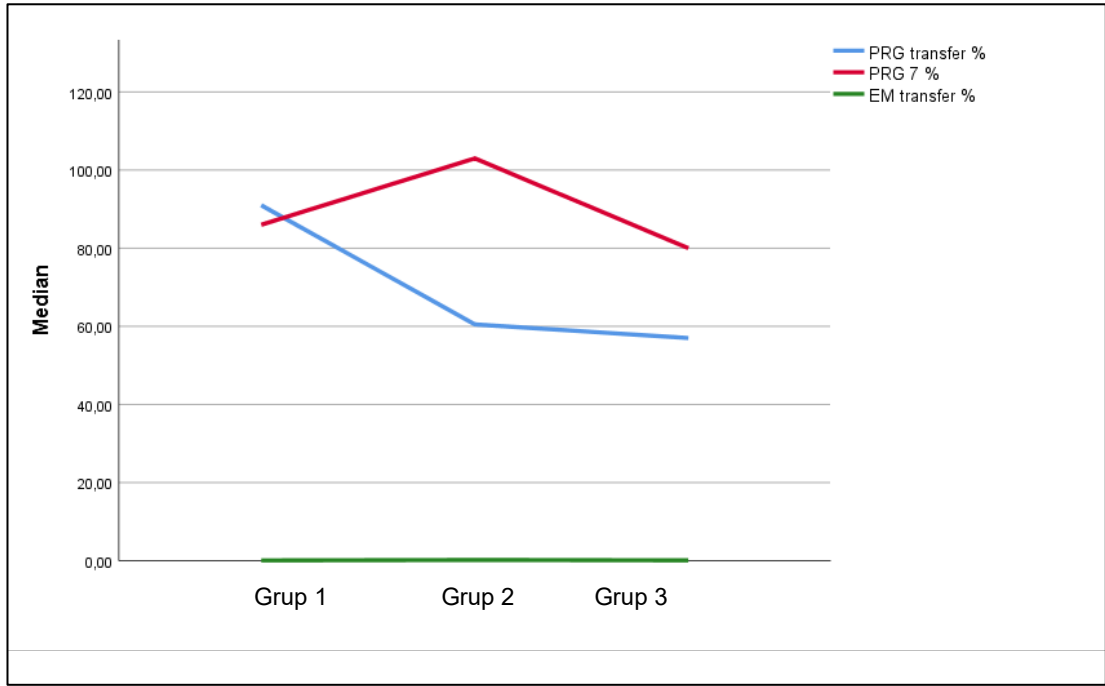
Tablo- 6: Serum progesteron ve endometrium kalınlıklarının yüzde değişimlerinin protokol gruplarına göre karşılaştırılması

	Protokol			Test istatistiği*
	Grup 1 (I) (n=67)	Grup 2 (II) (n=95)	(III) (n=75)	p
PRG transfer % değişim	91(-0.15-244) ^a	60.50(-0.75-232) ^b	57(-0.12-254) ^b	0.009
PRG T+7 % değişim	86(-0.56-378)	103(0.2-596)	80(-0.37-444)	0.293
EM transfer % değişim	0.09(-0.49-1.23)	0.19(-0.33-2.02)	0.11(-0.37-0.75)	0.581

* Bağımsız Örnekler Kruskal-Wallis Testi. Tanımlayıcı istatistikler *medyan(min-maks)* olarak verildi. Koyu işaretli alanlar istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. a>b>c: Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı temsil etmektedir (p<0.05).

Protokol gruplarına göre serum progesteronunun luteal destek başlangıç gününe oranla embriyo transfer yüzde değişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı ($p < 0.05$). Buna göre transfer zamanındaki serum progesteronun artış yüzdesi Grup1'de ,Grup2'den ve Grup3'ten yüksekti.

Protokol gruplarına göre progesteronun başlangıca oranla transfer zamanından 7 gün sonraki yüzdelerik değişimi ve endometrium kalınlığının luteal destek başlangıç gününe oranla embriyo transfer günündeki yüzdelerik değişimlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p > 0.05$). Protokol gruplarına göre progesteron ve endometrium kalınlıklarının % değişim grafikleri Şekil-7'de sunuldu.



Şekil- 8: Protokol gruplarına göre progesteron ve endometrium kalınlıklarının % değişimi

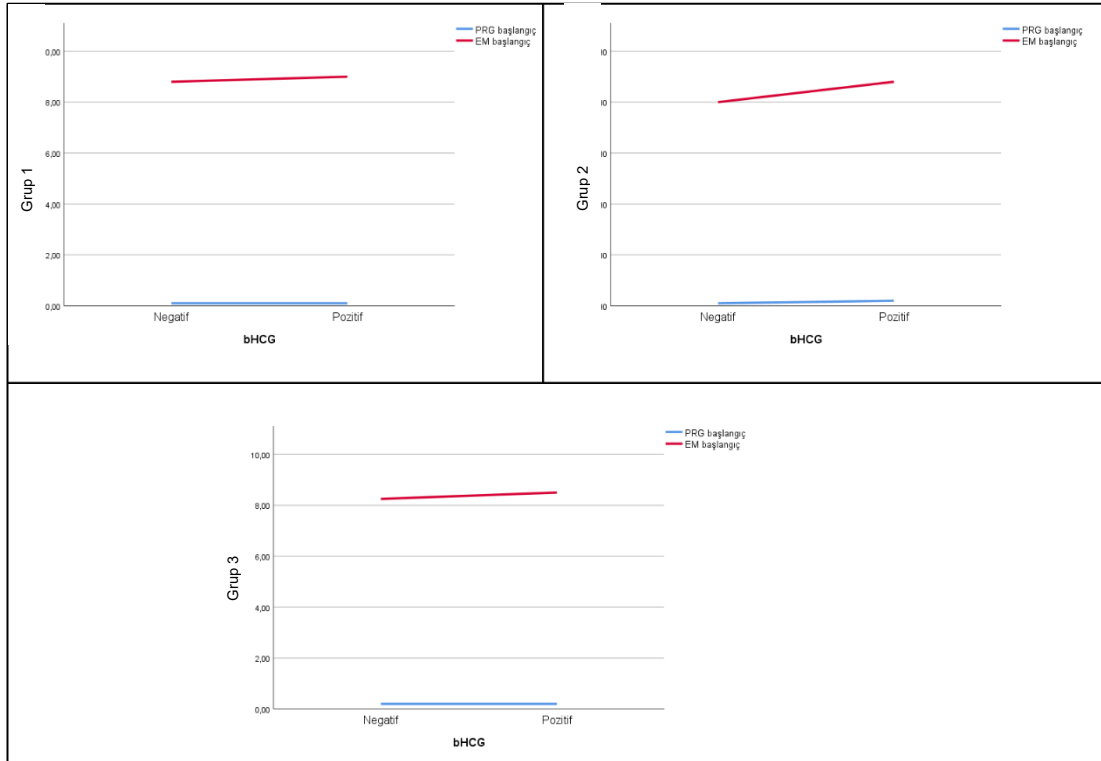
Serum β -hCG pozitif ve β -hCG negatif grupları arasında luteal destek başlangıç günü ölçülen serum progesteron ve endometrium kalınlıklarının protokol gruplarında karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p < 0.05$). Sonuçlar Tablo-7'de sunuldu.

Tablo- 7: Serum β -hCG pozitif ve β -hCG negatif grupları arasında luteal destek başlangıç günü ölçülen serum progesteron ve endometrium kalınlıklarının protokol bazında karşılaştırılması

	Grup		Test istatistiği ^Φ
	β -hCG negatif M(min-maks) (n=25)	β -hCG pozitif M(min-maks) (n=42)	p
P-400-600-800			
PRG Başlangıç	0.10(0.10-12.30)	0.10(0.10-15.20)	0.782
EM Başlangıç	8.8(5.5-13.7)	9(6-12.8)	0.276
P-600-600-600			
PRG Başlangıç	0.10(0.10-12.60)	0.20(0.10-15)	0.458
EM Başlangıç	8(4-12)	8.8(5.6-13)	0.267
P-600-600-600-Sub			
PRG Başlangıç	0.20(0.10-12)	0.20(0.10-13.7)	0.391
EM Başlangıç	8.25(4-14)	8.5(4-13)	0.696

^Φ Mann Whitney-U Testi. Tanımlayıcı istatistikler *medyan(min-maks)* olarak verildi. Koyu işaretli alanlar istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

Serum β -hCG pozitif ve β -hCG negatif grupları arasında luteal destek başlangıç günün ölçülen serum progesteron ve endometrial kalınlık değerlerinin protokol gruplarında karşılaştırılması grafikleri Şekil-8'de verildi



Şekil- 9: β -hCG pozitif ve β -hCG negatif grupları arasında PRG başlangıç ve EM başlangıç değerlerinin protokol gruplarında karşılaştırılması

Progesteron değeri için protokol grupları bazında serum β -hCG negatif ve pozitif olanlarda luteal destek başlangıç günü ile embriyo transfer günü karşılaştırması ve başlangıç ile transferden sonraki 7. gün karşılaştırması bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı ($p<0.001$). Transfer zamanı ve transferden sonraki 7. gün değerlerinde başlangıç değerlerine göre artış gözlendi (Tablo-8)

Endometrium kalınlık değeri için protokol grupları bazında serum β -hCG negatif ve pozitif olanlarda başlangıç ile transfer zamanı bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı ($p<0.05$). Transfer zamanı değerlerinde başlangıç değerlerine göre artış gözlendi (Tablo-8)

Tablo- 8: Protokoller bazında serum β -hCG pozitifliğine göre serum progesteron ve endometrium kalınlıklarının luteal faz desteği başlangıç günü, embriyo transfer günü ve embriyo transferinden sonraki 7. gün değerlerinin karşılaştırılması

Protokol, β -hCG	Zaman			Test istatistikleri ^{&}	
	Başlangıç (B)	Transfer (T)	Transferden 7 gün sonra (T+7)	B-T p	B-T+7 p
Grup 1					
β -hCG negatif (n=25)	0.10(0.10-12.3)	13.6(6.6-24.5)	11.6(3.7-20.9)	<0.001	<0.001
β -hCG pozitif (n=42)	0.10(0.10-15.2)	12.75(7.3-18.8)	12.6(3.7-75.9)	<0.001	<0.001
Grup 2					
PRG β -hCG negatif (n=43)	0.10(0.10-12.6)	9.8(0.20-21.4)	16(0.20-68.9)	<0.001	<0.001
β -hCG pozitif (n=52)	0.20(0.10-15)	11.2(4.6-25.9)	19.75(5.6-59)	<0.001	<0.001
Grup 3					
β -hCG negatif (n=34)	0.20(0.10-12)	9.4(4.2-25.50)	12.55(4.5-36.2)	<0.001	<0.001
β -hCG pozitif (n=41)	0.20(0.10-13.7)	10(3-23.7)	12.9(2.6-45)	<0.001	<0.001
Grup 1					
β -hCG negatif (n=25)	8.8(5.5-13.7)	9.2(6.3-13.9)		0.012	
β -hCG pozitif (n=42)	9(6-12.8)	9.7(6-13.9)		0.008	
Grup 2					
EM β -hCG negatif (n=43)	8(4-12)	9.5(4-18.5)		0.007	
β -hCG pozitif (n=52)	8.8(5.6-13)	10(5.2-17)		<0.001	
Grup 3					
β -hCG negatif (n=34)	8.25(4-14)	9.8(5-16)		0.001	
β -hCG pozitif (n=41)	8.5(4-13)	9.8(5.4-18)		0.001	

[&] Wilcoxon İşaretili Sıralar Testi. Tanımlayıcı istatistikler *medyan(min-maks)* olarak verildi. Koyu işaretili alanlar istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

Protokoller bazında, β -hCG pozitif ve negatif gruplar arasında PRG'nin başlangıca göre transfer zamanı ve transferden sonraki 7. gün yüzde değişimleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0.05$).

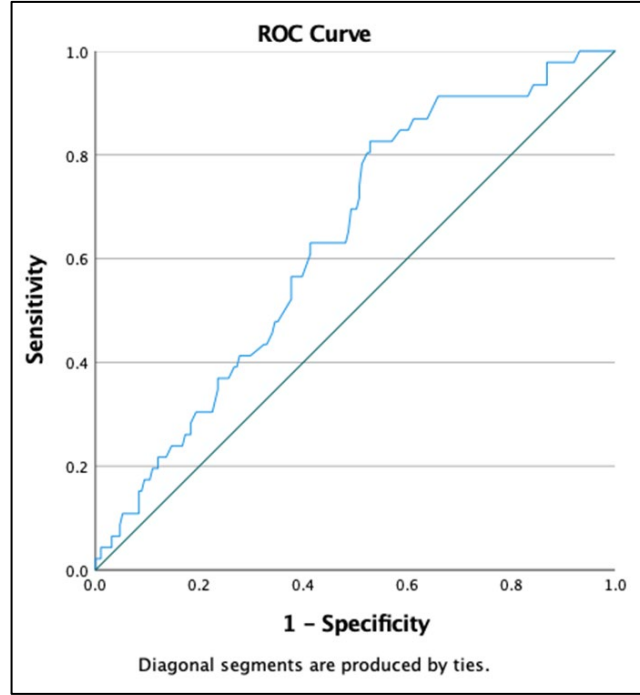
Protokoller bazında, β -hCG pozitif ve negatif gruplar arasında PRG'nin başlangıca göre transfer zamanındaki yüzde değişimleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0.05$). Sonuçlar Tablo-9'da sunuldu.

Tablo- 9: Serum progesteron ve endometrium kalınlıklarının yüzde değişimlerinin protokol grupları bazında serum β -hCG pozitif (biyokimyasal gebelik) ve negatif gruplar arasında karşılaştırılması

	Grup		Test istatistiği ^φ
	β -hCG negatif <i>M(min-maks)</i> (n=25)	β -hCG pozitif <i>M(min-maks)</i> (n=42)	p
Grup 1			
PRG transfer % değişim	91(-0.10-244)	92.50(-0.15-187)	0.577
PRG T+7 % değişim	57(20-208)	95.50(-0.56-378.50)	0.262
EM transfer % değişim	0.06(-0.40-0.74)	0.16(-0.49-1.23)	0.650
Grup 2			
PRG transfer % değişim	66.50(-0.75-213)	56(-0.08-232)	0.537
PRG T+7 % değişim	115(0.02-596)	92.33(0.40-589)	0.776
EM transfer % değişim	0.11(-0.33-2.02)	0.24(-0.29-0.89)	0.624
Grup 3			
PRG transfer % değişim	49(0-254)	72(-0.12-236)	0.253
PRG T+7 % değişim	71.17(0.17-274)	84(-0.37-444)	0.473
EM transfer % değişim	0.11(-0.13-0.63)	0.10(-0.37-0.75)	0.617

^φ Mann Whitney-U Testi. Tanımlayıcı istatistikler *medyan(min-maks)* olarak verildi. Koyu işaretli alanlar istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

Yapılan ROC analizine göre canlı doğumu öngörmek için embriyo transferinin yapıldığı gün progesteron için bildirilen farklı eşik seviyeleri vardı (8,8 ng/ml, 9,2 ng/ml ve 10 ng/ml). %71 duyarlık, %51 özgüllük ve AUC=0.64 değerleri için 10.65 ng/ml PRG değeri kesme noktası olarak belirlendi (Şekil-9).



Şekil- 10: ROC analizi

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamıza literatürlerde tanımlanan ve halihazırda güncel tedavilerde uygulanan; 1. Protokol vajinal yolla progesteron kademeli olarak artan dozlarda 400 mg-600 mg-800 mg şeklinde, 2. Protokol sürekli aynı dozda vajinal 600 mg progesteron ve son olarak 3. Protokol sürekli aynı dozda 600 mg vajinal progesteron ve transfer günü subkutan (ciltaltı) progesteronun (25mg) bir haftalık süre ile eklenmesi şeklinde 3 luteal faz destek protokolü uygulanmış hastalar dahil edildi. Her protokolün kendi içinde luteal faz desteği başlamadan önceki serum progesteron seviyesi ve endometrium kalınlığı ve transfer günü serum progesteronu ve endometrium kalınlıkları ölçülüp kaydedildi.

Çalışmamızın sonuçlarına göre 400 mg -600 mg -800 mg vajinal progesteron, 600 mg vajinal progesteron ve 600 mg vajinal progesterona ek subkutan progesteron protokol grupları arasında serum β -hCG pozitifliği (biyokimyasal gebelik) veya negatifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi. Bu durum, progesteron uygulama dozu ve yolunun, serum β -hCG seviyeleri ile belirlenen ilk gebelik belirtisini etkilemediğini göstermektedir. Bu sonuç, Lockwood ve arkadaşlarının (14) günlük 25 mg subkutan progesteron ve 90 mg vajinal progesteron grupları arasında yaptığı karşılaştırma sonucunda ulaşılan serum β -hCG pozitiflik oranlarında anlamlı bir fark bulmadığı araştırması ile tutarlıdır. Benzer şekilde Yanushpolsky ve arkadaşları (107) tarafından hastalara intramusküler progesteron ve vajinal progesteron olmak üzere 2 farklı protokol uygulanmış, protokoller arasında serum β -hCG pozitifliği(biyokimyasal gebelik) açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

Çalışmamızın bir diğer bulgusuna göre protokoller arasında pozitif veya negatif klinik gebelikleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Doody ve arkadaşları (108) tarafından yapılan araştırmada günde 2 doz 100 mg endometrin, günde 3 doz 100 mg endometrin ve progesteron %8 vajinal jel kullanan gruplar arasında yapılan karşılaştırma sonuçlarında da çalışmamıza paralel şekilde protokoller arasında klinik gebelik yönünden

anlamli farklilik bulunmamıştır. Yanushpolsky ve arkadaşları (107) tarafından intramusküler progesteron ve vajinal progesteron protokolleri arasında yapılan karşılaştırma sonucuna göre de klinik gebelik pozitif ya da negatifliği açısından istatistiksel olarak anlamli farklilik bulunmamıştır. Silverberg ve arkadaşları (109) tarafından yürütölen bir diğer araştırmada da hastalara intramusküler progesteron ve vajinal progesteron olmak üzere 2 farklı protokol uygulanmış, protokol grupları arasında klinik gebelik yönünden istatistiksel olarak anlamli bir fark bulunmamıştır. Simunic ve arkadaşları (110) tarafından vajinal progesteron ve Utrogestan kapsöl grupları arasında yapılan karşılaştırmada da klinik gebelik oranları arasında istatistiksel olarak anlamli farklilik bulunmamıştır. Bu sonuçlar çalışma bulgumuzun literatür ile paralel olduğunu göstermektedir.

Protokol grupları arasında canlı doğum oranları açısından yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamli farklilik bulunmadı. Çalışmamızın bu sonucuna göre progesteron uygulama dozu ve yönteminin gebeliğin canlı doğuma başarılı bir şekilde ilerlemesini etkilememektedir. Yanushpolsky ve arkadaşları (107) tarafından intramusküler progesteron ve vajinal progesteron protokolleri arasında yapılan karşılaştırma sonucuna göre canlı doğum sayısı açısından istatistiksel olarak anlamli farklilik bulunmamıştır. Bu sonuçtan farklı olarak Silverberg ve arkadaşları (109) tarafından intramusküler progesteron ve vajinal progesteron protokol grupları arasında canlı doğum oranları arasında istatistiksel olarak anlamli farklilik görölmüş, intramusküler progesteron protokolü uygulanan hastalarda canlı doğum oranının daha yüksek olduğu bulunmuştur. Zarutskie ve arkadaşları (111) tarafından yapılan meta analiz çalışmasında da vajinal jel kullanan hasta gruplarında intramusküler progesteron kullanan gruba göre canlı doğum oranlarının anlamli bir şekilde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Silverberg ve arkadaşları (109) ve Zarutskie ve arkadaşları (111) araştırmalarından farklı olarak bizim çalışmamızda her üç protokolda de vajinal progesteronun bulunması gösterilebilir.

Çalışmamızın bir diğer basamağında IVF nedenleri (DOR, açıklanamayan, ağır OAT, anovölasyon, DOR+OAT, DOR+Endometriozis ve

tubal faktör) açısından 3 grup arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Bu da IVF endikasyonunun progesteron dozajı ve uygulama yöntemine bağlı olarak sonucu etkilemediği anlamına gelmektedir. Bu sonuç, farklı progesteron takviyesi protokolleri arasında IVF nedenine bağlı olarak gebelik sonuçlarında anlamlı bir fark bulmayan Van der Linden ve arkadaşlarının (6) araştırmasıyla uyumludur. Bununla birlikte Doody ve arkadaşları (108) tarafından yapılan araştırmada günde 2 doz 100 mg endometrin, günde 3 doz 100 mg endometrin ve P4 %8 vajinal jel kullanan gruplar arasında yapılan karşılaştırmada da istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Baker ve arkadaşları (7) tarafından subkutan ve vajinal progesteron kullanan gruplar arasında yapılan karşılaştırmada IVF nedenleri açısından anlamlı farklılık görülmemiştir. Bu sonuçlar çalışmamızın bulgusunu desteklemektedir.

Protokol gruplarımız arasında yaptığımız yaş ve BKİ değerleri karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi. Yanushpolsky ve arkadaşları (107) tarafından yapılan araştırmada da intramusküler progesteron ve vajinal progesteron protokol gruplarında yaş ortalaması yönünden anlamlı farklılık bulunmamıştır. Aynı araştırmada 35 yaş altı hasta oranlarının karşılaştırılmasında da protokoller arasında anlamlı farklılık olmadığı belirlenmiştir. Benzer şekilde Silverberg ve arkadaşları (109) tarafından intramusküler progesteron ve vajinal progesteron protokol grupları arasında yapılan yaş ortalaması karşılaştırmasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Aynı araştırma sonuçlarına göre 40 yaş üstü hastaların oranları açısından da protokoller arasında anlamlı farklılık yoktur. Salehpour ve arkadaşları (112) tarafından yapılan araştırmada ise oral progesteron ve vajinal progesteron kullanımına bağlı olarak hastalar iki gruba ayrılmış ve gruplar arasında BKİ yönünden anlamlı farklılık görülmemiştir. Lockwood ve arkadaşlarının (14) subkutan ve vajinal progesteron kullanan hasta grupları arasında yaptığı karşılaştırma sonucunda da BKİ yönünden anlamlı farklılık bulunmamıştır. Bu sonuçlar çalışma bulgularımızı desteklemektedir.

Çalışmamızın bir diğer bulgusuna göre protokol grupları arasında infertilite süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi. Baker

ve arkadaşları (7) tarafından subkutan ve vajinal progesteron kullanan gruplar arasında yapılan karşılaştırmada çalışmamıza paralel şekilde infertilite süresi açısından gruplar arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır. Zaman ve arkadaşları (113) tarafından intramusküler ve vajinal progesteron kullanan hasta grupları arasında yapılan karşılaştırmada da infertilite süresi bakımından anlamlı farklılık görülmemiştir. Eren (114) tarafından oral didrogesteron ve vajinal progesteron kullanımı arasında yapılan karşılaştırma sonuçlarında da çalışma bulgumuza paralel şekilde gruplar arasında infertilite süresi açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır. Bir diğer araştırmada Simunic ve arkadaşları (110) vajinal progesteron ve Utrogestan kapsül grupları arasında yaptığı karşılaştırmada önceki IVF girişim sayıları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı sonucuna ulaşmıştır.

Çalışmamız kapsamında hastaların FSH ve LH seviyeleri protokol grupları arasında karşılaştırılmış ve gruplar arasında bu iki parametre açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Yanushpolsky ve arkadaşları (107) tarafından intramusküler progesteron ve vajinal progesteron protokolleri arasında yapılan karşılaştırma sonucunda FSH açısından gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığı belirlenmiştir. Bir diğer araştırmada Silverberg ve arkadaşları (109) intramusküler progesteron ve vajinal progesteron protokol grupları arasında FSH açısından anlamlı farklılık olmadığı sonucuna ulaşmıştır. Khan ve arkadaşları (115) tarafından yapılan benzer bir araştırmada da intramusküler progesteron ve vajinal progesteron protokol grupları arasında FSH açısından anlamlı farklılık olmadığı sonucuna ulaşmıştır. Schütt ve arkadaşları (15) tarafından yapılan bir diğer araştırmada ise hastalar subkutan ve vajinal progesteron kullananlar olmak üzere iki gruba ayrılmış ve hastaların FSH+LH toplam değerleri gruplar arasında karşılaştırılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre FSH+LH toplamı için gruplar arasında anlamlı farklılık görülmemiştir. Literatürde yer alan bu araştırmalar bulgularımızı desteklemektedir.

Çalışmamızda hastaların AMH ve AFC değerleri protokol grupları arasında karşılaştırıldı, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi. Kao ve arkadaşları (116) tarafından yapılan bir araştırmada da subkutan ve vajinal

progesteron uygulanan hasta grupları arasında AMH yönünden anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Benzer şekilde Aflatoonian ve arkadaşları (117) tarafından yapılan araştırmada da vajinal ve subkutan progesteron uygulanan hasta grupları arasında AMH yönünden anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Jalaliani ve arkadaşları (118) tarafından yapılan bir araştırmada hastalar iki gruba ayrılmış, ilk gruba vajinal progesteron, ikinci gruba da vajinal+intramusküler progesteron uygulanmış; gruplar arasında AMH yönünden anlamlı farklılık bulunmamıştır. Salehpour ve arkadaşları (119) tarafından yapılan araştırmada ise subkutan ve vajinal progesteron verilen hasta grupları arasında AFC yönünden anlamlı farklılık bulunamamıştır. Bu sonuçlar çalışma bulgumuzun literatüre paralel olduğunu ortaya koymaktadır. Bununla birlikte E2 değerleri açısından protokol gruplarımız arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi. Literatürde subkutan ve vajinal progesteron grupları arasında E2 düzeyini karşılaştıran herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Ancak, Turgut ve arkadaşları (120) tarafından intramusküler ve subkutan progesteron grupları arasında yapılan karşılaştırma sonucunda E2 ortalamasının subkutan verilen hasta grubunda daha yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Çalışmamızın bir diğer basamağında progesteron düzeyi ve luteal destek başlangıç günün ölçülen endometrium kalınlığı , embriyo transfer günü(T) ölçülen endometrium ve embriyo transferinden 7 gün sonra (T+7) ölçülen endometrium kalınlığı için ayrı ayrı kaydedildi. Luteal destek başlangıç günü ölçülen serum progesteron seviyesi ve endometrium kalınlığının ortalamaları protokol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi. Devine ve arkadaşları (121) tarafından intramusküler progesteron, vajinal progesteron ve intramusküler+vajinal progesteron grupları arasında tedavi öncesi maksimum endometrium kalınlığı yönünden anlamlı farklılık bulunmamıştır. Benzer şekilde Aflatoonian ve arkadaşları (117) tarafından yapılan araştırmada da vajinal ve subkutan progesteron uygulanan hasta grupları arasında endometrium kalınlığı yönünden anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Bu sonuç protokoller için yapılan gruplandırmanın homojen olduğunu göstermektedir.

Hastalarımızın luteal destek başlangıç günü ,embriyo transfer günü ve transferden 7 gün sonra ölçülen progesteron seviyeleri arasında her protokol için ayrı ayrı karşılaştırdığımızda progesteron düzeylerinin her üç protokol grubunda da embriyo transfer günü ve transferden 7 gün sonraki ölçülen zamanlarında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği sonucuna ulaşıldı. Bununla birlikte her protokol için hastalar serum β -hCG pozitif ve serum β -hCG negatif olarak iki ayrı gruba ayrılarak analizler tekrarlandığında da hem serum β -hCG pozitif hem de serum β -hCG negatif gruplarında tüm protokoller için embriyo transfer günü ve transferden 7 gün sonraki zamanlarda ölçülen serum progesteronun başlangıca göre arttığı belirlendi. Diğer taraftan protokol grupları arasındaki progesteron değişimini gruplar arasında karşılaştırabilmek için transfer günü ve transferden 7 gün sonraki zamanlarda ölçülen progesteron değerlerinin başlangıca göre değişimi yüzde olarak alındı. Yaptığımız karşılaştırma sonucunda transfer zamanındaki değişimin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde farklılaştığı sonucuna ulaşıldı. Buna göre Grup 1 (P-400-600-800) protokolündeki yüzde değişim diğer iki protokolden anlamlı bir şekilde yüksekti. Diğer taraftan transferden 7 gün sonraki, başlangıca göre yüzde değişim açısından protokol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu. Serum β -hCG pozitif ve serum β -hCG negatifliğine göre oluşturulan gruplar arasında progesteron düzeyindeki başlangıca göre yüzdelerik değişimin her protokol için ayrı ayrı yapılan karşılaştırılmasında anlamlı farklılıklar görülmedi. Kao ve arkadaşları (116) tarafından yapılan araştırmada subkutan progesteron ve vajinal progesteron uygulanan hasta grupları arasında mid-luteal zamanında ve embriyo transferinden 4 hafta sonra yapılan progesteron ölçümleri açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Endometrium kalınlığı açısından da hastalarımızın başlangıç ve transfer zamanlarındaki ölçümleri her protokol içinde ayrı ayrı karşılaştırıldı ve her üç protokole de transfer zamanında başlangıca göre endometrium kalınlığının arttığı belirlendi. Bununla birlikte her protokol için hastalar serum β -hCG pozitif ve serum β -hCG negatif olarak iki ayrı gruba ayrılarak analizler tekrarlandığında da hem β -hCG pozitif hem de β -hCG negatif gruplarında tüm

protokoller için transfer zamanında başlangıca göre endometrium kalınlığının arttığı belirlendi. Diğer taraftan protokol grupları arasındaki endometrium kalınlığı değişimini gruplar arasında karşılaştırabilmek için transfer zamanındaki endometrium kalınlığının başlangıca göre değişimi yüzde olarak alındı. Yapılan karşılaştırmalarda endometrium kalınlığına etki açısından protokoller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı belirlendi. Serum β -hCG pozitif ve serum β -hCG negatifliğine göre oluşturulan gruplar arasında endometrium kalınlığındaki yüzdelik değişimin her protokol için ayrı ayrı yapılan karşılaştırılmasında anlamlı farklılıklar görülmedi. Literatürde endometrium kalınlığının değişimini subkutan ve vajinal progesteron kullanan hastalar arasında karşılaştıran herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Ancak, Kınay ve arkadaşları (122) tarafından yapılan bir araştırmada hastalar 2 gruba ayrılmış, bir gruba vajinal progesteron uygulanırken, diğer gruba uygulanmamıştır. Araştırma sonuçlarına göre embriyo transferinin 7-9. günlerinde vajinal progesteron alan hastaların endometrium kalınlıklarının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Eren (114) tarafından oral progesteron ve vajinal progesteron kullanan hastalar arasında yapılan karşılaştırmada embriyo transfer gününde gruplar arasında endometrium kalınlığı açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır. Başka bir çalışmada Pekcan ve arkadaşları (123) ovulasyon indüksiyonu yapılan hastalarda luteal faz desteği için tek doz vajinal progesteron verilen grup ile oral mikronize progesteron verilen hastalar olarak iki gruba ayrılmış ve gruplar arasında gruplar arasında endometrium kalınlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemişlerdir.

Çalışmamızın bir başka sonucuna göre canlı doğumu öngörmek için embriyo transferinin yapıldığı gün progesteron için bildirilen farklı eşik seviyeleri vardı (8,8 ng/ml, 9,2 ng/ml ve 10 ng/ml). Sonuçlarımız yapılan karşılaştırmada ROC eğri analizine göre anlamlı bulundu (10.65 ng/ml), düşük serum progesteron düzeylerinin FET başarı oranlarına zarar verebileceğine dair mevcut kanıtlara benzerdi (124). Bununla birlikte, serum progesteron düzeyleri ile farklı progesteron yolları ve dozları arasındaki ilişkinin doğrusal olmadığı görülmektedir. Progesteron yollarının farklı türleri ve dozları, farklı

progesteron salınım modelleri sergileyebilir. Sistemik serum progesteron ölçümleri, her bir luteal faz desteği progesteron uygulama rejimine karar vermeyi tam olarak temsil edemez.

Sonuç olarak, toplam 237 hastanın dahil edildiği bu çalışmada, Grup 1'de yer alan 67 hastanın medyan serum progesteron düzeyleri diğer gruplardan önemli ölçüde yüksekti [Sırasıyla ; 12.9 ng/ml (6.6-24.5), 10.5 ng/ml (0.20-25.9), 9.8 ng/ml (3-25.5), $p < 0.01$]. Canlı doğum oranları (CDO) ise gruplar arasında benzerdi (Sırasıyla; %37, %34.8, %28.3, $p = 0.345$). ROC analizi, embriyo transfer günündeki progesteron düzeyi ile CDO arasında anlamlı bir ilişki olduğunu gösterdi (Eğri altındaki alan: 0.65, $p = 0.004$) ve canlı doğumu tahmin etmek için progesteron eşiği 10.65 ng/ml olarak belirlendi (%71 duyarlılık ve %51 özgüllük).

Bilinmektedir ki, düşük serum progesteron seviyeleri (< 10 ng/ml), vajinal progesteron ile luteal faz desteği uygulanan FET sikluslarında azalmış canlı doğum ile ilişkilidir. Bununla birlikte, FET sikluslarında farklı progesteron uygulama yolları luteal faz desteği protokolleri ile serum progesteron seviyeleri arasındaki ilişki konusunda belirsizlik vardır. Embriyo transferi gününde serum progesteron seviyesi 10,65 ng/ml'den yüksek olanlar, progesteron rejiminden bağımsız olarak daha yüksek canlı doğum oranları ile ilişkilidir.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization. Infertility prevalence estimates: 1990–2021. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/366700/9789240068315-eng.pdf> adresinden 10.05.2023 tarihinde alındı
2. Hugh ST, Lubna P, Emre S. Speroff's Clinical gynecologic endocrinology and infertility. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2020.
3. Çakır Köle, M. Donmuş embriyo transferi yapılan hastalarda serum 25-ohvitamin d düzeylerinin gebelik sonuçlarına etkisi. Yayımlanmamış Tıpta Uzmanlık Tezi. Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2017.
4. Fatemi HM. The luteal phase after 3 decades of IVF: what do we know? *Reprod Biomed Online* 2009;19 Suppl 4:4331
5. Yanushpolsky EH, Hurwitz S, Greenberg L, Racowsky C, Hornstein M. Crinone vaginal gel is equally effective and better tolerated than intramuscular progesterone (IMP) for luteal phase progesterone support in IVF cycles: a prospective randomized study. *Fertility and Sterility*. 2009 Sep 1;92(3):S243.
6. van der Linden M, Buckingham K, Farquhar C, Kremer JA, Metwally M. Luteal phase support for assisted reproduction cycles. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;(10):CD009154.
7. Baker VL, Jones CA, Doody K, Foulk R, Yee B, Adamson GD, Cometti B, DeVane G, Hubert G, Trevisan S, Hoehler F. A randomized, controlled trial comparing the efficacy and safety of aqueous subcutaneous progesterone with vaginal progesterone for luteal phase support of in vitro fertilization. *Human reproduction*. 2014 Oct 10;29(10):2212-20.
8. Doblinger J, Cometti B, Trevisan S, Griesinger G. Subcutaneous progesterone is effective and safe for luteal phase support in IVF: an individual patient data meta-analysis of the phase III trials. *PLoS One* 2016;11:e0151388.
9. de Ziegler D, Sator M, Binelli D, Leuratti C, Cometti B, Bourgain C, et al. A randomized trial comparing the endometrial effects of daily

subcutaneous administration of 25 mg and 50 mg progesterone in aqueous preparation. *Fertil Steril* 2013;100:860–6.

10. Venturella R, Vaiarelli A, Buffo L, D'alessandro P, Colamaria S, Pedri S, et al. Progesterone for preparation of the endometrium for frozen-thawed blastocyst transfer in vitro fertilization cycles: a prospective study on patients' opinions on a new subcutaneous formulation. *Gynecol Endocrinol* 2018;34:766–71.

11. Check JH. Luteal phase support in assisted reproductive technology treatment: focus on Endometrin(R) (progesterone) vaginal insert. *Ther Clin Risk Manag* 2009;5:403–7.

12. Vaisbuch E, Leong M, Shoham Z. Progesterone support in IVF: is evidence-based medicine translated to clinical practice? A worldwide web-based survey. *Reprod Biomed Online* 2012;25:139–45

13. Penzias AS. Luteal phase support. *Fertility and sterility*. 2002 Feb 1;77(2):318-23.

14. Lockwood G, Griesinger G, Cometti B, de Placido G, Alviggi C, Ranieri A, Strina I, Papaleo E, Molgora M, Genazzani AR, Artini P. Subcutaneous progesterone versus vaginal progesterone gel for luteal phase support in in vitro fertilization: a noninferiority randomized controlled study. *Fertility and Sterility*. 2014 Jan 1;101(1):112-9.

15. Schütt M, Nguyen TD, Kalff-Suske M, Wagner U, Macharey G, Ziller V. Subcutaneous progesterone versus vaginal progesterone for luteal phase support in in vitro fertilization: A retrospective analysis from daily clinical practice. *Clinical and experimental reproductive medicine*. 2021 Sep;48(3):262.

16. Sherman BM, Korenman SG. Hormonal characteristics of the human menstrual cycle throughout the reproductive life. *Obstet Gynecol Surv*. 1975;30(8):541-543.

17. Başer, Ü. Menstruel siklusun dişeti üzerine etkileri. Yayınlanmamış doktora tezi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 20008.

18. Welt CK, Martin KA, Taylor AE, Lambert-Messerlian GM, Crowley WF, Smith JA, et al. Frequency modulation of follicle-stimulating hormone (FSH) during the luteal-follicular transition: evidence for FSH control of inhibin B in normal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(8):2645-52.
19. Welt CK, McNicholl DJ, Taylor AE, Hall JE. Female reproductive aging is marked by decreased secretion of dimeric inhibin. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(1):105-111. doi:10.1210/jcem.84.1.5381
20. Kissell KA, Danaher MR, Schisterman EF, Wactawski-Wende J, Ahrens KA, Schliep K, et al. Biological variability in serum anti-Mullerian hormone throughout the menstrual cycle in ovulatory and sporadic anovulatory cycles in eumenorrheic women. *Hum Reprod.* 2014;29(8):1764-72. doi:10.1093/humrep/deu142
21. Adams JM, Taylor AE, Schoenfeld DA, Crowley WF, Hall JE. The midcycle gonadotropin surge in normal women occurs in the face of an unchanging gonadotropin-releasing hormone pulse frequency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;79(3):858-864. doi:10.1210/jcem.79.3.7521353
22. Richards JS. Hormonal control of gene expression in the ovary. *Endocr Rev.* 1994;15(6):25-751.
23. Barry-Kinsella C, Sharma SC, Cottell E, Harrison RF. Mid to late luteal phase steroids in minimal stage endometriosis and unexplained infertility. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* 1994 Apr 1;54(2):113-8.
24. Tavaniotou A, Smitz J, Bourgain C, Devroey P. Comparison between different routes of progesterone administration as luteal phase support in infertility treatments. *Human Reproduction Update.* 2000 Mar 1;6(2):139-48.
25. Adamson GD, De Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, Sullivan E. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART. *Fertil Steril.* 2009;92(5):1520-24.

26. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Diagnostic evaluation of the infertile female: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2015;103(6):e44-e50.
27. Boivin J, Griffiths E, Venetis CA. Emotional distress in infertile women and failure of assisted reproductive technologies: meta-analysis of prospective psychosocial studies. *Hum Reprod*. 2011;26(3):709-18.
28. Urman B, Yakin K. The new Turkish legislation on assisted reproductive techniques and centers; a step forward in the right direction? *Reprod BioMed Online*. 2010;21(6):729.
29. Wang X, Chen C, Wang L, Chen D, Guang W, French J, Health R, Group S. Conception, early pregnancy loss, and time to clinical pregnancy: a population-based prospective study. *Fertil Steril*. 2003;79(3):577-84.
30. Gnoth C, Godehardt D, Godehardt E, Freundl G. Time to pregnancy: results of the German prospective study and impact on the management of infertility. *Fertil Steril*. 2003;79(4):1959-1966.
31. Slama R, Hansen OK, Ducot B, Bohet A, Sorensen D, Allemand H, et al. Estimation of the frequency of involuntary infertility on a nationwide basis. *Hum Reprod*. 2012;27(5):1489-98.
32. Voorhis BJ. Technology. *Fertil Steril*. 2007;107(1):183-200.
33. Maheshwari A, Hamilton M, Bhattacharya S. Effect of female age on the diagnostic categories of infertility. *Hum Reprod*. 2008;23(3):538-42.
34. Miller JH, Weinberg RK, Canino NL, Klein NA, Soules MR. The pattern of infertility diagnoses in women of advanced reproductive age. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;181(4):952-7.
35. Bostofte E, Serup J, Rebbe H. Fertility prognosis for infertile couples. *Fertil Steril*. 1993;59(1):102-7.
36. Snick HK, Snick TS, Evers JL, Collins JA. The spontaneous pregnancy prognosis in untreated subfertile couples: the Walcheren primary care study. *Hum Reprod*. 1997;12(7):1582-8.
37. Collins JA, Burrows EA, Wilan AR. The prognosis for live birth among untreated infertile couples. *Fertil Steril*. 1995;64(1):22-8.

38. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2013;99(1):63.
39. Huang JY, Rosenwaks Z. Assisted reproductive techniques. *Human fertility: methods and protocols*. 2014:171-231.
40. Choe J, Archer JS, Shanks AL. In vitro fertilization. *StatPearls [Internet]*. 2020.
41. Hoffman BL, Schorge JO, Schaffer JI, Halvorson LM, Bradshaw KD, Cunningham FG. *Williams Obstetrics*. 25th ed. McGraw-Hill Education; 2018.
42. Hotun Şahin N, Bilgiç D. İnfertilite. In: Kızılkaya Beji N, ed. *Kadın Sağlığı ve Hastalıkları*. 1st ed. Nobel Tıp Kitabevi; 2015:113, 16.
43. Klonoff-Cohen H. Female and male lifestyle habits and IVF: what is known and unknown. *Hum Reprod Update*. 2005;11(2):180-204.
44. Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology*. Elsevier Health Sciences; 2018.
45. Chandra A, Copen CE, Stephen EH. Infertility service use in the United States: data from the National Survey of Family Growth, 1982-2010. US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention; 2014.
46. Sadler TW, Langman J. *Medical Embryology*. 14th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2017:4-7.
47. Rani K, Saurabh Paliwal S. Brief review on in-vitro fertilization (IVF): An advanced and miraculous gateway for infertility treatments. *World J Pharm Pharm Sci*. 2014;3(5):647-58.
48. Adamson GD, de Mouzon J, Chambers GM, Zegers-Hochschild F, Mansour R, Ishihara O, Banker M, Dyer S. *World Report on ART, 2014 and The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017*. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies (ICMART). ESHRE 2018 conference proceedings; July 1-4, 2018: Barcelona, Spain.
49. Partovi Meran HE, Kızılkaya Beji N. İnfertilite hemşireliğinin tarihçesi. *Androloji Bülteni*. 2016;18(2):60-4.

50. Ahmad G, Watson A, Vandekerckhove P, Lilford R. Techniques for pelvic surgery in subfertility. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006 Apr 19;(2):CD000221.
51. Abrao MS, Muzii L, Marana R. Anatomical causes of female infertility and their management. *Int J Gynaecol Obstet.* 2013 Dec;123 Suppl 2:18-24.
52. Marcoux S, Maheux R, Bérubé S; Canadian Collaborative Group on Endometriosis. Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis. *N Engl J Med.* 1997;337(4):217-22.
53. Meuleman C, Vandenabeele B, Fieuws S, Spiessens C, Timmerman D, D'Hooghe T. High prevalence of endometriosis in infertile women with normal ovulation and normospermic partners. *Fertil Steril.* 2009;92(1):68-74.
54. Paulson RJ, Sauer MV, Francis MM, Macaso TM, Lobo RA. A prospective controlled evaluation of TEST-yolk buffer in the preparation of sperm for human in vitro fertilization in suspected cases of male infertility. *Fertil Steril.* 2002;58(3):551-55.
55. van Rooij IA, Bancsi LF, Broekmans FJ, Looman CW, Habbema JD, te Velde ER. Women older than 40 years of age and those with elevated follicle-stimulating hormone levels differ in poor response rate and embryo quality in in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2003;79(3):482-88.
56. Spandorfer SD, Bendikson KA, Dragisic KG, Schattman GL, Davis OK, Rosenwaks Z. Outcome of in vitro fertilization in women 45 years and older who use autologous oocytes. *Fertil Steril.* 2007;87(1):74-76.
57. Bancsi LF, Broekmans FJ, Mol BW, Habbema JD, te Velde ER. Performance of basal follicle-stimulating hormone in the prediction of poor ovarian response and failure to become pregnant after in vitro fertilization: a meta-analysis. *Fertil Steril.* 2003;79(5):1091-100.
58. Martin JS, Nisker JA, Tummon IS, Daniel SA, Auckland JL, Feyles V. Future in vitro fertilization pregnancy potential of women with variably elevated day 3 follicle-stimulating hormone levels. *Fertil Steril.* 2006;86(1):1238-40.

59. Taylor AE, Khoury RH, Crowley WF Jr. A comparison of 13 different immunometric assay kits for gonadotropins: implications for clinical investigation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;79(1):240-7.
60. Licciardi FL, Liu HC, Rosenwaks Z. Day 3 estradiol serum concentrations as prognosticators of ovarian stimulation response and pregnancy outcome in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 1995;64(5):991-94.
61. Mol BW, Verhagen TE, Hendriks DJ, et al. Value of ovarian reserve testing before IVF: a clinical decision analysis. *Hum Reprod.* 2006;21(7):1816-23.
62. Johnson N, van Voorst S, Sowter MC, Strandell A, Mol BW. Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo in vitro fertilisation. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;(1):CD002125.
63. Fan M, Ma L. Effect of salpingectomy on ovarian response to hyperstimulation during in vitro fertilization: a meta-analysis. *Fertil Steril.* 2016;106(2):322-29.
64. Fuentes A, Muñoz A, Barnhart K, et al. Recent cigarette smoking and assisted reproductive technologies outcome. *Fertil Steril.* 2010;93(1):89-95.
65. Verstraelen H, Vilchez-Vargas R, Desimpel F, et al. Characterization of the human uterine microbiome in non-pregnant women through deep sequencing of the V1-2 region of the 16S rRNA gene. *PeerJ.* 2016;4:e1602.
66. Palshetkar N, Pai HD. *Newer Trends in ART.* Jaypee Brothers Medical Publishers; 2019 Jun 30.
67. Li DK, Liu L, Odouli R. Exposure to non-steroidal anti-inflammatory drugs during pregnancy and risk of miscarriage: population-based cohort study. *BMJ.* 2003;327(7411):68.
68. Nguyen KH, Alper MM. Pre IVF evaluation of the infertile woman. *In Vitro Fertilization: A Comprehensive Guide.* 2012:1-5.
69. Bakos HW, Henshaw RC, Mitchell M, Lane M. Paternal body mass index is associated with decreased blastocyst development and reduced live

birth rates following assisted reproductive technology. *Fertil Steril*. 2011;95(5):1700-04.

70. Benaglia L, Somigliana E, Santi G, Scarduelli C, Ragni G, Fedele L. IVF and endometriosis-related symptom progression: insights from a prospective study. *Human Reproduction*. 2011 Sep 1;26(9):2368-72.

71. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. WHO Press; 2010.

72. Jordan J, Craig K, Clifton DK, Soules MR. Luteal phase defect: the sensitivity and specificity of diagnostic methods in common clinical use. *Fertil Steril*. 1994;62(1):54-62.

73. Lin MH, Hwu YM, Lin SY, Lee RK. Treatment of infertile women with unilateral tubal occlusion by intrauterine insemination and ovarian stimulation. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2013 Sep 1;52(3):360-4.

74. Ayida G, Kennedy S, Barlow D, Chamberlain P. Contrast sonography for uterine cavity assessment: a comparison of conventional two-dimensional with three-dimensional transvaginal ultrasound; a pilot study. *Fertility and sterility*. 1996 Nov 1;66(5):848-50.

75. Hershko-Klement A, Tepper R. Ultrasound in assisted reproduction: a call to fill the endometrial gap. *Fertility and sterility*. 2016 Jun 1;105(6):1394-402.

76. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Human reproduction update*. 2006 Dec 1;12(6):685-718.

77. Broer SL, Mol BW, Hendriks D, Broekmans FJ. The role of antimullerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertility and sterility*. 2009 Mar 1;91(3):705-14.

78. Matorras R, Rabanal A, Prieto B, Diez S, Brouard I, Mendoza R, Exposito A. Hysteroscopic hydrosalpinx occlusion with Essure device in IVF patients when salpingectomy or laparoscopy is contraindicated. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2013 Jul 1;169(1):54-9.

79. Palomba S, Santagni S, La Sala GB. Progesterone administration for luteal phase deficiency in human reproduction: an old or new issue?. *Journal of Ovarian Research*. 2015 Nov 19;8(1):77.
80. Boutzios G, Karalaki M, Zapanti E. Common pathophysiological mechanisms involved in luteal phase deficiency and polycystic ovary syndrome. Impact on fertility. *Endocrine*. 2013 Apr;43:314-7.
81. Usadi RS, Groll JM, Lessey BA, Lininger RA, Zaino RJ, Fritz MA, Young SL. Endometrial development and function in experimentally induced luteal phase deficiency. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2008 Oct 1;93(10):4058-64.
82. Orhan N. İntrauterin İnseminasyon Sikluslarında Ovulasyonun Tetiklenmesinden 5 ve 7 Gün Sonra Ölçülen Serum Progesteron Düzeylerinin Devam Eden Gebelik Oranı Üzerine Etkisinin Araştırılması, 2021.
83. Murray MJ, Meyer WR, Zaino RJ, Lessey BA, Novotny DB, Ireland K, et al. A critical analysis of the accuracy, reproducibility, and clinical utility of histologic endometrial dating in fertile women. *Fertil Steril*. 2004;81(5):1333-43.
84. Coutifaris C, Myers ER, Guzick DS, Diamond MP, Carson SA, Legro RS, et al. Histological dating of timed endometrial biopsy tissue is not related to fertility status. *Fertil Steril*. 2004;82(5):1264-72.
85. Fritz MA, Speroff L. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. 8th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2011:1331-82.
86. Propst AM, Hill JA, Gingsburg ES, Hurwitz S, Politch J, et al. A randomized study comparing Crinone %8 and intramuscular progesterone supplementation in in vitro fertilization embryo transfer cycles. *Fertil Steril*. 2001;76(6):1144.
87. Pabuçcu E, Pabuçcu R, Gürgan T, Tavmergen E. Luteal phase support in fresh and frozen embryo transfer cycles. *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction*. 2020 Dec 1;49(10):101838.
88. Greenbaum S, Athavale A, Hershko Klement A, Bentov Y. Luteal phase support in fresh and frozen embryo transfers. *Frontiers in Reproductive Health*. 2022 Jul 19;4:919948.

89. Navot D, Scott RT, Droesch K, Veeck LL, Liu HC, Rosenwaks Z. The window of embryo transfer and the efficiency of human conception in vitro. *Fertil Steril* 1991;55:114–8.
90. Bjuresten K, Landgren BM, Hovatta O, Stavreus-Evers A. Luteal phase progesterone increases live birth rate after frozen embryo transfer. *Fertil Steril* 2011;95:534–7.
91. Veleva Z, Orava M, Nuojua-Huttunen S, Tapanainen JS, Martikainen H. Factors affecting the outcome of frozen-thawed embryo transfer. *Hum Reprod* 2013;28:2425–31.
92. Casper RF, Yanushpolsky EH. Optimal endometrial preparation for frozen embryo transfer cycles: window of implantation and progesterone support. *Fertil Steril* 2016;105(April 4):867–72.
93. Seol A, Shim YJ, Kim SW, Kim SK, Lee JR, Jee BC, et al. Effect of luteal phase support with vaginal progesterone on pregnancy outcomes in natural frozen embryo transfer cycles: a meta-analysis. *Clin Exp Reprod Med* 2020(April 22).
94. Groenewoud ER, Cantineau AEP, Kollen BJ, Macklon NS, Cohlen BJ. What is the optimal means of preparing the endometrium in frozen-thawed embryo transfer cycles? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2013;19:458–70.
95. Versen-Höynck F, Schaub AM, Chi YY, Chiu KH, Liu J, Lingis M, et al. Increased preeclampsia risk and reduced aortic compliance with in vitro fertilization cycles in the absence of a Corpus luteum. *von Hypertension* 2019;73(March 3):640–9.
96. Haddad G, Sagan DA, Maxwell R, Thomas MA. Intramuscular route of progesterone administration increases pregnancy rates during nondownregulated frozen embryo transfer cycles. *J Assist Reprod Genet* 2007;24:467–70.
97. Kaser DJ, Ginsburg ES, Missmer SA, Correia KF, Racowsky C. Intramuscular progesterone versus 8% Crinone vaginal gel for luteal phase support for day 3 cryopreserved embryo transfer. *Fertil Steril* 2012;98:1464–9.

98. Daya S, Gunby JL, Cochrane Gynaecology and Fertility Group. Luteal phase support in assisted reproduction cycles. Cochrane database of systematic reviews. 1996 Sep 1;2008(2).
99. Schindler AE, Campagnoli C, Druckmann R, et al. Classification and pharmacology of progestins. *Maturitas*. 2003;46 Suppl 1:S7-S16.
100. Regidor PA. Progesterone in peri-and postmenopause: a review. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*. 2014 Nov;74(11):995-1002.
101. Barbosa M, Silva L, Navarro P, Ferriani R, Nastri C, Martins W. Dydrogesterone vs progesterone for luteal-phase support: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016;48(2):161-170.
102. Fatemi HM, Bourgain C, Donoso P, Blockeel C, Papanikolaou EG, Popovic-Todorovic B, et al. Effect of oral administration of dydrogesterone versus vaginal administration of natural micronized progesterone on the secretory transformation of endometrium and luteal endocrine profile in patients with premature ovarian failure: a proof of concept. *Hum Reprod*. 2007;22(6):1621-26.
103. Kahraman S, Karlıkaya G. Ovulasyon induksiyonu. *İstanbul Memorial Hastanesi Yardımcı Üreme Teknikleri ve Reprodüktif Endokrinoloji Merkezi*; 2009.
104. Engmann L, Benadiva C, Humaidan P. GnRH agonist trigger for induction of oocyte maturation in GnRH antagonist IVF cycles: a SWOT analysis. *Reprod Biomed Online*. 2016;32(3):274-85.
105. Kolibianakis EM, Venetis CA, Papanikolaou EG, Diedrich K, Tarlatzis BC, Griesinger G. Estrogen addition to progesterone for luteal phase support in cycles stimulated with GnRH analogues and gonadotrophins for IVF: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2008;14(1):1-14.
106. Huang N, Situ B, Chen X, Liu J, Yan P, Kang X, et al. Meta-analysis of estradiol for luteal phase support in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 2015;103(2):367-73.

107. Yanushpolsky E, Hurwitz S, Greenberg L, Racowsky C, Hornstein M. Crinone vaginal gel is equally effective and better tolerated than intramuscular progesterone for luteal phase support in in vitro fertilization–embryo transfer cycles: a prospective randomized study. *Fertility and sterility*. 2010 Dec 1;94(7):2596-9.

108. Doody KJ, Schnell VL, Foulk RA, Miller CE, Kolb BA, Blake EJ, Yankov VI. Endometrin for luteal phase support in a randomized, controlled, open-label, prospective in-vitro fertilization trial using a combination of Menopur and Bravelle for controlled ovarian hyperstimulation. *Fertility and sterility*. 2009 Apr 1;91(4):1012-7.

109. Silverberg KM, Vaughn TC, Hansard LJ, Burger NZ, Minter T. Vaginal (Crinone 8%) gel vs. intramuscular progesterone in oil for luteal phase support in in vitro fertilization: a large prospective trial. *Fertility and sterility*. 2012 Feb 1;97(2):344-8.

110. Simunic V, Tomic V, Tomic J, Nizic D. Comparative study of the efficacy and tolerability of two vaginal progesterone formulations, Crinone 8% gel and Utrogestan capsules, used for luteal support. *Fertility and sterility*. 2007 Jan 1;87(1):83-7.

111. Zarutskie PW, Phillips JA. A meta-analysis of the route of administration of luteal phase support in assisted reproductive technology: vaginal versus intramuscular progesterone. *Fertility and sterility*. 2009 Jul 1;92(1):163-9.

112. Salehpour S, Tamimi M, Saharkhiz N. Comparison of oral dydrogesterone with suppository vaginal progesterone for luteal-phase support in in vitro fertilization (IVF): A randomized clinical trial. *Iranian journal of reproductive medicine*. 2013 Nov;11(11):913.

113. Zaman AY, Coskun S, Alsanie AA, Awartani KA. Intramuscular progesterone (Gestone) versus vaginal progesterone suppository (Cyclogest) for luteal phase support in cycles of in vitro fertilization–embryo transfer: patient preference and drug efficacy. *Fertility research and practice*. 2017 Dec;3(1):1-6.

114. Eren, G. in vitro fertilizasyon - embriyo transferi sikluslarında luteal faz desteğinde kullanılan oral didrogesteron ve mikronize vajinal progesteron jel kullanımının klinik sonuçlarının karşılaştırılması. Yayınlanmamış Uzmanlık Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Konya. 2021.

115. Khan N, Richter KS, Newsome TL, Blake EJ, Yankov VI. Matched-samples comparison of intramuscular versus vaginal progesterone for luteal phase support after in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertility and sterility*. 2009 Jun 1;91(6):2445-50.

116. Kao TC, Tu YA, Yang PK, Huang CC, Yang JH, Chen SU, Chao KH. Clinical use of aqueous subcutaneous progesterone compared with vaginal progesterone as luteal support in in vitro fertilization: A randomized controlled study in Taiwan. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2022 Sep 1;61(5):863-7.

117. Aflatoonian A, Mohammadi B. Subcutaneous progesterone versus vaginal progesterone for luteal-phase support in frozen-thawed embryo transfer: A cross-sectional study. *International Journal of Reproductive BioMedicine*. 2021 Feb;19(2):115.

118. Jalaliani S, Davar R, Akbarzadeh F, Emami F, Eftekhar M. Addition of intramuscular to vaginal progesterone for luteal phase support in fresh embryo transfer cycles: A cross-sectional study. *International Journal of Reproductive BioMedicine (IJRM)*. 2022 Oct 12:745-52.

119. Salehpour S, Saharkhiz N, Nazari L, Sobhaneian A, Hosseini S. Comparison of Subcutaneous and Vaginal Progesterone Used for Luteal Phase Support in Patients Undergoing Intracytoplasmic Sperm Injection Cycles. *JBRA Assisted Reproduction*. 2021 Apr;25(2):242.

120. Turgut EN, Boynukalın FK, Gültomruk M, Yarkiner Z, Bahçeci M. Comparison of intramuscular versus subcutaneous aqueous progesterone for luteal phase support in artificially prepared frozen embryo transfer cycles. *Turkish Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2020 Dec;17(4):240.

121. Devine K, Richter KS, Jahandideh S, Widra EA, McKeeby JL. Intramuscular progesterone optimizes live birth from programmed frozen

embryo transfer: a randomized clinical trial. *Fertility and sterility*. 2021 Sep 1;116(3):633-43.

122. Kınay T, Taşcı Y, Dilbaz S, Çınar Ö, Demir B, Karadağ B. The effects of serum estradiol levels and endometrial thickness measurements on pregnancy outcomes in gnrh agonist down-regulated icsi cycles. *J Turk Soc Obstet Gynecol*. 2010;7:289-93.

123. Pekcan MK, Özakşit G. Gonadotropin ile oluşturulan kontrollü ovaryan stimülasyon–intrauterin inseminasyon sikluslarında kullanılan progesteron formunun ve tedavi etkinliğinin karşılaştırılması. *Ege Tıp Dergisi*. 2019;58(1):74-7.

124. Labarta E, Mariani G, Rodríguez-Varela C, Bosch E. Individualized luteal phase support normalizes live birth rate in women with low progesterone levels on the day of embryo transfer in artificial endometrial preparation cycles. *Fertility and Sterility*. 2022 Jan 1;117(1):96-103.

TEŞEKKÜR

Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimi almaya başladığım ilk günden itibaren bilgisi ve tecrübesi ile desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, eğitim ve çalışma yaşantımda her zaman yol gösteren ve bana ışık tutan, mesleki ve manevi anlamda üzerimde sayısız emeği bulunan, anabilim dalı başkanımız saygıdeğer hocam Prof. Dr. Gürkan UNCU'ya teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Eğitim sürecimde bilgi ve deneyimlerini paylaşmaktan çekinmeyen, mesleki gelişimimde çok büyük katkıları olan Prof. Dr. Kemal ÖZERKAN'a ve Doç. Dr. Bilge ÇETİNKAYA DEMİR'e; mentörlüğüyle sürekli mükemmellik için çabalama ilham veren tezin teşekkür kısmında formaliteden ötürü danışman hocaya teşekkür etme zorunluluğunu yıkan değerli hocam ve tez danışmanım olan sevgili ablam Doç. Dr. Işıl KASAPOĞLU'na, uzmanlık eğitimim süresince bana her konuda yardımcı olan bilgi ve becerilerimin artmasında katkısı olan sevgili abim Doç. Dr. Kiper ASLAN'a, çalışma disiplinleri ve becerileri ile her zaman örnek olan Doç. Dr. Adnan ORHAN'a ve Doç. Dr. Yakup YALÇIN'a teşekkürü borç bilirim.

Asistanlık hayatımın keyifli geçmesini sağlayan sevgili asistan arkadaşlarıma, birlikte çalıştığım tüm hemşire, ebe ,sağlık personeline ve tüm Uludağ Kadın Hastalıkları ve Doğum aileme teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak beni bugünlere getiren, her zaman desteğini arkamda hissettiğim canım ailem ve dostlarıma teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Bursa'da doğdum. İlköğrenimimi Yıldırım İlköğretim Okulu'nda, lise öğrenimimi Bursa Tan Fen Lisesi'nde tamamladım. 2007 yılında Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 6 yıllık tıp eğitimi aldım. 2014 yılında Kars Selim Toplum Sağlığı Merkezi'nde mecburi hizmete başladım. 1,5 yıl Selim İlçe Sağlık Müdürü olarak görev aldıktan sonra yine aynı merkezde 1 yıl aile hekimliği yaparak mecburi hizmetimi tamamladım. 2016 yılında 1 yıl İzmir Urla Toplum Sağlığı Merkezi'nde görev aldım. 2018 Tıpta Uzmanlık Sınavı ile Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nı kazanarak uzmanlık eğitimime başladım.