



T.C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**İNTRAUTERİN İNSEMİNASYON SIKLUSLARINDA OVULASYONUN
TETİKLENMESİNDEN 5 VE 7 GÜN SONRA ÖLÇÜLEN SERUM
PROGESTERON DÜZEYLERİNİN DEVAM EDEN GEBELİK ORANI
ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Nazlı ORHAN

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA

2021



T.C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**İNTRAUTERİN İNSEMİNASYON SİKLUSLARINDA OVULASYONUN
TETİKLENMESİNDEN 5 VE 7 GÜN SONRA ÖLÇÜLEN SERUM
PROGESTERON DÜZEYLERİNİN DEVAM EDEN GEBELİK ORANI
ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Nazlı ORHAN

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Galip Serdar Günalp

ANKARA

2021

TEŞEKKÜR

Tez öğrencisi olabilme şansına eriştiğim, uzmanlık eğitimim boyunca desteğini esirgemeyen bölüm başkanımız sayın Prof. Dr. G. Serdar Günalp'e

Tezimin her aşamasında desteğini, yardımını, bilgisini esirgemeyen sayın Doç. Dr. Sezcan Mümüşoğlu'na,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, cerrahi gelişimimde emekleri olan tüm değerli hocalarıma,

Hacettepe Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı bünyesinde çalışan bütün uzman doktor, asistan, hemşire ve sağlık personeli arkadaşlarıma,

Bugüne gelmemi sağlayan, hiçbir emeğini esirgemeyen, tüm hayatım boyunca ne olursa olsun her zaman yanımda olan canım annem ve babam; Türkan ve Ramazan Orhan'a

Teşekkürlerimi sunarım.

Dr.Nazlı ORHAN

ÖZET

Orhan N., İntrauterin inseminasyon sikluslarında ovulasyonun tetiklenmesinden 5 ve 7 gün sonra ölçülen serum progesteron düzeylerinin devam eden gebelik oranı üzerine etkisinin araştırılması, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Uzmanlık Tezi, Ankara 2021. Doğal sikluslarda luteal faz yetmezliği infertil çiftlerin yaklaşık %10'unu etkilediği düşünülen ve üzerinde tartışmaların sürdüğü bir tanımlamadır. Luteal fazı İÜİ sikluslarında desteklemek amacıyla egzogen progesteron kullanımının faydası son 10 yılda yapılan çalışmalarda araştırılmış ve çelişkili sonuçlar bulunmuştur. Luteal fazı günümüzde monitörize etmenin en etkin yolu serum progesteron (P₄) düzeyi ölçümüdür. Ancak literatürde natural siklusta normal luteal fazı tanımlamak için kesin kabul görmüş bir serum P₄ eşik değeri mevcut değildir. İn vitro fertilizasyon (IVF) sikluslarında luteal faz monitörizasyonu üzerine son yıllarda pek çok çalışma yürütülmesine rağmen literatürde İÜİ sikluslarının luteal faz karakteristiğinin gebelik sonuçları üzerine etkisini araştıran sınırlı sayıda çalışma vardır. Bizim tez çalışmamızda Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Androloji Ünitesi'nde Haziran 2020 ve Mayıs 2021 tarihleri arasında İÜİ tedavisi uygulanan hastaların 179'unun 230 siklusu dahil edilmiştir. Çalışmanın birincil sonuç ölçütü devam eden gebelik oranı alınmıştır. Ovarian stimülasyon protokolü olarak klinisyen tercihinin göre 69 siklusta sadece gonadotropin (GN) ve 161 siklusta klomifen sitrat ile GN ardışık olarak kullanılmıştır. Hastaların hiçbirine luteal faz desteği verilmemiştir. Ovulasyonu tetiklemek amacıyla insan koryonik gonadotropini (hCG) kullanılmış ve hCG sonrası 5. (hCG+5) ve 7. (hCG+7) günlerde serum P₄ seviyeleri ölçülmüştür. Dahil edilen 230 siklusun 17'si (%7,4) devam eden gebelik ile sonuçlanmıştır. Düşük serum P₄ düzeylerinin devam eden gebelik oranı üzerine etkisini araştırmak amacıyla hastalar hCG+5 ve hCG+7 günü ölçülen serum P₄ seviyelerine göre ≤10 persentil ve >10 persentil olacak şekilde gruplara ayrılıp karşılaştırılmıştır. Serum P₄'nun hCG+5 günü için ≤10 persentil değeri ≤5.6 ng/ml hesaplanırken hCG+7 günü için bu değer ≤8.46 ng/ml bulunmuştur. Univariate analizde hCG+5 ve hCG+7 günü serum P₄ ≤10 persentil ve >10 persentil grupların devam eden gebelik oranları karşılaştırıldığında sırasıyla hCG+5 için %10,5 (2/19) ve %5,5 (9/164) (p= 0.80); hCG+7 için %0 (0/16)

ve %7,5 (n=11/145) (p=0.24) bulunmuştur. Luteal faz dinamiği açısından serum P₄ seviyesinin hCG+5 ve hCG+7 değişimi incelendiğinde siklusların %16,7'sinde (26/156) serum P₄ düzeylerinin düştüğü görülmüştür; hCG+7 günü ölçülen serum P₄ düzeyinden hCG+5 de ölçülen serum P₄ düzeyi çıkarılarak ΔP_4 değeri hesaplanmıştır ($\Delta P_4 = \text{hCG}+7 - \text{hCG}+5$). Negatif ΔP_4 ' nu olan 26 hastanın hiçbirinde devam eden gebelik görülmemişken pozitif ΔP_4 olan 130 hastanın 8'inde (%6,2) devam eden gebelik oluşmuştur (p=0.194). Multivariate-GEE (generalized estimating equation) analizinde ΔP_4 ' un tek başına devam eden gebelik üzerine bağımsız bir prediktör olduğu saptanmıştır (B:0.137, %95 CI= 0,020-0,254, p=0.02). Sonuç olarak erken luteal dönem hCG+5 serum P₄ seviyesinin devam eden gebelik oranı üzerine bir prediktör olmadığı ancak orta luteal dönem hCG+7 günü ≤ 8.46 ng/ml serum P₄ değerlerinde devam eden gebeliğin oluşmadığı gösterilmiştir. ΔP_4 değerinin devam eden gebeliği tahmin etmede iyi bir prediktör olduğu saptanmıştır. Bu sonuç ile tüm İÜİ sikluslarında luteal fazı desteklemek bir strateji olabileceği gibi luteal fazı monitörize ederek hCG+7 günü serum P₄ ≤ 8.46 olan veya negatif ΔP_4 olan hastalarda egzogen progesteron desteği ile siklus kurtarmaya çalışmak da başka bir strateji olabilir. Ancak bu stratejilerin randomize kontrollü çalışmalarla test edilmesi gereklidir.

Anahtar Kelimeler: İÜİ, hCG tetiği, luteal faz, progesteron, devam eden gebelik

ABSTRACT

Orhan N., The effect of early and mid-luteal serum progesterone level on ongoing pregnancy rate in intrauterine insemination cycles, Hacettepe University, Department of Obstetrics and Gynecology, Dissertation, Ankara 2021. The definition of luteal phase insufficiency in natural cycles is controversial and might be encountered ~10% of infertile couples. Serum progesterone (P₄) level measurement is still the most feasible method for luteal phase monitoring. In last decade, although some research groups have been focusing on monitoring luteal phase in in-vitro fertilization cycles (IVF), there is scarce of evidence about luteal phase characteristics and serum P₄ values in intrauterine insemination (IUI) cycles. In this study, a total of 230 cycles of 179 patients who underwent IUI treatment in Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Andrology Unit between June 2020 and May 2021 were included. The primary outcome measure was the ongoing pregnancy rate. For ovarian stimulation, according to the clinician's preference, in 69 cycles only gonadotropin was used and in 161 cycles clomiphene citrate and gonadotropin were used consecutively. No luteal phase support was given. Human chorionic gonadotropin (hCG) was used to trigger ovulation and serum P₄ levels were measured on the 5th (hCG+5) and 7th (hCG+7) days after hCG triggering. Of the 230 cycles 17 (7.4%) were resulted with ongoing pregnancy. In order to investigate the effect of low serum P₄ levels on the ongoing pregnancy rate, patients were divided into groups as ≤10th percentile and >10th percentile according to serum P₄ levels measured on hCG+5 and hCG+7 days. While ≤10 percentile value of serum P₄ was calculated as ≤5.6 ng/ml for hCG+5 day, this value was ≤8.46 ng/ml for hCG+7 day. In the univariate analysis, the ongoing pregnancy rates of the hCG+5 and hCG+7 serum P₄ ≤10th percentile and >10th percentile groups were 10.5% (2/19) versus 5.5% (9/164) (p=0.80) and 0% (0/16) versus 7.5% (n=11/145) (p=0.24), respectively. When the serum P₄ level dynamics were observed between hCG+5 and hCG+7, it was found that serum P₄ levels decreased in 16.7% (26/156) of the cycles. The ΔP₄ value was calculated by subtracting the serum P₄ level measured on hCG+5 from the serum P₄ level measured on day hCG+7 (ΔP₄= hCG+7 – hCG+5). While none of the 26 patients with negative ΔP₄ had ongoing pregnancy, 8 (6.2%) of 130 patients with positive ΔP₄ had ongoing pregnancy (p=0.194). In the multivariate-GEE (generalized estimating

equation) analysis, ΔP_4 was found to be an independent predictor of ongoing pregnancy alone ($\beta:0.137$, 95% CI= 0.020-0.254, $p=0.02$). In conclusion, it has been shown that early luteal phase (hCG+5) serum P_4 level was not a predictor of ongoing pregnancy rate, however, in mid-luteal (hCG+7) low (≤ 8.46 ng/ml) serum P_4 level was associated with lower ongoing pregnancy rates. It also has been determined that a drop in serum P_4 (negative ΔP_4) between early and midluteal phase was an independent predictor of ongoing pregnancy. As a wider implication, supporting the luteal phase in all IUI cycles may be a one strategy. Alternatively, monitoring the luteal phase and rescuing the cycle with exogenous progesterone supplementation in patients with low mid-luteal (hCG+7) serum P_4 (≤ 8.46) level or in patient with negative ΔP_4 level may be another strategy. Randomized controlled trials are urgently needed to test the efficacy of suggested strategies.

Key words: IUI, hCG trigger, luteal phase, progesterone, ongoing pregnancy

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İnfertilite.....	3
2.2. İnfertilite Nedenleri.....	3
2.2.1. Ovulatuvar Disfonksiyon.....	4
2.2.2. Polikistik Over Sendromu.....	5
2.2.3. Açıklanamayan İnfertilite.....	7
2.3. Ovulasyon İndüksiyonu.....	9
2.3.1. Klomifen Sitrat.....	9
2.3.2. Aromataz İnhibitörleri.....	10
2.3.3. Gonadotropinler.....	12
2.4. İntrauterin İnseminasyon.....	13
2.5. Progesteron Sentezi.....	15
2.6. Luteal Faz Fizyolojisi.....	16
2.7. Luteal Faz Yetmezliği.....	19
2.8. Uyarılmış Sikluslarda Luteal Faz Yetmezliği.....	20
2.9. Luteal Faz Monitörizasyonu.....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	23

3.1.Hasta Seçimi.....	23
3.2. İntrauterin İnseminasyon Öncesi Hazırlık Protokolü.....	24
3.3. İntrauterin İnseminasyon Tekniği.....	25
3.4. Laboratuvar Değerlendirmesi.....	25
3.5 Gebelik Değerlendirilmesi.....	25
3.6. İstatistiksel Analiz.....	26
3.7. Etik Kurul Onayı.....	26
4. BULGULAR.....	27
4.1 Hastaların Bazal Demografik Özellikleri.....	27
4.2. Reprodüktif Sonuçlar.....	29
4.3. Progesteron Değerine Göre Kategorize Edilmiş Siklusların Karakteristikleri.....	29
4.4 Serum Progesteron Düzeyleri.....	34
4.5. Delta P4 (ΔP_4) ng/ml = hCG+7 günü – hCG+5 günü.....	36
4.6. ΔP_4 Negatifliği Üzerine Etkili Faktörlerin Araştırılması.....	36
4.7.Devam Eden Gebelik Olan ve Olmayan Hastaların Karşılaştırılması.....	37
5. TARTIŞMA.....	40
6. SONUÇ.....	45
7. KAYNAKLAR.....	46

KISALTMALAR

AE-PCOS:	Androgen Excess-PCOS Society
AMH:	Anti-Mullerian Hormon
ASRM:	Amerikan Üreme Tıbbi Derneği
AUC:	Area Under Curve (Eğri altında kalan alan)
CC:	Klomifen Sitrat
KL:	Korpus Luteum
E₂:	Östradiol
ESHRE:	Avrupa İnsan Üremesi ve Endokrinoloji Derneği
FGF:	Fibroblastik Growth Faktör
FSH:	Folikül Stimülan Hormon
GnRH:	Gonadotropin Serbestleştirici Hormon
hCG:	Human Koryonik Gonadotropin
hMG:	Human Menopozal Gonadotropini
İÜİ:	İntrauterin İnseminasyon
IVF:	In Vitro Fertilizasyon
LH:	Lüteinleştirici Hormon
Maks:	Maksimum
Min:	Minimum
NSFG:	National Survey of Family Growth
OHSS:	Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu
P₄:	Progesteron
PKOS:	Polikistik Over Sendromu
PR:	Progesteron Reseptörü
rFSH:	Rekombinant Folikül Stimülan Hormon
rLH:	Rekombinant Lüteinleştirici Hormon
ROC:	Receiver Operating Characteristic
SD:	Standart Sapma
StAR:	Steroidejenik Akut Regülatuar Protein
VEGF:	Vasküler Endotelyal Growth Faktör
WHO:	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.2.1. İnfertilite nedenleri: 1a. Kadınlar;1.b. Çiftler; 1.c. Erkekler.....	4
Şekil 2.5.2. Progesteron Sentezi.....	15
Şekil 3.1. Hasta Katılımını Gösteren Diyagramı.....	24
Şekil 4.4.1. hCG+7 P4 ‘ün devam eden gebelik üzerine etkisi- ROC eğrisi.....	35
Şekil 4.4.2. a) hCG +5 ve hCG +7 günü hastaların P ₄ düzeyleri; b) dağılım grafiği.....	35
Şekil 4.5. Devam eden gebeliği olan ve olmayan hastalardaki ΔP_4 ng/mL değerleri ile oluşturulan dağılım grafiği.....	36

TABLULAR

Tablo	Sayfa
Tablo 4.1. Hastaların bazal demografik özellikleri, infertilite nedenleri ve tedavi sonuçları	27
Tablo 4.3.1. hCG + 5 P ₄ 10 persentile göre kategorize edilmiş siklusların karakteristikleri	30
Tablo 4.3.2. hCG + 7 P ₄ 10 persentile göre kategorize edilmiş siklusların karakteristikleri	32
Tablo 4.6. ΔP_4 negatifliği üzerinde bağımsız prediktörlerinin tespiti için lojistik regresyon analizi.....	37
Tablo 4.7. Devam eden gebelik olan ve olmayan hastaların genelleştirilmiş lineer modelleri.....	38

1.GİRİŞ

İnfertilite bir çiftin 12 ay boyunca düzenli, korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebelik elde edememesi olarak tanımlanır (1). İnfertilite, reproduktif çağıdaki popülasyonun %10-15'ini etkilemektedir ve tüm popülasyondaki gebelik elde edebilme oranı ilk 1 ay için %25; ilk 6 ay için %70 ve 1 yıl süre için %80'dir (2). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre infertilite sebeplerinin %35'inin kadın, %20'sinin erkek, %30-35'inin ise hem kadın hem erkek kaynaklı olduğu görülmektedir. Geriye kalan %10-15'lik kısımda ise infertilite için herhangi bir sebep bulunamadığı halde gebelik elde edemeyen hasta grubudur ve açıklanamayan infertilite adı verilmiştir (3).

İntrauterin inseminasyon; hafif erkek faktör, açıklanamayan infertilite, kronik anovulasyona bağlı infertilitesi olan çiftlerde uygulanan yardımcı üreme tekniğidir. Kontrollü ovaryan hiperstimülasyon, İÜİ ile kombine edildiğinde siklus başına fekundabilite oranı %8,7-11,4'tür (4). Kadın yaşı, total motil sperm sayısı (TMS), ovarian stimülasyon ile büyüyen folikül sayısı ve infertilite süresi İÜİ başarısını etkilediği gösterilen faktörlerdir (5).

Luteal fazda korpus luteumdan (KL) salınan progesteron (P_4) luteal faz kalitesi ve gebeliğin devamı için gereklidir. Doğal siklularda luteal faz yetmezliği infertil çiftlerin yaklaşık ~%10'unu etkilediği düşünülen ve üzerinde tartışmaların sürdüğü bir tanımlamadır (6). Luteal fazı günümüzde monitörize etmenin en etkin yolu serum P_4 düzeyi ölçümüdür (7). İnvitro fertilizasyon (IVF) siklulalarında luteal faz monitörizasyonu üzerine son yıllarda pek çok çalışma yürütülmesine rağmen (8) İÜİ siklulalarının luteal faz karakteristiğinin gebelik sonuçları üzerine etkisini araştıran sınırlı sayıda çalışma vardır (9).

Literatürde normal luteal fazı tanımlamak için kesin kabul görmüş bir serum P_4 eşik değeri mevcut değildir (7). Bazı çalışmalarda P_4 ile luteal faz desteği verilen siklularda gebelik sonuçlarının daha iyi olduğu öne sürülmüştür (10, 11). Bu bilgiye göre İÜİ tedavisi de bazı siklularda anormal bir luteal faza sebep olabilir ve bu daha az gebelik oranı ile ilişkilendirilebilir. Costello ve arkadaşları (12) orta luteal P_4 ile gebelik sonuçları arasında bir ilişki bulamamış olsa da negatif değerlerin azalmış gebelik sonucu ile ilişkili olduğunu öne sürmüş, Yıldırım ve arkadaşları (13), Arce ve

arkadaşları (14) ise orta luteal P_4 ve gebelik arasında pozitif ilişki bulmuştur. Luteal faz P_4 değerlendirmeleri yapılan çalışmalarda orta luteal P_4 üzerine yoğunlaşmış olup tek bir değer ölçülmüştür.

İÜİ tedavilerinde luteal faz ve gebelik sonuçları üzerinde etkisinin anlaşılması ile ilgili çalışma ihtiyacı devam etmektedir. İleriye dönük olarak dizayn edilmiş bu çalışmada, İÜİ kararı alınmış çiftlerde erken ve orta luteal faz serum P_4 değerlerinin devam eden gebelik üzerine etkisini araştırmak amaçlanmıştır. Bu çalışmada erken luteal fazda P_4 değerlerine bakarak implante olan blastokistten salınan hCG etkisi dışlanarak hastanın o siklusundaki bağımsız P_4 seviyelerini gözlemleyip devam eden gebelik üzerine etkilerine bakılmıştır. Hastalarda hCG enjeksiyonundan sonra 5. ve 7. günlerde kan P_4 düzeylerine bakıldı ve bu P_4 seviyelerinin devam eden gebeliği olan ve olmayan hastalardaki farklılıkları gözlemsel olarak incelendi. Çalışma sonunda P_4 kan seviyesi için anlamlı bir eşik değer olup olmadığı gözlemlenip, daha sonrası için yapılacak olan İÜİ protokollerine ışık tutabilmek amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnfertilite

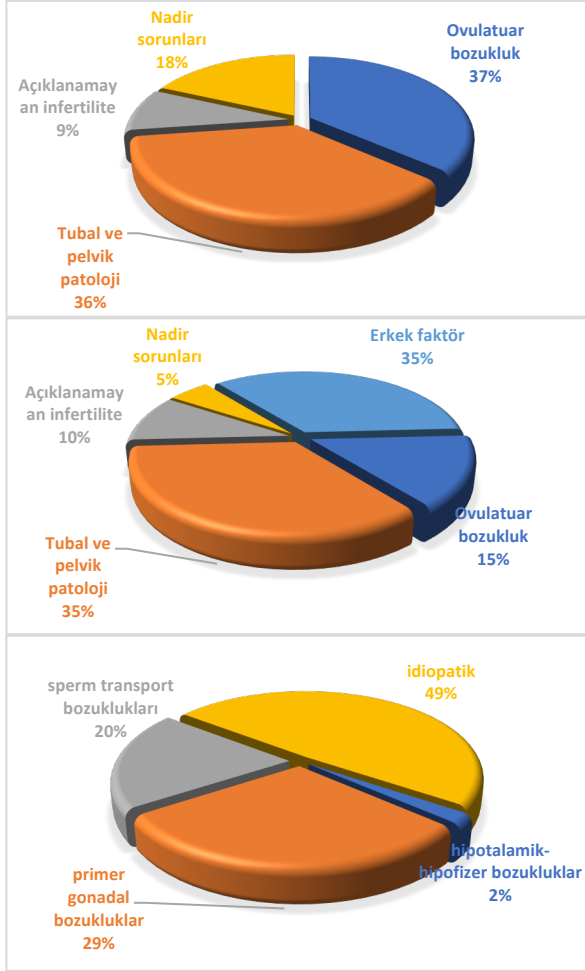
Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (ASRM) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflamasına göre infertilite, kadın yaşı 35'in altında olduğunda en az 12 ay, 35 yaşın üstünde olduğunda ise en az 6 ay düzenli ve korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebelik oluşmaması olarak tanımlanır (1). Primer infertilite daha önceden hiçbir şekilde gebelik oluşmaması iken; sekonder infertilite daha önce nasıl sonuçlandığına bakılmaksızın bir gebelik elde etmiş çiftlerin, yeniden gebelik elde edememesi durumudur (15). Subfertilite ise gebelik elde edememiş ve henüz infertil tanısı almamış çiftler için kullanılan tanımdır.

Fekundabilite bir menstrüel sıklusta gebe kalabilme olasılığı, fekundite ise bir siklusun canlı doğum ile sonuçlanabilme olasılığıdır (15). Bir yıllık süre sonrasında fekundabilite düşmektedir ve bu süre sonrasında çiftlerin, infertilite açısından ileri değerlendirme önerilir (1, 16).

İnfertilite insidansı; Amerika'da yapılan National Survey of Family Growth (NSFG) istatistiklerine göre 1965'te %11,2, 1982'de %8,5 iken 2002'de %7,4 olarak belirtilmiştir (17).

2.2. İnfertilite Nedenleri

İnfertilite sebepleri; ovulatuvar disfonksiyon (%20-40), tubal-peritoneal patoloji (%30-40) ve erkek faktördür (%30-40). Geriye kalan yaklaşık %10'luk kısım ise infertilite için herhangi bir sebep bulunamamış olup açıklanamayan infertilite olarak adlandırılmıştır (3). İnfertilite sebeplerinin oranları yaşa göre değişkenlik göstermektedir. Genç hastalarda ovulatuvar disfonksiyon ön planda iken, ileri yaşlarda açıklanamayan ve erkek faktör daha sık infertilite sebebi olarak karşımıza çıkmaktadır (18, 19).



Şekil 2.2.1a., 2.2.1b., 2.2.1c İnfertilite Nedenleri.

2.2.1. Ovuluar Disfonksiyon

Nadir ovulasyon (oligoovulasyon) ya da ovulasyonun olmaması (anovulasyon) her ay fertilize olabilecek bir oosit bulunmamasından kaynaklı bir infertilite sebebidir. Anovulasyon WHO tarafından sınıflandırılmıştır:

- *WHO sınıf 1 hipogonadotropik hipogonadal anovulasyon:* bu grup hastalarda gonadotropin salgılatıcı hormonun (GnRH) hipotalamik sekresyonunda azalma ya da hipofizin GnRH'ya yanıtıslığı mevcuttur. Buna bağlı olarak serum folikül uyarıcı hormon (FSH), östradiol (E₂) seviyeleri düşük izlenir.
- *WHO sınıf 2 normogonadotropik normoöstrojenik anovulasyon:* bu grupta normal gonadotropik ve E₂ seviyeleri olsa da foliküler fazdaki FSH salınımı normalin altındadır. Bu gruba örnek polikistik over sendromudur (PKOS).

- *WHO sınıf 3 hipergonadotropik hypoöstrojenik anovulasyon:* bu grupta prematür ovaryan yetmezlik ve ovaryan direnç mevcuttur.
- *Hiperprolaktinematik anovulasyon:* hiperprolaktinemi sebebiyle GN ve E₂ sekresyonu inhibisyonu mevcuttur. Serum GN seviyeleri normal olabilir ancak düşük östrojen seviyelerine bağlı anovulatuvar sikluslar mevcuttur.

Anovulasyonun tanısı için serum P₄ ölçümü kolay, objektif, güvenilir ve sık kullanılan bir testtir. Serum P₄ ölçümü beklenen mens tarihinden yedi gün önce ölçülmelidir. 28 günlük siklusa sahip bir kadında 21. gün P₄ ölçümü için idealdir. P₄ için 3ng/ml altı değerler anovulasyonu gösterir (20, 21). Anovulasyon tayini için üriner lüteinleştirici hormon (LH) ölçümü de kullanılabilir. Evde de kullanılabilen LH kitleri mevcuttur. Seri yapılacak transvajinal ultrasonografi, her zaman kullanışlı olmayabilir ve anovulasyon için doğru sonuca ulaştırmayabilir.

2.2.2. Polikistik Over Sendromu

Polikistik over sendromu irregüler menstrüasyon ve androjen fazlalığı ile giden multisistem bir hastalıktır. Kadınların yaklaşık %5-10'unu etkileyen en sık endokrinopatilerden biridir (22). Tanısı için 2004'te ASRM ve Avrupa İnsan Üremesi ve Endokrinoloji Derneği'nin (ESHRE) sponsor olduğu PKOS Konsensus Çalışma Grubu tarafından Rotterdam kriterleri belirlenmiştir. Buna göre oligo-amenore, klinik/biyokimyasal hiperandrojenizm (serum androjenlerinde yükselme ya da klinik olarak akne, hirsütizm, androjenik alopesi olması) veya ultrasonografide polikistik over görünümü kriterlerinden en az ikisinin bulunması durumunda PKOS tanısı konulmaktadır (23).

Normal siklik menstrüasyon, normal ovulatuvar fonksiyonun sonucunda olup uzunluğu 24 ile 35 gün arasında değişmektedir. Oligo-amenore kriteri olarak menslerin arasında 45 gün ya da daha fazla aralık olması veya yılda sekiz ve daha az mens görülmesidir (24). PKOS hastalarında en sık görülen menstrüel anormallik oligomenore ve amenoredir; polimenore ise nadir görülmektedir.

Rotterdam kriterlerinde; polikistik over görünümü; bir overde 2-9 mm çapında ≥ 12 folikül olması veya bir over hacminin >10 ml olması şeklinde tanımlanmıştır (23). 2018 yılında yayınlanan 'international evidence-based guideline for the assessment

and management of polycystic ovary syndrome ‘ rehberine göre bu kriter güncellenmiş ve yüksek çözünürlüklü transvajinal ultrasonda polikistik over görünümü için sınırın >20 folikül olduğunu; 10 ml hacim kriterinin düşük çözünürlüklü ultrasonlarda kullanılabileceği belirtilmiştir (25)

Polikistik over sendromunda hiperandrojenizmin en sık bulgusu hirsütizmdir. Hirsütizm yüz veya vücut üzerinde terminal kılların erkek paterninde büyümesidir. Hirsütizm en sık modifiye Ferriman-Gallwey skorlaması ile değerlendirilir. Bu değerlendirme yapılırken epilasyon şekli, sıklığı göz önüne alınmalıdır. Bu skorlama sisteminden alınan 6 ve üzerindeki değerler hirsütizm olarak kabul edilir (26). Akne PKOS hastalarında en sık ikinci klinik hiperandrojenemi bulgusudur.

Polikistik over sendromu kadınlarda kanser, metabolik sendrom ve infertilite gibi birçok soruna yol açabilmektedir.

Kronik anovulasyon en sık infertilite sebeplerinden biridir. İnfertilite çiftleri ilgilendiren bir problem olması sebebiyle, kadın PKOS tanısı olsa da diğer infertilite nedenleri de araştırılmalıdır. PKOS nedenli infertilite tedavisi için yaşam tarzı değişikliği, ovulasyon indüksiyon ajanları veya İÜİ ile kombinasyonu, laparoskopik drilling, IVF gibi yöntemler kullanılabilir.

Polikistik over sendromu olan kadınlarda eşinin sperm analizi normal ise İÜİ’ in düzenli cinsel ilişkiye üstünlüğü yoktur (27). PKOS için infertilite tedavisinde ovulasyon indüksiyon ajanlarından yakın zamana kadar ilk tercih klomifen sitrat (CC) idi. Ancak PPKOS II isimli randomize kontrollü çalışmada letrozolün klomifen sitrata göre canlı gebelik açısından üstün olduğu gösterildi (28) . PKOS’lu kadınların infertilite tedavisinde insülin duyarlılığını arttırıcı metformin, tiozolidinedionlar, miyoinositol gibi ajanlar denenmiştir. Klomifen sitrat ve metformin tedavilerini karşılaştıran PPKOS I çalışmasında, klomifenin metformine göre canlı doğum üzerinde üstünlüğü istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Klomifen sitrat ve metformin birlikte kullanımı yalnızca klomifen sitrat kullanımı ile karşılaştırıldığında daha fazla canlı gebelik izlense de bu farklılık istatistiksel anlama ulaşmamıştır (29). Gonadotropinler oral ovulasyon indüksiyonu ajanlarına dirençli PKOS hastalarında kullanılabilir. Ancak çoğul gebelik ve OHSS riskinden dolayı takibi dikkat ile

kullanılmalıdır. Diğer ajanların etkinliği tartışmalıdır. Diğer infertilite tedavilerinde olduğu gibi PKOS hastalarında da tedavi bireyselleştirilmelidir.

2.2.3. Açıklanamayan İnfertilite

Semen analizi, ovulatuvar fonksiyonun normal olduğu ve en az bir patent tuba varlığı ile normal uterin kavite olmasına rağmen gebelik elde edilememesi durumuna açıklanamayan infertilite denir. İnfertil çiftlerin yaklaşık %10'u bu gruba dahil olmaktadır (3).

Açıklanamayan infertilitesi olan çiftlerde bazı olasılıklar öne sürülmüştür. Erkek partnerin semen analizindeki değerler normal aralıkta olsa da referans değerlerin alt sınırında olan motilite ve konsantrasyondan kaynaklı olabilir (30). Bazı çiftlerdeki problemlerin kadınların folikül gelişimi, ovulasyon ve luteal fazındaki değişikliklerden kaynaklı olabileceği öne sürülmüştür. (31). Bir çalışmada infertil 1885 kadından 12'si açıklanamayan infertilite tanısı almış ve bu hastalar incelendiğinde açıklanamayan infertilitesi olan kadınların ortalama progesteron seviyeleri daha düşük olma eğiliminde olsa da yalnızca orta luteal (5 ve 7. günlerde) serum P₄ seviyesi düşüklüğünün anlamlı istatistiğe ulaştığı tespit edilmiştir (31). Açıklanamayan infertilitenin potansiyel bir diğer sebebi de ileri yaş olarak görülmektedir. Bununla uyumlu olarak 35 yaş üstü 7000 hastanın dahil edildiği bir çalışmada açıklanamayan infertilite oranı normalin 2 katı daha sık görülmüştür (19). Esasen açıklanamayan infertilite patogenezinin iki potansiyel açıklaması vardır. Bunlardan ilki gerçekten bir anormallik yoktur ve ileri kadın partner yaşı veya ilerlemiş reproduktif yaşlanmadan dolayı çiftin doğal fertilitesi normal sınırların en alt sınırındadır. İkinci sebep ise; infertilitenin bir nedeni vardır ancak günümüzdeki tanı testleri ile şu an için bu tanı konulamaması olabilir.

Açıklanamayan infertilite tanısı için yapılabilecek testler: erkek faktör değerlendirilmesi(spermiyogram, in-vitro mukus penetrasyon testi, 'hamster egg' penetrasyon testi ve postkoital test), ovulasyonun araştırılması (bazal vücut ısısı takibi, orta luteal serum progesteron ölçümü, endometrial biyopsi ve ovulasyonun ultrasonografik monitörizasyonu), tubal faktör (histerosalpingografi (HSG), sonohisterografi, laparoskopi), peritoneal faktör değerlendirmesi (laparoskopi), uterin

faktör değerlendirmesi (HSG, histeroskopi) ve immünolojik testlerdir. Ancak 2000 yılında ESHRE tarafından sunulan görüşte; ilk yapılacak testlerin orta luteal P₄, semen analizi ve tuba değerlendirmesi için HSG olduğu belirtilmiştir (32). Ovulasyonu doğrulamada en iyi test P₄ ölçümüdür; LH ile birlikte preovulatuvar E₂ ölçümü ovulasyonu tahmin etmede en iyi yöntemdir. Günümüzde HSG tüplerin durumunu değerlendirmekte ilk basamakta kullanılsa da basit kontrast madde ile yapılan ultrasonografi de giderek önem kazanmaktadır. Laparoskopi ise daha ileri tanı gereksinimi duyulduğunda kullanılmalıdır (32).

Açıklanamayan infertilitede tedavi maliyet etkin ve güvenli olmalıdır. İlk basamakta yaşam tarzı değişikliği ya da koitus zamanlamasının düzenlenmesi olabilir. Sonraki aşamada tedaviler ovulasyon indüksiyonu ve İÜİ, daha ileri aşamada da IVF olabilir.

Açıklanamayan infertilite tedavisinde birçok yaklaşım mevcuttur. Mevcut kanıtlarla doğal sıklusta İÜİ tedavisinin etkinliği görülmemiştir. Aynı şekilde CC ya da letrozolün İÜİ ile kombinasyonu olarak uygulanmayıp yalnızca ovulasyon indüksiyonu için kullanılmasının faydası görülmemiştir. FASTT (fast track and standart treatment) çalışmasında rastgele seçilen olgularda, bir gruba 3 siklus CC+İÜİ ile tedavinin ardından 6 siklus IVF tedavisi uygulanmış ; diğer gruba ise 3 siklus CC+İÜİ uygulamasını takiben 3 siklus GN+İÜİ tedavisi uygulanmıştır (33). CC+İÜİ, FSH+İÜİ ve IVF için siklus fekundabiliteleleri; sırasıyla %7,6, %9,8, %30,7 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara bakılarak CC+İÜİ kombinasyonu normal siklus fekundabilitesinden daha fazla olması nedeniyle uygulanabilir bir tedavi olduğu sonucu çıkartılabilir. Bu çalışma sonuçlarına göre GN+İÜİ ile daha yüksek gebelik oranları elde edilse de maliyet analizi yapıldığında bu tedavinin gerekliliği tartışılabilir. Ancak uzun süreli infertil olan çiftlerde (>3 yıl) olan çiftlerde etkinliği düşük olsa da CC başarısızlığı durumunda ve IVF bir seçenek olmadığında uygulanabilir bir tedavidir. IVF tedavisi ise açıklanamayan infertilitesi olan hastalarda ilk ya da son uygulanan tedavi olmasına bakılmaksızın en etkin tedavi yöntemidir. Tüm bunlarla birlikte bu tedaviler hastalar için bireyselleştirilmelidir.

2.3. Ovulasyon indüksiyonu

2.3.1. Klomifen Sitrat

Klomifen sitrat, hem östrojen agonisti hem de antagonisti gibi etki gösteren selektif östrojen reseptör modülatörüdür (34). Ancak klinik olarak daha çok antiöstrojenik etkinliği görülürken, yalnızca endojen E₂ seviyesi çok düşük olanlarda östrojenik etkileri izlenir. CC östrojen reseptörlerine bağlanır; başlıca etkilerini hipofiz, hipotalamus, over ile uterus üzerine gösterir ve reseptörleri östrojenden daha uzun süre bağlar (35, 36). Uterus, serviks ve vajina üzerinde primer olarak antiöstrojenik etkilidir. Ovule olan 15 kadının foliküler fazda endometrial ve uterin büyümeleri seri ultrason ölçümleriyle kontrol edilmiş; kanlarında E₂ seviyelerine ve serbest androjen indeksine bakılmış; klomifen ile indüklenmiş olan sikluslarla bu ovule olan kadınlar karşılaştırıldığında normalden az uterin hacim büyümesi ve endometrial kalınlaşma izlenmiştir (37). Bunun sebebinin klomifenin uterus ve endometrium üzerindeki antiöstrojenik etkisi ile yaptığı inhibisyon olduğu düşünülmüştür (37).

Premenopozal kadınlarda siklusun 3-7 günleri arasında CC uygulandığına hipofiz ve hipotalamusta östrojen reseptörlerinde azalma olur. Bunun sonucu olarak FSH yükselir ve multiple folikül büyümesi izlenir. 10. günde östrojen reseptör blokajı hala devam etmesi nedeniyle FSH üzerindeki negatif feedback etkisi olmaz ve birden çok dominant folikül gelişir.

Klomifen sitrat, ovulatuvar infertilitesi olan hastalarda folikül sayısı ve fertilitte şansını arttırmak; anovulatuvar kadınlarda da ovulasyonu sağlamak için kullanılır. Açıklanamayan infertilite için kullanıldığında İÜİ ile kombine edildiğinde klomifen bu gruptaki en etkili halini alır (38-40).

Klomifen sitrat kullanımına adetın 2-5. günleri arasında başlanır. Bu aralık içinde ne zaman başlanırsa başlansın konsepsiyon oranları ve gebelik sonuçları benzerdir (41). Amenoreik kadınlarda gebelik dışlandıktan sonra menstrüel kanamayı beklemeden tedaviye başlanabilir. Progestinle endometrial dökülmenin daha uzun tedavi süresi, daha az gebelik oranı ve gebeliğe ulaşma zamanınının daha uzun olduğuna

dair çalışmalar mevcuttur (42, 43). Hasta için uygun klomifen sitrat dozu bireyselleştirilerek uygulanmalıdır. Klomifen kullanan kadınların %52'si 50 mg, %22'si 100 mg'a cevap verir (44). 150-250 mg'a kadar doz artışı diğer alternatifleri değerlendirmeden önce kullanılabilir (44).

Klomifen sitrat tedavisi doğru seçilmiş kadınlara uygulanırsa %70-80 ovulasyonu sağlar (45, 46). Klomifen sitrat tedavisiyle ovule olan anovuluar kadınlardaki toplam siklus fekundabilite oranı %15'tir. Gebelik 3-6 ovuluar siklus içinde elde edilemediğinde infertilite araştırması genişletilmeli veya değerlendirme hali hazırda tamamlandıysa başka tedavi seçenekleri düşünülmelidir.

Klomifen sitrat kullanımı ile çoğul gebelik riski artar; %6,9-9'unda ikiz gebelik, %0,3-0,5'inde üçüz gebelik, % 0,3'ünde dördüz gebelik riski mevcuttur (47, 48).

Klomifen sitrat karaciğerde metabolize olur ve feçes ile atılır. 14C ile işaretlenmiş CC' nin, yarısından fazlasının beş gün sonra atıldığı ancak 6 hafta sonrasında bile işaretlenmiş CC'ye feçeste rastlandığı görülmesi üzerine fetal yan etkilerinden dolayı incelenmiştir ve herhangi bir konjenital malformasyon sıklığını arttırmadığı görülmüştür (47). Ovulasyon indüksiyon ajanları ile meme, over, endometrial kanser gibi kanserlerde risk artışı ile nedensel ilişki kurulamamıştır. Ancak yine de uzun süreli yüksek doz kullanımlardan kaçınılmalıdır.

2.3.2. Aromataz inhibitörleri

Letrozol, PKOS'lu kadınlarda ovulasyon indüksiyonu için birinci basamak tedavi olarak kabul edilmektedir (49). Letrozol ve anastrozol, östrojen üretiminde hız kısıtlayıcı basamaktaki görevli enzim olan aromatazın potent yarışmalı inhibitörüdür (50, 51). Aromataz inhibitörleri, östrojen üretimini beyinde ve periferde engelleyerek GN salınımında artışa yol açarak ovaryan folikül gelişimini tetikler (52, 53). Sonuç klomifenin yaptığı ile aynı olsa da klomifen reseptörleri tüketir ancak letrozol östrojen üretimini direkt engeller.

Premenapozal kadınlarda aromataz inhibitörleri kullanıldığında siklusun 3-7 günler arasında overden E₂ salınımını suprese ederek FSH artışına yol açar. Daha sonrasında 10. günde dominant folikül büyüyüp E₂ salınımını arttırır ve negatif feedback etkisi ile FSH suprese olur. Çünkü aromataz inhibitörleri beyindeki östrojen reseptörlerini etkilemez. FSH suprese olunca daha küçük olan foliküller atreziye uğrar ve monofoliküler gelişim çoğu hastada sağlanmış olur.

Kullanım şekli, siklusun 3-7 günleri arası 2,5mg/gün'dür. Eğer o siklus için ovulasyon sağlanıyorsa ve gebelik elde edilmiyorsa sonraki siklusta da aynı dozdan devam edilebilir. Ancak ovulasyon sağlanamazsa 5 mg ya da 7,5 mg şeklinde kullanımı uygun olacaktır. Maksimum dozu 7,5 mg/gündür.

Bir çalışmada 7,5 mg/gün letrozol ve 100 mg CC uygulamasıyla süperovulasyon sağlanıp İÜİ yapılan sikluslarda ölçülen endometrial kalınlıklarına bakılmış ancak arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür (54). Letrozolün, etki mekanizmasından kaynaklı düşük serum E₂ seviyelerine sebep olsa da östrojen reseptör blokajı yapmaması ile, endometrial kalınlık üzerine klomifen sitrattan daha az etki yapması beklenmektedir. 2018'de WHO grup 2 anovulasyonu olan kadınları içeren bir sistematik derlemede letrozol ile indüklenen sikluslarda anlamlı olarak endometrial kalınlık daha fazla izlenmiştir ancak bunun endometrial kalınlık üzerine etkisinin canlı doğum ve gebelik üzerine etkilerinin tartışmalı olduğu görülmüştür (55).

Polikistik over sendromlu infertil 750 kadının dahil edildiği çift kör çok merkezli randomize bir çalışmada 374 kadına letrozol, 376 kadına klomifen sitrat verildiğinde anlamlı olarak letrozol grubunda daha fazla canlı doğum oranı görülmüş ancak düşük oranları ve fetal malformasyon açısından anlamlı fark izlenmemiştir (56). Aynı çalışmada CC'ye göre letrozol ile elde edilen gebeliklerin daha az çoğul gebelik ile sonuçlandığı görülmüştür (56). 2021 yılında PKOS ve infertilite tedavisi kapsamında letrozol ve CC kullanılan sikluslar ile ilgili yapılan randomize kontrollü çalışmaların dahil edildiği bir metaanaliz yayınlanmıştır. Bu metaanalize toplamda 4168 hastanın 8310 siklusunun incelendiği 26 çalışma dahil edilmiştir. Bunun

sonuçlarına göre letrozol ile tedavi edilen siklularda ovulasyon oranının daha yüksek olduğu ilk basamak tedavi olarak kullanılabilceği teyit edilmiştir (57).

Letrozol dikkatli kullanıldığında OHSS riski çok düşüktür. PKOS'lu anovulatuvar kadınlarda ovulasyon indükasyonu için birinci tercih olup sitrata göre komplikasyon veya yan etkilerde belirgin bir artış yapmamaktadır.

2.3.3. Gonadotropinler

Ovulasyon indüksiyonunda CC ve aromataz inhibitörlerine cevapsız hastalarda kullanılabilen ilaç gurubu gonadotropinlerdir. Gonadotropinlerin kullanımı postmenopozal kadınların idrarından elde edilen hMG (insan menopozal gonadotropini) ile başlamıştır (58). Elde edilen hMG eşit miktarda (75IU) FSH ve LH içerir. Daha sonraki dönemlerde FSH çıkartılarak saflaştırılmış üriner FSH (ürofolitropin), 1 IU'den daha az LH içerip 75 IU FSH içermekteydi ancak intramusküler kullanım gibi zorlukları mevcuttur (59). Rekombinant FSH (rFSH) ise spesifik monoklonal antikorlar kullanılarak daha da saflaştırılıp 0,1 IU'den daha az LH içeren ve subkütan uygulanabilen formudur.

Ovulasyon indüksiyonu amaçlı GN kullanımının uygun olduğu hasta grubu; aromataz inhibitörleri ve CC kullanan, yaşam tarzı değişikliklerine cevapsız infertilitesi olan, hipogonadotropik anovulasyonu olan ve açıklanamayan infertilitesi olan gruplardır.

Hipogonadotropik hipogonadizm sebebiyle infertil olan popülasyonda hipotalamo-hipofizer-ovaryan aksta bozukluk mevcuttur. Gerekli GN salınımı olmaz ve overler folikül geliştirme amaçlı uyarılamaz. Bu sebepten dolayı bu grupta hem FSH hem de LH içeren preparatlar kullanılıp E₂ salınımı gerçekleşir ve overler uyarılır. Amaç unifoliküler gelişim olduğu için bu hastalar dikkat ile monitörize edilmelidir çünkü gerekli hormon seviyeleri sağlandığında bu hastalar normovulatuvar sayılırlar ve multifoliküler gelişim olasıdır. Hipogonadotropik hipogonadizmi olan 35 kadının dahil edildiği bir çalışmada hMG ve rFSH + rLH uygulanan gruplar karşılaştırılmıştır ve bu çalışmada rekombinant kombinasyonunda gebelik oranları daha fazla görülmüş; çoğul gebelik oranı total grupta %20 bulunmuştur (60). Bu hasta grubunda endojen

LH eksikliği olması sebebiyle luteal faz yetersizliği söz konusu olabilir ve hCG ya da progesteron ile luteal faz desteği gerekli olabilmektedir (61, 62).

Klomifen sitrat ve aromataz inhibitörlerine dirençli popülasyonda GN kullanımı endikedir. HMG ya da rFSH tedavisi ile ilgili 14 çalışmanın dahil edildiği, ovulasyon, gebelik, çoğul gebelik, abortus ve OHSS oranlarının karşılaştırmasının yapıldığı meta-analizde iki ajan arasında herhangi bir farklılık saptanmamıştır (63). Bu hasta grubunda aşırı uyarılma ya da çoğul gebelik riski olduğundan hastalar dikkatle monitörize edilmeli ve tedavi sürecinde doz ayarlamaları dikkatle yapılmalıdır. Bu grupta LH halihazırda yüksek olması nedeniyle teorik olarak dışarıdan LH içeren preparata gereksinim yoktur.

Açıklanamayan infertilitesi olan hastalarda GN süperovulasyonu gerçekleştirmek için kullanılır ve halihazırda ovulatar olan hastalarda preparatların herhangi biri kullanılabilir. Bu hasta grubunda CC'ye dirençli olan gruptan daha fazla çoğul gebelik riski vardır ve monitörizasyon dikkatle yapılmalıdır. Luteal faz desteği bu gruba verilmesinin gerekliliği savunulmaktadır. İnrauterin inseminasyon sikluslarında luteal faz desteğinin verilmesi ile ilgili yapılan 11 çalışmanın dahil edildiği bir meta-analizde progesteron ile yapılan luteal faz desteğinin klinik gebelik ve canlı doğum oranlarını arttırdığı görülmüştür (64).

Monofoliküler gelişim için uygulanması gereken dozlar geleneksel olarak 37,5-75 IU'dur. Seri transvajinal ultrasonografi takiplerinde doz ayarlaması yapılabilir.

Ovulasyon indüksiyonu sonrasında İÜİ tedavisi planlanmış hastalarda yalnızca CC, yalnızca gonadotropin ya da ikili kombinasyon kullanılabilir. Randomize bir çalışmada yalnızca gonadotropinin yalnızca CC'ye göre daha fazla gebelik oranının olduğu ancak yalnızca gonadotropinin, ikili kombinasyona üstünlüğü olmadığı görülmüştür (65). Bu sebeple hasta bazlı, klinisyenin tercihinine göre tedavi ajanları değişebilir. Klomifen sitrat ile kombinasyon yapıldığında maliyet düşeceği için tedavi seçenekleri arasında değerlendirilebilir.

2.4. İntrauterin İnseminasyon

İntrauterin inseminasyon (İÜİ), semenin bazı işlemlerden geçirilerek özel bir kateter yardımı ile uterin kaviteye verilmesi işlemidir.

İntrauterin inseminasyon endikasyonları :

- Açıklanamayan infertilite
- Hafif erkek faktör
- Servikal faktörler
- Seksüel disfonksiyon (vajinismus gibi)
- Ereksiyon ve ejakülasyon problemleri
- Evre 1-2 endometriozis
- Verici sperm kullanılması şeklinde özetlenebilir.

İnfertilite sebebine göre oranlar değişse de açıklanamayan infertilitede tedavi olmaksızın siklus başına fekundabilite %1,3-4,1; sadece CC ile %5,3; sadece İÜİ ile %4,7; sadece kontrollü ovulasyon indüksiyonu ile %4,1; kontrollü ovulasyon indüksiyonu ve İÜİ kombine edildiğinde ise bu oran %8,7-11,4'tür (4).

İntrauterin inseminasyonda mümkün olduğunca çok, işlevsel spermi fertilizasyon bölgesine ulaştırarak gebelik şansını arttırmak amaçlanmaktadır.

İntrauterin inseminasyon için gerekli olan sperm sayısının belirli bir eşik değeri olmasa da genel olarak kabul gören eşik değerler total ileri hareketli sperm sayısının hazırlık öncesi 5 milyon, hazırlık sonrası 1 milyonun üzerinde olmasıdır. Total ileri hareketli sperm sayısını hesaplamak için toplam semen hacmi, mililitredeki sperm sayısı ve ileri hareketli sperm yüzdesi kullanılır. Belirtilen değerlerin altındaki sperm sayısında İÜİ ile başarı şansı düşük olması sebebiyle hastalar invitro fertilizasyon tedavisine yönlendirilmelidir.

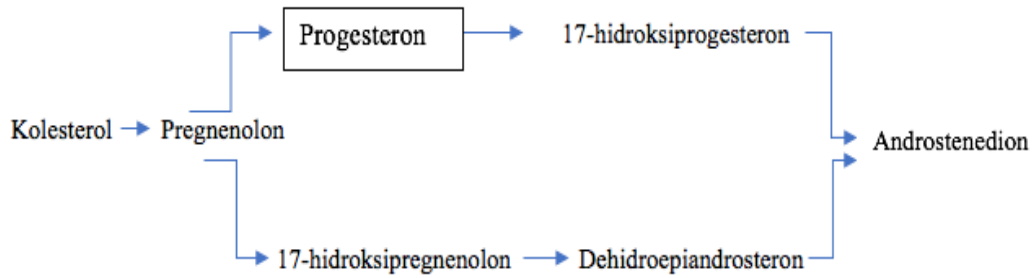
Ovulasyon indüksiyonunu takiben inseminasyonun zamanlaması netlik kazanmamıştır. LH pikinin kanda ya da idrarda tespiti ile ovulasyon teyidi yapılabilir ancak uygulama zorluğu mevcuttur. Bir adet 18 mm' e ulaşan dominant folikül varlığında ya da dominant folikül başına 200 pg/ml serum E₂ seviyesine ulaşıldığında

hCG ile ovulasyon tetkiklemesi yapılır. Ovulasyon sonrasındaki ideal inseminasyon saati konusunda birçok çalışma yapılmıştır. 2014 yılında yapılan Cochrane derlemesinde ovulasyon sonrası inseminasyon için dahil edilen 18 çalışma göz önüne alındığında ideal saat 34-36 saat olarak kabul edilse de de ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmiştir (66).

İntrauterin inseminasyonun gebelik elde etmek için kaç defa uygulanabileceğinin kesin bir üst sınırı olmasa da genellikle herkes tarafından kabul gören görüş 6 kez denenebileceğidir.

2.5. Progesteron Sentezi

Progesteron 21 karbonlu, kolesterol türevi olan pregnenolondan sentezlenen bir steroid hormondur. Progesteron üretimi bir miktar adrenal korteks ve testislerden olmakla birlikte esasen korpus luteum ve gebelikte plasentadan sağlanmaktadır.



Şekil 2.5.2. Progesteron sentezi

Ovaryan dokularda progesteronun biyosentezi asetattan kolesterol; kolesterolden de pregnenolon oluşumu şeklindedir. Progesteron sentezinin hız kısıtlayıcı basamağı kolesterolün, dış mitokondriyal membrandan iç mitokondriyal membrana taşınmasıdır. Bu taşınmayı sağlayan StAR proteinleridir. Korpus luteumdaki StAR protein seviyeleri erken luteal fazda orta seviyede; orta luteal fazda artış gösterip geç luteal fazda azalma göstermektedir (67). Kolesterolün pregnenolona dönüşümü mitokondrinin iç membranında bulunan sitokrom P450_{scc} enzimi ile katalize edilir. Pregnenolondan progesterona dönüşüm endoplazmik retikulumda 3-betahidroksisteroid dehidrogenaz enzimi tarafından gerçekleştirilir.

LH piki, foliküler rüptür ile birlikte teka ve granüloza hücrelerinin luteinizasyonu için sinyal oluşturur, luteal faz sırasında LH salınım pulsasyonu ile korpus luteumun fonksiyonu ve gelişimi devam eder, gebelik olduğu takdirde trofoblastlardan salınan hCG ile korpus luteum devamlılığı sürer. Tüm bu olaylar progesteron sekresyonunun devamı için gereklidir.

Preovulatar fazda progesteronun kan üretim hızı 1mg/gün'ün altında iken luteal fazda üretim 20-30 mg/gün'e yükselir. Luteal fazda serum progesteron düzeyleri 3-15 ng/ml arasında değişir.

Progesteronun %80'i albümine, %18'i kortikosteroid bağlayıcı globüline bağlıken %2'si ise serbest olarak bulunur. Karaciğerde pregnandiole çevrilir ve yarı ömrü kısadır. Vücuttan atılımı glukuronik asitle konjüge şekilde idrar ile olur.

Progesteronun fizyolojik etkileri esas olarak progesteron reseptörleri (PR) üzerinden gerçekleşir. Progesteron reseptörlerinin 2 izoformu PR-A ve PR-B'dir. PR-A normal ovaryan ve uterin fonksiyon için gerekliken PR-B meme gelişimi için gereklidir. PR-A aktivitesi genellikle inhibitör yönde iken PR-B aktivitesi pozitif yöndedir.

Progesteronun meme üzerine etkisi lobül ve alveol gelişimini uyarması, duktal doku farklılaşması ve laktasyon döneminde sekretuar işlev desteklemedir.

Endometrium, serviks ve vajendeki siklik değişimler progesteron ile uyarılır. Ovulasyon sırasında bazal vücut ısısının artmasından sorumlu olan progesterondur. Endometriumun kalınlaşmasını uyarıp implantasyona hazırlar. Endometriumdaki östrojen reseptörünü azaltır ve 17β E₂'nin daha az aktif östrojenlere dönüşümünü artırır.

2.6. Luteal Faz Fizyolojisi

Dominant folikül içindeki granüloza hücrelerinden salınan ve seviyesi artan E₂, anterior hipofizden LH salgısını uyarır bunun sonucunda ovulasyon gerçekleşir. LH piki ile gerçekleşen ovulasyondan, menstrüel kanamaya kadar geçen zaman luteal faz olarak adlandırılır. Luteal fazda granüloza hücreleri hacim olarak genişleyerek

vakuollü, lutein pigmentinin sebep olduğu tipik sarı renkli bir görünüm alır; oluşan yapıya korpus luteum ve tüm bu sürece luteinizasyon denir. Ovulasyon öncesinde granüloza hücreleri bazal laminadan ayrılır; luteinizasyon gerçekleştiğinde bazal lamina regrese olur ve yerini teka hücrelerine bırakır.

LH salınımı ile indüklenen vasküler endotelial growth faktör (VEGF) ve fibroblastik growth faktör (FGF) gibi anjiyogenik faktörlerin uyarımı sonucunda vaskülarizasyon ovulasyon sonrasındaki 9. günde maksimum düzeye ulaşır (68). Bu vaskülarizasyon artışına sebep olan LH düzeyleri aynı zamanda LDL reseptörlerindeki artışı uyarır (69, 70). Bu reseptörler ile steroid hormon sentezinin substratı olan kolesterol, mitokondriye alınır.

Korpus luteum kısıtlı ömrü olan, granüloza ve teka hücreleri, kılcal damarlar ve fibroblastlardaki hücrelerin büyüme, farklılaşma, ölüm bölgesidir ve en önemli işlevi progesteron üretimidir (71). Korpus luteum devamlılığı esasen LH tonik salınımına bağlıdır (72). Korpus luteumun devamlılığı gebelikte ovaryan, hipofizer ve plasental regülasyon ile olur. Korpus luteum progesteron salgılar ve olası bir gebelik halinde 7-10. haftaya kadar gebeliğin devamını sağlayacak progesteronun ana kaynağıdır. Korpus luteum, luteal faz sırasında E₂, büyüme hormonları ve androjenleri de üretir.

Korpus luteum heterojen bir yapıdır. Aynı şekilde luteal hücreler de homojen değildir ve iki farklı hücre grubundan oluşur; küçük luteal hücreler (teka hücrelerinden gelişir) ve büyük luteal hücreler (granüloza hücrelerinden gelişir). Küçük hücreler sayıca daha üstündür. İki hücre grubu da progesteron üretebilir ve bunların steroidogenez aktivitesi kendine özgü olup östrojen sentezindeki 'iki hücre' mekanizmasına benzediği düşünülmektedir (73). Büyük luteal hücreler östrojen sentezi için gereken p450-aromataz enzimini, küçük luteal hücreler de androjen üretimi için gereken P450c17 enzimini içerir (74, 75). Steroidogenezin çoğunluğu büyük luteal hücreler tarafından gerçekleştirilirken hCG ve LH reseptörleri sadece küçük hücreler tarafından eksprese edilmektedir (76). Erken luteal fazda progesteron üretimini, nonpulsatil şekilde üretim yapan büyük luteal hücreler yaparken (77), orta

luteal fazda LH ve hCG'ye yanıt veren ve pulsatil üretim yapan küçük luteal hücreler yapar (78).

Geç luteal fazda LH sekresyonunda azalma meydana gelir ve eğer oosit fertilize olmamışsa korpus luteumdan salınan serum P₄ ve E₂ seviyelerinde de bir düşüş meydana gelir. Bu düşüş sonucunda kanlanma azalır ve yaklaşık 14 gün sonra menstrüel kanama gerçekleşir. Korpus luteumda steroid hormon üretimi azalması ile negatif feedback etki ile FSH konsantrasyonları artarak bir sonraki siklus için folikül gelişimi başlamış olur.

Korpus luteumun devamlılığı gebelikte hCG tarafından uyarılır ve hCG için mRNA sentezi 6-8 hücreli insan embriyosunda bulunabilir (79). 8-12 hücreli evreye embriyo fertilizasyondan 3 gün sonra ulaştığı için insan embriyosunun implantasyondan önce hCG salgılamaya başladığı düşünülmektedir; çünkü ovulasyondan 6-7 gün sonra anne kanında hCG tespit edilebilmektedir. Embriyo implantasyon öncesinde de sinyal üretir ve hCG tespitinden önce yüksek serum E₂ ve P₄ değerleri ile karşılaşılır. Yüksek serum E₂ ve P₄ seviyeleri, uterustan direkt salgılanan hCG'nin over ve korpus luteumu uyarması ile olur (80). Primatlarda yapılan bir çalışmada anti-hCG enjeksiyonları ile abortus olması (81) ve korpus luteumu çıkarılan gebeliklerin abortus ile sonuçlanması (82) gebeliğin devamı için korpus luteum; korpus luteum devamlılığı için de hCG olması gerekliliğini göstermektedir. 10. haftadan sonra ise progesteron üretiminden tamamen plasenta sorumlu olsa da prekürsör olan asetatin kolesterol veya prekürsörlerine dönüşümü çok azdır. Plasental progesteron sentezi için gerekli olan kolesterol maternal kandan alınır ve bunun için feto-maternal ünitenin düzgün çalışması önemlidir. Progesteron sentezinde fetusun katkısı neredeyse yoktur ve bu yüzden fetal ölüm gerçekleştiğinde bile progesteron düzeyleri yüksek kalır.

Luteal faz fizyolojisi karmaşık bir fizyolojidir. Normal luteal faz tanımının anlaşılabilir olması için özet olarak Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (ASRM) 2015 yılında yayınladığı kurul görüşünde şu kriterleri tanımlamıştır (7);

- Luteal faz uzunluğu için 11-17 gün aralığı normal kabul edilebilir.

- Progesteron seviyeleri gebe olmayan kadınlarda ovulasyon sonrası 6-8 gün sonra pik yapmaktadır. Progesteron sekresyonu LH kontrolü altındadır ve LH etkisi ile korpus luteumdan pulsatil olarak orta-geç luteal dönemde salınır ve dalgalanma gösterir.
- Bu dönemde endometriumun cevabı foliküler fazdaki östrojen, luteal fazdaki östrojen ve progesteron seviyelerine göre değişir. Bu hormonların seviyesi de foliküler gelişime, ovulasyon olup olmamasına ve korpus luteum fonksiyonuna göre değişir. İmplantasyon olması halinde korpus luteumun devamı yükselen hCG seviyelerine bağlıdır ve hCG yükselişi olmazsa korpus luteum devamlılığı bozulup serum P₄ seviyeleri düşer.

2.7. Luteal Faz Yetmezliği

İmplantasyonun başarısı, sağlam bir blastokist, reseptif bir endometrium ve senkronize bir hormonal çevreye bağlıdır (82). İmplantasyon ve gebeliğin devamı için gerekli olan esas hormon progesterondur. Korpus luteumun fonksiyonunda bir defekt olması halinde P₄ üretiminde bir bozukluğa sebep olup infertilite ya da kötü gebelik sonuçlarına yol açtığı düşünülmektedir. Luteal faz yetmezliğinin tanımı hala netleştirilmese de normal sekretuar endometrium devamı, embriyo implantasyonu ve büyümesi için gerekli progesterona yetersiz maruziyet olarak tanımlanabilir (83). Klinik olarak luteal faz yetmezliği ise 10 günden daha kısa olan luteal faz olarak da tanımlanabilir. Ancak normal, sağlıklı, fertil kadınların %5'inde kısa luteal faz görülmüştür (84, 85).

Klinik luteal faz yetmezliğine sebep olabilecek 2 mekanizma öne sürülmüştür. Birincisi ve daha muhtemel olanı korpus luteumun fonksiyon bozukluğu ve bunun sebep olduğu yetersiz P₄ ve E₂ üretimidir (86). Korpus luteum fonksiyon bozukluğu ise dominant folikülün zayıf gelişiminden ya da normal gelişimi olan dominant folikülün korpus luteum gelişimini uyarmasının bozuk olmasından kaynaklanabilir. Diğer bir teori ise uygun P₄ seviyeleri olsa da buna verilen endometrial cevabın bozuk olmasıdır ve bu da endometrial cevabın yalnızca P₄ bağımlı değil de başka moleküler mekanizmalar ile de ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (87).

Progesteron düzeyleri orta luteal faz sırasında 4-40 ng/ml arasındaki değerler ölçülebilmekte ve 90 dakika içinde 8 kez dalgalanma gösterebilmektedir (77). Bu nedenle fertil kadınların luteal fazdaki progesteron düzeylerinin standart bir eşik değeri olamamaktadır ve tek bir serum P₄ değeri luteal faz yetmezliğinin tanısını koydurmamaktadır (88).

Luteal fazda alınan endometrial biyopsi, luteal faz yetmezliği tanısı için şu an kabul görmese de geçmiş yıllarda altın standart olarak değerlendirilmiştir (89). Daha sonraki yıllarda yayımlanan bir çalışmada, endometrium değerlendirmesi için fertil kadınların LH pikinin olduğu gün tespit edilip biyopsi alınmış ancak ikisi arasında zayıf bir korelasyon olduğu görülmüştü (90). Çok merkezli randomize kontrollü bir çalışmada, fertil ve infertil kadınların orta luteal ve geç luteal fazında alınan endometrial biyopsileri karşılaştırılmış ve iki grup arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir (91).

Bu bilgiler ışığında ASRM kurul görüşünde de belirtildiği gibi, luteal faz yetmezliğinin, fertil ve infertil kadınlar için ayrımını yapacak herhangi fizyolojik ve klinik pratik bir standart tanısı yoktur ancak bu luteal faz yetmezliğinin varlığını inkar etmek için bir sebep değildir (7).

2.8. Uyarılmış Sikluslarda Luteal Faz Yetmezliği

Uyarılmış sikluslarda luteal faz çeşitli mekanizmalarla etkileniyor olabilir. Ovulasyon indüksiyon ajanları serum P₄ seviyelerinde erken yükselmeye sebep olup anormal hormonal çevre sebebiyle endometrial reseptivitede bozulmaya yol açabilir (92).

Taze embriyo transferi yapılan IVF sikluslarında, gonadotropin ile hormon stimülasyonu, multifoliküler gelişim dolayısı ile artmış E₂ seviyeleri, GnRH agonisti ve antagonist kullanımı sonucu baskılanan LH seviyeleri, oosit toplama sırasında foliküler granüloza hücre aspirasyonu gibi sebepler muhtemel KL'den P₄ salınımını bozup luteal faz yetmezliğine sebep olabilir (93). Buna karşılık İÜİ sikluslarında daha düşük GN kullanılıp herhangi bir granüloza hücre aspirasyonu olmadığından LH ve FSH düzeylerine IVF sikluslarındaki kadar etkisi olmamaktadır. Ancak doğal siklus

ile ovulasyon indüksiyonu yapılmış sikluslar karşılaştırıldığında daha yüksek serum E_2 ve P_4 düzeyleriyle karşılaşılmıştır (94). Bu bilgiler ışığında geç foliküler faz ve erken luteal fazda yüksek konsantrasyonda bulunan seks steroidlerinin hipotalamo-pitüiter aksta negatif feedback etki oluşturarak LH sekresyonu baskılanıp KL'den progesteron sentezinin inhibe olduğu düşünülebilir. Duffy ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada yalnızca hMG ve hMG ile birlikte leuprolide asetat kullanılmış İÜİ sikluslarında luteal fazlar değerlendirilmiş ve karşılaştırılmıştır. Bu çalışmaya göre tüm İÜİ sikluslarında %13,9 luteal faz yetmezliği saptanmışken iki grup arasında gebelik sonuçları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır (95). Olson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gonadotropin ile uyarılmış İÜİ sikluslarında luteal faz yetmezliği %18,4 olarak bulunmuştur (96).

İntrauterin inseminasyon sikluslarında luteal faz desteği verilmesi konusu tartışmalı olmaya devam etmektedir. Yapılan bir meta-analizde gonadotropin kullanılan sikluslarda, luteal faz desteğinden yarar görülebileceği düşünülürken, CC ile uyarılmış sikluslarda luteal faz desteğinin yararı gösterilmemiştir (64). Klomifen sitrat hipotalamustaki östrojen reseptörlerine bağlanır ve GnRH üzerine negatif feedback etki göstermez dolayısı ile anterior hipofizden LH ve FSH salınımına etkisi olmaz. LH'nin aktivitesi engellenmediği için luteal fazdaki pulsasyonuna devam ederek E_2 ve P_4 seviyelerini artırır. Klomifen sitrat ile uyarılmış sikluslarda luteal faz desteğinin faydalı olmaması, etki mekanizmasına bağlanabilir.

2.9. Luteal Faz Monitörizasyonu

İmplantasyon için reseptif sekretuar endometriumu indükleyen uygun luteal faz P_4 üretimi gereklidir (97). İntrauterin inseminasyon sikluslarında ise luteal faz hormon dinamikleri ve gebelik sonuçları arasındaki ilişki net değildir.

Bugüne kadar birçok çalışma hem doğal siklus hem İÜİ siklusları özellikle de IVF sikluslarında serum P_4 seviyelerinin önemin, eşik değerini, destek tedavisi etkilerini belirlemek için yapılmıştır. İÜİ sikluslarında luteal faz monitörizasyonu yapılan çalışmalar genellikle orta luteal faz serum P_4 seviyeleri ölçümüne yoğunlaşmıştır.

Takaya ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada oral ovulasyon indüksiyon ajanları ile yapılan İÜİ ve zamanlanmış koitus sikluslarında orta luteal serum P₄ seviyeleri (ovulasyon +7. günde) değeri ölçülmüş, gebe olan ve olmayanların endokrin parametreleri karşılaştırılmıştır. Serum P₄ seviyeleri 5 percentile göre gebe olanlarda 5,6 bulunup istatistiksel olarak anlama ulaşmasa da gebe olan grupta anlamlı olarak medyan serum P₄ düzeyleri daha fazla görülmüştü(9, 98).

Arce ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hCG sonrası 6-9. günlerde serum P₄ seviyeleri ölçülmüş ve P₄ seviyeleri klinik gebeliği olan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bir progesteron yüksekliği saptanmıştır (14).

Hansen ve arkadaşları da orta luteal serum P₄ seviyelerinin değerlendirmesini yapmış ancak farklı olarak, 10 percentil değerini eşik değer olarak belirleyip grup karşılaştırmalarını yapmıştır. 10 percentile göre CC, letrozol ve gonadotropin sikluslarında sırasıyla eşik serum P₄ seviyeleri 15,8; 14,8 ve 9,1 ng/mL bulunmuştur. Düşük serum P₄ seviyelerine sahip olan grupta canlı doğum oranı %1,2; normal serum P₄ seviyelerine sahip grupta %8,1 olup bu fark istatistiksel anlama ulaşmıştır (9). Benzer bir çalışma Costello ve arkadaşları tarafından yapıldı. Serum P₄ seviyeleri hCG+7 günde 25, 50 ve 75 percentile göre ayrıldı ve klinik gebelik sonuçlarına etkisine bakıldı. Farklılıklar hiçbir grupta istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır (12).

Sonuç olarak herkes tarafından kabul edilen luteal faz monitörizasyon zamanı ya da serum P₄ seviyelerinin eşik değeri henüz net değildir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Hasta seçimi

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'ndan alınan GO20/550 kayıt numaralı izne istinaden Haziran 2020-Mayıs 2021 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı polikliniğine infertilite nedeniyle başvuran, araştırma için uygun şartları sağlayan ve araştırmaya katılmayı kabul eden, İÜİ tedavisi uygulanan hastalar dahil edilerek yapılmıştır. Hastalar bu çalışmaya dahil edilirken eşlerinden ve kendilerinden aydınlatılmış onam alınmıştır.

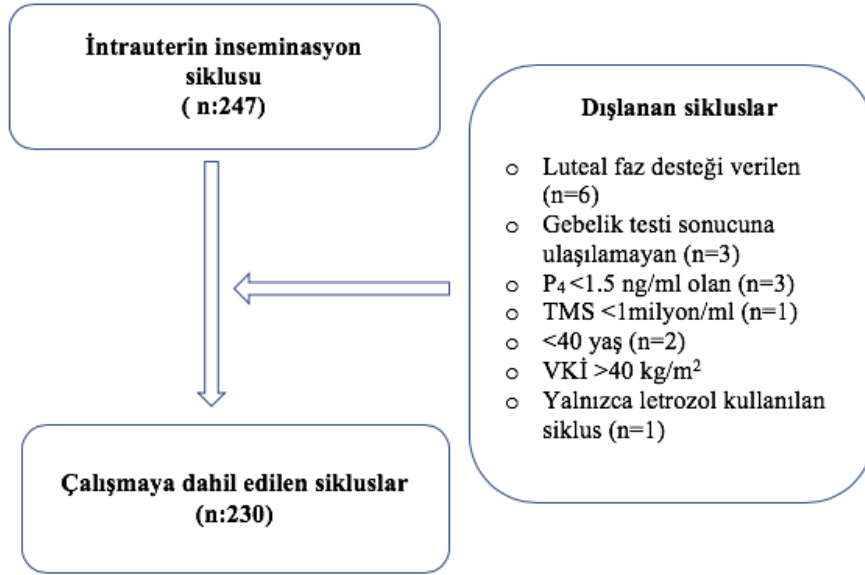
Dahil edilme kriterleri:

- İÜİ kararı alınmış hastalar
- 40 yaş altında olan hastalar
- Rekombinant hCG ile tetiklenmiş sikluslar
- Ovulasyon indüksiyon ajanı olarak yalnızca gonadotropin veya gonadotropin ile birlikte letrozol/CC kullanılan hastalar
- VKİ 40 kg/m² altında olan hastalar

Dışlama kriterleri:

- 40 yaş ve üzeri hastalar
- Luteal faz desteği verilmiş hastalar
- VKİ >40 kg/m² olan hastalar
- Total motil sperm sayısı <1 milyon olan hastalar
- Ovulasyon indüksiyonu yalnızca letrozol/ CC ile yapılanlar
- Gebelik testi sonucuna ulaşamayan hastalar
- P₄ <1.5 ng/ml

Hacettepe Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü'nde Haziran 2020-Mayıs 2021 tarihleri arasında 194 hastaya toplamda 247 siklus İÜİ yapıldı. Bu hastaların, 6 hasta luteal faz desteği verildiğinden, 3 hasta gebelik testi sonucuna ulaşamadığından, 3 tanesinin hCG+5 ve hCG+7 serum P₄ seviyeleri 1,5 ng/dL olmasından, 1 hasta hazırlık sonrası total motil sperm sayısının <1 milyon/ml olmasından, 1 hasta 40 yaş üzeri olmasından, 1 hasta VKİ 40 kg/m² üzerinde olmasından, 1 hasta yalnızca letrozol verilmesi nedeniyle çalışmadan çıkarıldı. Dışlama kriterleri uygulandıktan sonra 179 hastanın 230 siklusu çalışma kapsamında dahil edildi.



Şekil 3.1. Hasta Katılımını Gösteren Diyagram

3.2. İntrauterin İnseminasyon Öncesi Hazırlık Protokolü

İnfertilite tanısı alıp İÜİ kararı verilmiş olan hastaların adetinin 2-5. günü arasında indüksiyona başlandı. Klinisyen tercihinine göre yalnızca gonadotropin (Gonal-F, Merck; Menopur, Ferring) ile ya da gonadotropin ve CC (Klomen, Koçak Farma) ile uyarım yapıldı. CC, multifoliküler gelişimi önlemek ve uyarımda gerekli olan doz ihtiyacını azaltmak amacıyla tedavi protokolüne eklendi. CC 50 mg oral olarak günde bir sefer 5 gün boyunca verildi. Gonadotropin dozu hasta

bireyselleştirilerek en az 37,5 IU en fazla 150 IU dozunda olmak üzere uygulandı. Hastalar 5-7 günlük uyarım sonucunda transvajinal ultrason ile değerlendirildi. Takiplerde cevapsızlık durumunda doz artırımına gidildi. En az 1 folikül 18 mm boyuta ulaşana kadar uyarıma devam edildi ve uygun folikül boyutuna ulaşıldığında 250 µcg hCG (Ovitrelle, Merck) enjeksiyonu yapıp 24-36 saat sonrasında İÜİ işlemi gerçekleştirildi.

3.3. İntrauterin İnseminasyon Tekniği

İntrauterin inseminasyon sırasında öncelikle hastalar jinekolojik muayene masasında litotomi pozisyonuna alınarak vajene steril spekulum yerleştirildi. İşlem sırasında servikal mukus serum fizyolojik ile ıslatılmış gazlı bez ile temizlendi. İnseminasyon kateteri olarak “Cook Shaperd İÜİ Kateteri” kullanıldı. Yıkanmış semen örneği katetere insülin enjektörü yardımı ile çekildi. Kateter servikal kanaldan ilerletildi ve ortalama 7. santimetrede kateter içindeki semen örneği uterin kaviteye verildi. Kaviteye semen örneği verilirken mümkün olduğunca kateter ucunun fundusa temas etmemesine özen gösterildi. İÜİ sonrası hastalar yaklaşık 15 dakika yatarak istirahat etti.

3.4. Laboratuvar Değerlendirmesi

Hastaların laboratuvar değerlendirmesi, İÜİ kararı öncesinde AMH değerleri mevcut olan hastalar not edildi. Çalışma amacıyla hCG+5 ve hCG+7 günlerde serum P₄ düzeylerine sabah 9:00-12:00 arasında bakıldı. İntrauterin inseminasyon sonrasındaki 2. haftada menstrüel kanaması başlamayan hastalara kanda β-hCG bakıldı.

3.5 Gebelik Değerlendirilmesi

Gebelik İÜİ sonrası kanda β-hCG ile değerlendirildi. 30 mIU/mL altı biyokimyasal gebelik olarak değerlendirildi. 12. haftadan önce gebelik kaybı abortus olarak değerlendirildi. Klinik gebelik, transvajinal ultrasonografide gestasyonel kese gözükten hastalar ve abortus ile sonuçlandıysa da patoloji değerlendirmesi sonucu trofoblastik doku izlenmiş hastaların toplamı olarak ele alındı. 12. gebelik haftasından daha büyük gebelikler devam eden gebelik kategorisine eklendi.

3.6. İstatistiksel Analiz

Değişkenlerin dağılım özellikleri Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri kullanılarak analiz edildi. Görsel değerlendirmeler histogramlar, kutu grafikleri ve Q-Q grafikleri kullanılarak yapıldı. Sürekli değişkenler, uygunluğuna göre ortalama \pm standart sapma (SD) veya ortanca ve minimum-maksimum olarak ifade edildi. Dağılım özelliklerine göre karşılaştırmalar, independent samples t-test veya Mann-Whitney-U testi kullanılarak yapıldı. Kategorik değişkenleri karşılaştırmak için Ki-kare ve Fisher's exact test kullandı. Ovulasyon tetkikmesinden 7 gün sonra bakılan serum P₄ düzeylerinin prediktif değerini ve devam eden gebelik için optimal cut-off değerlerini belirleyebilmek için receiver operating characteristic (ROC) eğrisi ve eğri altında kalan alan (AUC) kullanıldı. Lojistik regresyon analizi ΔP_4 negatifliğine sebep olan faktörlerin araştırılması için yapıldı. Aynı hastaların farklı sikluslarının da çalışmaya dahil edilmesinden dolayı multivariate analiz Generalized Estimated Equations kullanılarak yapıldı. İstatistiksel analizler SPSS 22.0 (IBM Corp., USA) kullanılarak yapıldı.

3.7. Etik Kurul Onayı

Etik kurul onayı, Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'ndan 23 Haziran 2020 tarihinde GO20/550 kayıt numarası ile alınmıştır.

Bu çalışma clinicaltrials.gov veri tabanına kayıt edilmiştir (NCT04707430).

4. BULGULAR

4.1 Hastaların Bazal Demografik Özellikleri

Toplamda 179 hastanın 230 siklusu incelenmiştir. Kadın yaşı ortalama 29,38 ($\pm 4,22$); erkek yaşı ortalama 32,15 ($\pm 4,25$) olarak hesaplanırken vücut kitle indeksleri kadınların ortalama 25,31 kg/m^2 ($\pm 4,60$), erkeklerin 28,3 kg/m^2 ($\pm 19,1$) olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.1).

Çalışmaya dahil edilen çiftlerin infertilite sebeplerine bakılacak olursa: 41'inin (%22,9) anovulasyon, 15'inin (%8,4) erkek faktör, 123'ünün (%68,7) açıklanamayan infertilite olduğu görüldü. Bu hastaların 57'si (%31,8) sekonder infertil ve ortanca infertilite süreleri 30 ay idi (min=6, maks=144). Daha önce infertilite tedavisi kapsamındaki İÜİ tedavisi bu hastalarda en az ilk kez denenirken en çok 2 kez denenmiştir (Tablo 4.1).

Hastaların AMH düzeyi ortalama 3,4 ng/mL (min=0,4; maks=32) ölçülmüş, total antral folikül sayısı minimum 4, maksimum 63 izlenirken ortanca değer 17'dir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Hastaların Bazal Demografik Özellikleri, İnfertilite Nedenleri ve Tedavi Sonuçları

Hasta sayısı, n	179
Siklus sayısı, n	230
Kadın yaşı, yıl	29,38 \pm 4,22
Erkek yaşı, yıl	32,15 \pm 4,25
Kadın vücut kitle indeksi, kg/m^2	25,31 \pm 4,60
Erken vücut kitle indeksi, kg/m^2	28,3 \pm 19,1
İnfertilite nedeni, n (%)	
Anovulasyon	41 (%22,9)
Erkek faktör	15 (%8,4)
Açıklanamayan infertilite	123 (%68,7)
İnfertilite süresi, ay	30 (6 –144)

Sekonder infertilite, n (%)	57 (%31,8)
Önceki İÜİ siklus sayısı, n	0 (0 – 2)
Anti-Mullerian Hormon, ng/mL	3.4 (0,4 – 32)
Total antral follikül sayısı, n	17 (4 – 63)
Ovulasyon indüksiyon protokolü n (%)	
Gonadotropin	69 (%30,0)
Klomifen +gonadotropin	161 (%70)
Gonadotropin başlangıç dozu, IU	75 (37,5 – 150)
Gonadotropin toplam doz, IU	375 (75 – 1950)
>17 mm folikül sayısı, n	1 (1 – 4)
>14 mm folikül sayısı, n	2 (1 – 5)
Erkek sigara içimi, n (%)	85 (%47,5)
Perhiz süresi, gün	3 (1 – 5)
Yıkama öncesi total motil sperm yüzdesi	58 (21 – 96)
Yıkama sonrası ileri hareketli sperm yüzdesi	89 (60 – 96)
Yıkama sonrası ileri hareketli sperm sayısı	18 (3 – 108)
Yıkama sonrası sperm sayısı	20 (4 – 113)
Yıkama sonrası sperm motilitesi	95 (75 – 98)
İÜİ+3 serum P ₄ , ng/mL	14.1 (1,6 – 74.1)
İÜİ+5 serum P ₄ , ng/mL	18.9 (1,5 – 100.4)
Pozitif hCG, n/n (%)	28/230 (%12,2)
Biyokimyasal gebelik, n/n (%)	7/230 (%3)
Klinik gebelik, n/n (%)	20/230 (8,7)
Abortus, n/n (%)	3/230 (%1,3)
Devam eden gebelik, n/n (%)	17/230 (%7,4)

*Normal dağılım olduğunda Ortalama \pm SD; normal dağılım olmadığında medyan (minimum; maksimum) olarak belirtilmiştir.

Ovulasyon indüksiyon protokolü olarak tüm siklusların 69'unda (%30) yalnızca gonadotropin kullanılırken 161'inde (%70) klomifen sitrat ve gonadotropin birlikte

kullanılmıştır. Yalnızca gonadotropin ve gonadotropin+CC kullanımı klinisyenin tercihinine göre değişmektedir. Gonadotropin ve CC birlikte kullanımı multifoliküler gelişimi önlemek ve doz ihtiyacını azalmak için klinisyen tercihi ile bazı sikluslarda kullanılmıştır. Protokol olarak 5 gün 50 mg CC kullanımını takiben yapılan ultrason ölçümlerine göre ek gonadotropin dozu uygulanmıştır. Gonadotropin başlangıç dozu minimum 37,5 IU maksimum 150 IU iken ortanca değer 75, toplam kullanılan doz miktarı minimum 75 IU, maksimum 1950 IU olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.1).

Bireysel olarak verilmiş olan tedavi sonucunda 17 mm üzeri folikül sayısı minimum 1 maksimum 4 iken; 14 mm üzeri folikül sayısı minimum 1 maksimum 5 görülmüştür (Tablo 4.1).

Erkek hastalar incelendiğinde sigara içen hasta sayısı 85 (%47,5) görüldü. Erkek hastaların perhiz süresi minimum 1 maksimum 5 gün iken ortanca perhiz süresi 3 gün olarak izlenmiştir (Tablo 4.1).

Intrauterin inseminasyon günü alınan sperm örnekleri incelendiğinde; yıkama öncesi total motil sperm yüzdesi 58 (min=21; maks=96), yıkama sonrası ileri hareketli sperm yüzdesi 89 (min=60; maks=96), yıkama sonrası ileri hareketli sperm sayısı 18 milyon (min=3, maks=108), yıkama sonrası ileri hareketli sperm sayısı 20 milyon (min= 4; maks=113), yıkama sonrası sperm motilitesi 95'dir (min=75; maks=98) (Tablo 4.1).

4.2. Reprodüktif Sonuçlar

Gebelik sonuçlarına bakıldığında 230 siklusun 28'inde (%12,2) gebelik testi pozitif izlenirken; bunların 20'si (%8,7) klinik gebelik, 7'si (%3) biyokimyasal gebelik, 3'ü (%1,3) abortus, 17'si (%7,4) devam eden gebelik olarak izlenmiştir (Tablo 4.1).

4.3. P₄ Değerine Göre Kategorize Edilmiş Siklusların Karakteristikleri

Hastalar hCG sonrası 5. ve 7. günde ölçülen P₄ değerlerinin 10 persentil değerlerine göre düşük ve normal olarak iki gruba ayrıldı. Tüm sikluslar içinde 183 siklusta hCG+5 P₄, 161 siklusta hCG+7 P₄ seviyelerine bakılabildi. Bu sikluslardaki P₄ seviyesi verilerine göre hCG+5 P₄ seviyesinin 10 persentile karşılık gelen değeri

5,6 ng/mL; hCG+7 P₄ seviyesi ise 8,46 ng/mL hesaplandı. 10 percentilin altında olanlar düşük P₄, üzerinde olanlar normal P₄ olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.3.1. hCG + 5 P₄ 10 percentile göre kategorize edilmiş siklusların karakteristikleri

	hCG+5 serum P ₄ (ng/mL)		P
	Düşük (≤%10p) (P ₄ ≤5,60ng/ml) n=19	Normal (>%10) (P ₄ >5,60ng/ml) n=164	
Kadın yaşı, yıl	29,16 (±3,6)	29,32 (±4,2)	0,87
Erkek yaşı, yıl	32,28 (±4,4)	32,24 (±4,2)	0,97
Kadın vücut kitle indeksi, kg/m ²	25,66 (±4,8)	24,95 (±4,3)	0,52
Erkek vücut kitle indeksi, kg/m ²	27,51 (±2,9)	27,19 (±3,4)	0,70
İnfertilite nedeni, n (%)			0,08
Anovulasyon	8 (%42,1)	37 (%22,6)	
Erkek faktör	2 (%10,4)	12 (%7,3)	
Açıklanamayan infertilite	9 (%47,4)	115 (%70,1)	
İnfertilite süresi, ay	35,7 (17,5)	32,7 (16,6)	0,44
Sekonder infertilite, n (%)	3 (%15,8)	56 (%34,1)	0,10
Önceki İÜİ siklus sayısı, n	0,16 (0,37)	0,49 (0,69)	0,04
Anti-Mullerian Hormon, ng/mL	6,13 (7,52)	4,75 (4,97)	0,32
Total antral folikül sayısı, n	27,1 (15,7)	20,54 (11,51)	0,31
Ovulasyon indüksiyon protokolü n (%)			0,03
Gonadotropin	10 (%52,6)	47 (%28,6)	

CC + Gonadotropin	9 (%47,4)	117 (%71,3)	
Gonadotropin başlangıç dozu, IU	73,03 (8,60)	72,26 (12,84)	0,79
Gonadotropin toplam dozu, IU	438,16(339,05)	419,6 (256,54)	0,77
>17 mm folikül sayısı, n	1,10 (0,31)	1,32 (0,59)	0,11
>14 mm folikül sayısı, n	1,52 (0,69)	1,92 (0,82)	0,04
Erkek sigara içimi, n (%)	7 (%8)	80 (%92)	0,37
Perhiz süresi, gün	2,47 (1,30)	2,67 (1,56)	0,60
Yıkama öncesi total motil sperm yüzdesi	53,78 (10,85)	58,14 (12,70)	0,15
Yıkama sonrası ileri hareketli sperm yüzdesi	87,05 (4,9)	87,24 (6,1)	0,89
Yıkama sonrası ileri hareketli sperm sayısı	16,55 (10,7)	23,6 (17,0)	0,07
Yıkama sonrası sperm sayısı	18,7 (11,6)	26,2 (17,9)	0,07
Yıkama sonrası sperm motilitesi	92,6 (5,6)	93,6 (3,8)	0,28
Pozitif hCG, n (%)	2 (%10,5)	17 (%10,3)	0,98
Biyokimyasal gebelik, n (%)	0 (%50)	5 (%3,04)	0,59
Klinik gebelik, n (%)	2 (%10,5)	12 (%7,3)	0,59
Abortus, n (%)	0 (%0)	2 (%1,2)	0,59
Devam eden gebelik, n (%)	2 (%10,5)	9 (%5,4)	0,59

* hCG sonrası 5. günde cut-off değerlerine göre düşük ve normal olarak gruplar oluşturuldu. 5. gün için bu değer 5,6 olarak hesaplandı. Değerler ortalama ve SD değerler olarak ifade edildi. Kategorik olan değerler yüzde olarak ifade edildi. Yaş, VKİ, AMH, infertilite nedeni ve tipi bazal demografik özellikleri olup diğer değişkenler siklus spesifik olarak verilmiştir.

Bu analizde görüldüğü üzere hCG+5 P₄ göre kategorize edilmiş gruplar arasında kadın yaşı, erkek yaşı, kadın ve erkek VKİ'leri, infertilite nedenleri ve süreleri, sekonder infertilite oranları, AMH düzeyleri, total antral folikül sayıları, induksiyon protokolleri, gonadotropin başlangıç ve toplam dozu, erkek sigara içimi, sperm

parametreleri, pozitif gebelik ve diğer reproduktif sonuçlar açısından anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 4.3.1).

Bu gruplar arasında 17 mm üzeri folikül sayısı [1,10 (0,31) vs 1,32 (0,59) ($p=0,11$)] açısından anlamlı fark yokken; 14 mm üzeri folikül sayısı normal hCG+5 P₄ düzeyine sahip grupta anlamlı olarak daha fazla izlenmiştir [1,52 (0,69) vs 1,92 (0,82) ($p=0,04$)] (Tablo 4.3.1).

Tablo 4.3.2. hCG+7 P₄ 10 persentile göre kategorize edilmiş siklusların karakteristikleri

hCG+7 serum P₄ (ng/mL)			
n=161			
	Düşük (\leq%10)	Normal ($>$%10)	P
	P₄\leq8,46	P₄$>$8,46	
	n=16	n=145	
Kadın yaşı, yıl	28,7 (\pm 3,6)	29,5 (\pm 4,3)	0,46
Erkek yaşı, yıl	30,5 (\pm 4,3)	32,3 (\pm 4,6)	0,12
Kadın vücut kitle indeksi, kg/m ²	28,3 (\pm 6,4)	24,9 (\pm 4,1)	0,005
Erken vücut kitle indeksi, kg/m ²	28,5 (\pm 4,1)	27,2 (\pm 3,3)	0,19
İnfertilite nedeni, n (%)			0,26
Anovulasyon	9 (%56,3)	31 (%21,4)	
Erkek faktör	0 (%0)	12 (%8,3)	
Açıklanamayan infertilite	7 (%43,8)	102 (%67,7)	
İnfertilite süresi, ay	35,8 (16,3)	33,7 (19,6)	0,67
Sekonder infertilite, n (%)	4 (%8,2)	45 (%91,8)	0,61
Önceki İÜİ siklus sayısı, n	0,13 (0,3)	0,48 (0,6)	0,03
Anti-Mullerian Hormon, ng/mL	7,5 (8,6)	4,7 (5,1)	0,08
Total antral folikül sayısı, n	28,1 (17,4)	20,7 (11,3)	0,02
Ovulasyon indüksiyon protokolü n (%)			0,15
Gonadotropin	8 (%50)	43 (%29,7)	

CC+ gonadotropin	8 (%50)	102 (%70,3)	
Gonadotropin başlangıç dozu, IU	75 (0)	72,4 (13,0)	0,42
Gonadotropin toplam doz, IU	465,6 (363,5)	24,3 (255,7)	0,56
>17 mm folikül sayısı, n	1 (0)	1,3 (0,6)	0,02
>14 mm folikül sayısı, n	1,3 (0,5)	1,9 (0,8)	0,006
Erkek sigara içimi, n (%)	5 (%6,6)	71 (%93,4)	0,31
Perhiz süresi, gün	3 (2,2)	2,6 (1,5)	0,40
Yıkama öncesi total motil sperm yüzdesi	57,5 (12,5)	57,6 (12,6)	0,98
Yıkama sonrası ileri hareketli sperm yüzdesi	87,7 (5,7)	87,5 (5,8)	0,87
Yıkama sonrası ileri hareketli sperm sayısı	20,3 (14,9)	23,9 (16,3)	0,40
Yıkama sonrası sperm sayısı	22,8 (15,7)	26,4 (17,1)	0,42
Yıkama sonrası sperm motilitesi	93,3 (4,9)	93,8 (3,8)	0,64
Pozitif hCG, n (%)	2 (%12,5)	17 (%11,7)	0,92
Biyokimyasal gebelik, n (%)	1 (%6,25)	4 (%2,75)	0,55
Klinik gebelik, n (%)	1 (6,25)	13 (%8,96)	0,55
Abortus, n (%)	1 (%6,25)	1 (%0,6)	0,55
Devam eden gebelik, n (%)	0 (%0)	11 (%7,5)	0,55

* hCG sonrası 7.günde sınır-değerlerine göre düşük ve normal olarak gruplar oluşturuldu. 7. gün için 8,46 olarak hesaplandı. Değerler ortalama ve SD değerler olarak ifade edildi. Kategorik olan değerler yüzde olarak ifade edildi. Yaş, VKİ, AMH, infertilite nedeni ve tipi bazal demografik özellikleri olup diğer değişkenler siklus spesifik olarak verilmiştir.

Kadınların vücut kitle indeksine bakıldığında hCG+7 P₄ düzeyi 10 persentil üzeri olan grupta kadınların vücut kitle indeksi 24,9 (± 4,1) kg/m²; 10 persentil altındaki grupta 28,3 (± 6,4) kg/m² idi ve bu iki grup arasındaki farklılık istatistiksel anlama ulaşmıştı (p=0,005) (Tablo 4.3.2).

Daha önce uygulanmış olan İÜİ siklus sayısı normal P₄ seviyesine sahip grupta anlamlı olarak daha fazla idi [0,13 (0,3) vs 0,48 (0,6) p=0,03] (Tablo 4.3.2).

Total antral folikül sayısı istatistiksel olarak düşük P₄ seviyesi olan grupta daha fazla idi [0,13(0,3) vs 0,48(0,6) p=0,02] (Tablo 4.3.2).

HCG+7 P₄ seviyesi normal olan grupta >17 mm folikül sayısı daha fazla olup bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur [1(0) vs 1,3(0,6) p=0,02] (Tablo 4.3.2).

14 mm' den büyük folikül sayısı her iki grupta da istatistiksel olarak normal P₄ seviyesi olan hastalarda anlamlı düzeyde fazla görülmüştür [1,3 (0,5) vs 1,9 (0,8) p=0.006] (Tablo 4.3.2).

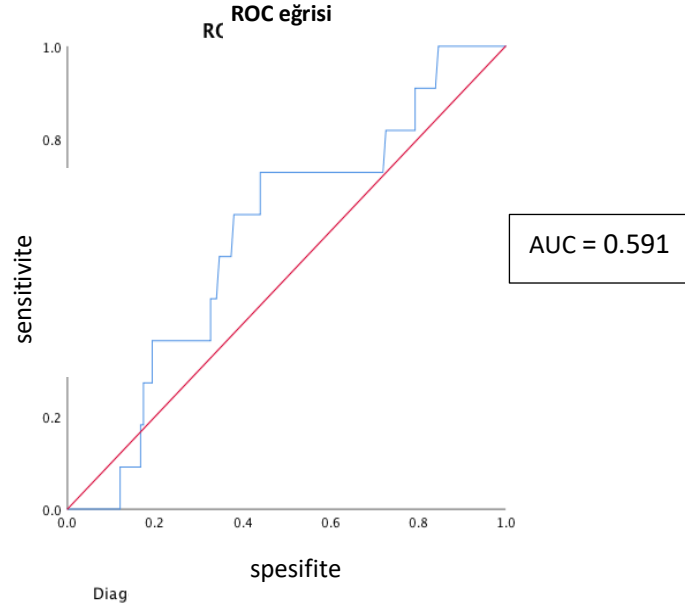
Kadın yaşı ve erkek yaşı, erkek VKİ, sperm parametreleri, erkek sigara içimi, perhiz süresi, AMH düzeyleri, gonadotropin başlangıç ve toplam dozu, infertilite süresi, infertilite nedenleri, sekonder infertilite oranı açısından düşük-normal P₄ sahip gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.3.2).

Biyokimyasal gebelik, klinik gebelik, abortus, devam eden gebelik açısından iki grupta anlamlı fark izlenmemiştir (Tablo 4.3.2).

Toplam 161 hastanın hCG+7 gün P₄ değerine ulaşılmış olup 10 persentil altında olan 16 hastada devam eden gebelik izlenmezken 10 persentil üzerindeki 145 hastanın 11'inde (%7,6) devam eden gebelik görülmüştür ancak p değeri 0,604 olup istatistiksel anlama ulaşmamıştır. P₄'ün düşük ve normal değerlerine göre odds ratio'ya (OR) baktığımızda 0,89 (%95 CI = 0,84-0,94) kat daha az gebelik izlenmiştir.

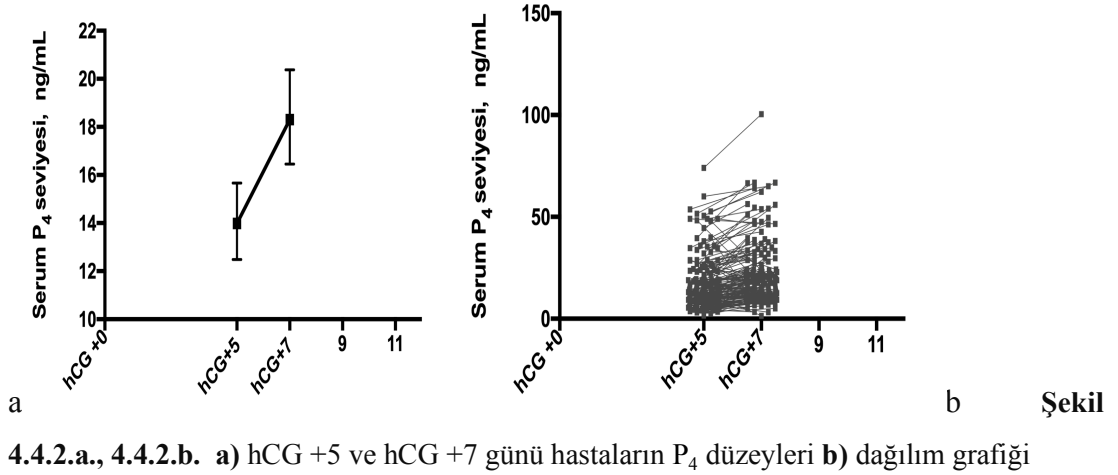
4.4 Serum P₄ Düzeyleri

Çalışmamızda ana değerlendirme parametresi olan serum P₄ seviyelerine, İÜİ sonrası 3. günde (hCG enjeksiyonu sonrası 5. gün) ve 5. günde (hCG enjeksiyonu sonrası 7. günde) bakıldı. Bu değerler sırasıyla ortalama 14,1 ng/ml (min 1,6, maks=74,1) ve 18,9 ng/ml idi (min=1,4; maks= 100,4). (Tablo 4.1)



Şekil 4.4.1 hCG+7 P₄ 'ün devam eden gebelik üzerine etkisi- ROC eğrisi.

Şekildeki ROC eğrisinde hCG+7 gününde ölçülen serum P₄ düzeyinin devam eden gebelik oranını tahmin etme gücüne bakıldığında, eğri altında kalan alan AUC: 0,591 (%95 CI, 0,43-0,74) olarak bulunmuştur (şekil 4.4.1)

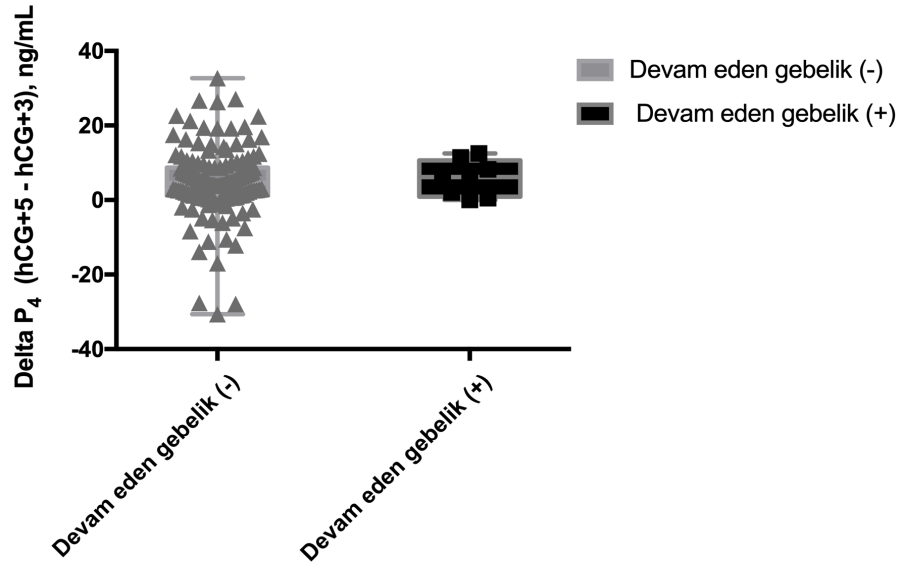


Yukarıdaki şekillerde hastaların siklusa göre hCG+5 ve hCG+7 P₄ değerlerinin dağılımını gösterilmiştir. Bu grafiklere göre hastaların P₄ değerleri bu iki güne

bakıldığında genellikle artış gösterse (n=130; %83,3) de bazı hastalarda P₄ değerleri düşme eğiliminde (n=26; %16,7) izlenmiştir (Şekil 4.4.2.).

4.5. Delta P₄ (ΔP_4) ng/ml = hCG+7 P₄ – hCG+5 P₄

Delta progesteron; hCG sonrası 7. gün değerinden 5. gün değeri çıkarılarak bulunmuştur [$\Delta P_4 = (hCG+7) - (hCG+5)$]. Yukarıdaki şekilde ΔP_4 'ün devam eden gebelik üzerine etkisine bakılmıştır. Toplamda 156 siklus için ΔP_4 verisi mevcuttu.



Şekil 4.5. Devam eden gebeliği olan ve olmayan hastalardaki ΔP_4 ng/mL (hCG+7 günü – hCG +5 günü) değerleri ile oluşturulan dağılım grafiği

ΔP_4 'e bakıldığında negatif değerlerde gebelik 0,8 kat daha az görülmüştür (OR= 0,82 %95 CI=0,76-0,90). Bu değeri negatif olan 26 hastanın şekilde de görüldüğü üzere hiçbirinde devam eden gebelik görülmedi. Pozitif ΔP_4 olan 130 hastanın 8'inde (%6,2) hastada devam eden gebelik izlenmiştir (Şekil 4.5.).

4.6. ΔP_4 negatifliği üzerine etkili faktörlerin araştırılması

Lojistik regresyon analizi ΔP_4 üzerinde etkili faktörlerin araştırılması için yapıldı. Bu model oluşturulurken yaş, VKİ, AMH, infertilite süresi, infertilite tipi, 14 mm'den büyük folikül sayısı, infertilite nedeni, ovulasyon indüksiyon protokolü gibi faktörler dahil edilmiştir. Bu analizde ΔP_4 negatifliği üzerinde etkili tek bağımsız prediktörün

VKİ olduğu görülmüştür ($p= 0,048$). Sonuç olarak VKİ indeksi 1 birim arttıkça ΔP_4 negatifliğinin %13 kadar arttığı görülmüştür (OR:1,135; CI:1,001-1,297) (Tablo 4.6)

Tablo 4.6: ΔP_4 negatifliği üzerinde bağımsız prediktörlerinin tespiti için lojistik regresyon analizi (n=156)

	Odds Ratio (OR)	%95 Güven Aralığı	P
Yaş	1,021	0,885—1,178	0,776
VKİ	1,135	1,001—1,287	0,048
İnfertilite tipi	0,648	0,190—2,211	0,489
İnfertilite nedeni	0,844	0,314—2,268	0,737
İnfertilite süresi	0,995	0,962—1,029	0,772
Ovulasyon indüksiyon protokolü	0,949	0,304 – 2,965	0,928
>14 mm folikül sayısı	1,032	0,516—2,065	0,929

VKİ: Vücut Kitle İndeksi; AMH: Anti-Müllerian Hormon,

4.7. Devam Eden Gebelik Olan ve Olmayan Hastaların Karşılaştırılması

Çalışmaya dahil olan hastaların bazılarında yalnızca bir siklus İÜİ tedavisi yapılmışken bazılarında iki siklus İÜİ yapılmıştır. Aynı hastanın 2 kez farklı sikluslarda dahil edilmesinden dolayı multivariate analiz yapılmıştır. Bağımlı değişken olarak devam eden gebelik belirlenmiştir. Multivariate-GEE (generalized estimating equation) analizinde olası karıştırıcılar kadın ve erkek yaşı, kadın ve erkek VKİ, infertilite tipi, infertilite nedeni, AMH, infertilite süresi, ovulasyon indüksiyon protokolü, toplam kullanılan gonadotropin dozu, hCG günü 17 mm ve 14 mm'den büyük folikül sayısı, hCG+5 ve hCG+7 günü serum P_4 seviyeleri, yıkama sonrası TMS hesaba katıldığında ΔP_4 ' un tek başına devam eden gebelik üzerine bağımsız bir prediktör olduğu saptanmıştır (β :0.137, %95 CI= 0,020-0,254, $p=0.02$). (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Devam eden gebelik olan ve olmayan hastaların genelleştirilmiş lineer model

Parametre	Beta coefficient	%95 Güven Aralığı	P
Kadın yaş	0,003	-0,010 – 0,016	0,660
Erkek yaş	-0,005	-0,014 – 0,004	0,277
Kadın VKİ	0,012	-0,003 – 0,026	0,118
Erkek VKİ	-0,004	-0,015 – 0,007	0,515
İnfertilite tipi			
Primer infertilite	0,034	-0,041 – 0,109	0,370
Sekonder infertilite	1*		
İnfertilite nedenleri			
Açıklanamayan infertilite	-0,055	-0,209 – 0,099	0,486
Kronik anovulasyon	-0,044	-0,249 – 0,161	0,677
Hafif-orta erkek faktör	1*		
İnfertilite süresi, ay	-0,001	-0,003 – 0,001	0,168
Anti-Mullerian Hormon (AMH)	0,003	-0,006 – 0,012	0,553
Uyarım protokolü			
Gonadotropin	-0,069	-0,161 – 0,023	0,144
CC + gonadotropin	1*		
Başlangıç dozu IU	-0,001	-0,004 – 0,003	0,277
Toplam doz IU	-1,496	0,000 – 0,003	0,778
>17 mm folikül sayısı	0,042	-0,020 – 0,104	0,182
>14 mm folikül sayısı	-0,049	-0,116 – 0,017	0,146
Motilite	0,006	0,000 – 0,011	0,037
Hazırlık sonrası sperm sayısı	0,023	-0,001 – 0,047	0,062
Hazırlık sonrası sperm motilitesi	-0,019	-0,039 – 1,558	0,050

Hazırlık sonrası ileri hareketli sperm yüzdesi	-0,002	-0,010 – 0,006	0,603
Hazırlık sonrası ileri hareketli sperm sayısı	-0,022	-0,046 – 0,003	0,080
hCG+5 P ₄ ng/mL	0,005	-0,002 – 0,012	0,151
hCG+7 P ₄ ng/mL	-0,001	-0,007 – 0,004	0,650
ΔP_4	1*		
Pozitif ΔP_4 ng/mL	0,137	0,020 – 0,254	0,022
Negatif ΔP_4 ng/mL	1*		

*Referans, VKİ: Vücut Kitle İndeksi

Kadının yaşı, VKİ, kadının AMH değeri, büyüyen folikül sayısı, total antral folikül sayısı, erkek yaşı, erkek vücut kitle indeksi, verilen tedavi protokolündeki farklılıkların devam eden gebelik üzerine etkisi bulunmamıştır (Tablo 4.7).

17 mm (p=0,18) ve 14 mm (p=0,14) üzeri folikül sayısı univariate analizde anlamlı farklılığa ulaşsa da multivariate analiz yapıldığında bu anlamlılığa ulaşılmamıştır (Tablo 4.7).

Hazırlık öncesi sperm motilitesinin devam eden gebelik üzerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,03). Hazırlık sonrası sperm motilitesinin etkisi ise sınır değerde idi (p=0,05). Diğer sperm parametrelerindeki farklılıkların devam eden gebelik üzerine etkisi ise istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır (Tablo 4.7).

HCG sonrası 5. gün (p=0,15) ve 7. gün (p=0,65) P₄ değerlerinin devam eden gebelik üzerinde etkisi yoktur. Ancak ΔP_4 pozitif olan grupta devam eden gebelikler daha fazla olup istatistiksel olarak bu fark anlamlı bulunmuştur (p=0,02) (Tablo 4.7).

5. TARTIŞMA

İnfertilite tedavisi kapsamında luteal faz dinamiklerinin incelenmesi özellikle son yıllarda popülerliğini arttırmıştır. Bunun sebebi luteal faz yetmezliğinin tanımının hala tüm klinisyenlerce kabul edilen bir tanımının olmaması ve müdahale edilecek hasta grubunun belirlenememesinden kaynaklı tedavide meydana gelebilecek olası yetersizliktir. Luteal fazı günümüzde monitörize etmenin en etkin yolu serum P₄ düzeyi ölçümü olmakla beraber standart örnekleme zamanı ve eşik değer belirsizliği gibi zorlukları vardır. IVF sikluslarında luteal faz monitörizasyonu üzerine son yıllarda pek çok çalışma yürütülmesine rağmen literatürde İÜİ sikluslarının luteal faz karakteristiğinin gebelik sonuçları üzerine etkisini araştıran sınırlı sayıda çalışma vardır.

İntrauterin inseminasyon sikluslarındaki luteal faz yetersizliği ile ilgili netlik olmamasından dolayı çalışmamızda erken ve orta-luteal fazdaki serum P₄ düzeyinin ve değişiminin devam eden gebelik üzerine etkisi araştırılmıştır. Bizim çalışmamızda hCG enjeksiyonu sonrası 5. ve 7. günlerde serum P₄ seviyeleri ölçülmüştür. Bu günlerde ölçüm sebebi ise P₄ serum seviyesinin oluşabilecek muhtemel gebelik kaynaklı hCG üretiminden etkilenme ihtimalini ortadan kaldırmak ve doğrudan KL fonksiyonunu yansıtmaktadır. Ölçülen hCG+5 ve hCG+7 serum P₄ 'un düşük ve normal seviyeleri ile devam eden gebelik oranları arasındaki fark istatistiksel anlama ulaşmasa da hCG+7 ≤10 persentil grubunda (P₄≤8.46 ng/ml) hiç devam eden gebelik gerçekleşmemiştir. Luteal faz serum P₄ seviyesinin hCG+5 ve hCG+7 değişimi incelendiğinde siklusların %16,7'sinde serum P₄ düzeylerinin erken ve orta luteal dönem arasında düştüğü görülmüştür. Negatif ΔP₄ olan 26 hastanın hiçbirinde devam eden gebelik görülmemişken pozitif ΔP₄ olan 130 hastanın 8'inde (%6,2) devam eden gebelik izlenmiştir. Multivariate-GEE analizde ΔP₄ devam eden gebelik üzerine bağımsız bir prediktör olduğu saptanmıştır (β:0.137, %95 CI= 0,020-0,254, p=0.02).

Luteal fazda hangi serum P₄ düzeyinin eşik değer olarak kabul edilmesinin belirsizliği bir yana orta luteal dönemde meydana gelen dalgalanmalardan dolayı P₄ seviyeleri ölçümü ne zaman yapılmalı sorusu da önem arz etmektedir. Thomsen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 10 IVF tedavisi uygulanan hastanın kan örnekleri

OPU+7. günde 12 saat boyunca her 60 dakikada bir ölçülmüştür. Bu ölçümlere göre 250 nmol/l (78,6 ng/ml) üzerinde serum P₄ seviyesine sahip hastaların serum P₄ düzeylerindeki dalgalanmanın daha fazla olduğu, 60nmol/l (18,8 ng/ml) altında serum P₄ seviyesine sahip olan hastalarda bu dalgalanmanın izlenmediği görülmüştür. Bu sonuç ile düşük serum P₄ seviyesine sahip olan hastaların luteal faz değerlendirmesinde tek serum P₄ değeri yeterli olabilir görüşünü savunmuşlardır (99).

Orta luteal fazda serum P₄ seviyeleri ölçümünün gebelik üzerine etkisini araştıran bir çalışmada, 2376 İÜİ siklusunda hastaları, 10 percentile göre düşük ve normal P₄ düzeylerine göre 2 gruba ayırıp siklus özellikleri değerlendirilmiştir. Bu çalışmaya göre normal aralıkta kabul edilen serum P₄ değerlerinde daha fazla canlı gebelik izlenmiş (düşük serum P₄: 9(±3,8) ; normal serum P₄: 192(±9,0) p=0,006) ve istatistiksel anlama ulaşmıştır (9). Bizim çalışmamızda da benzer gruplama yapılmıştır. 161 hastanın 7. gün P₄ değeri 10 percentil altında olan 16 hastada hiç devam eden gebelik izlenmemişken; 10 percentil üzerindeki 145 hastanın 11'inde (%7,6) devam eden gebelik görülmüştür ancak p değeri 0,604 olup istatistiksel anlama ulaşmamıştır. P₄'ün düşük ve normal değerlerinin devam eden gebelik üzerine etkisi için yapılan analizde OR'ya baktığımızda 0.89 (%95 CI = 0.84-0.94) kat daha az devam eden gebelik izlenmektedir.

İntrauterin inseminasyon sikluslarında luteal faz değerlendirmesi için tekrarlayan serum P₄ düzeyi daha güvenilir sonuçlar elde etmede faydalı olabilir. Tekrarlayan serum P₄ ölçümü yapılan nadir çalışmalardan biri Bakas ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadır. Bu çalışmada hCG sonrasında 6. ve 10. günlerde P₄ düzeylerine bakılmış ve bu iki gün arasındaki P₄ değerinin yüzde olarak değişimine bakılıp, eşik değer olarak %33 değişim baz alınmıştır (n=126). %33'ten daha az azalmış olan sikluslarda %83,4 ihtimalle daha fazla gebelik görülebileceği savunulmuştur (100). Bizim çalışmamızda da tekrarlayan ölçüm karşılaştırması ile erken ve orta luteal faz P₄ ölçümlerinden hesaplanan ΔP₄'ün pozitif değerlerinde istatistiksel olarak devam eden gebelik daha fazla iken, negatif ΔP₄ olan hastalarda hiç gebelik görülmemiştir. Bu çalışma ile bizim çalışmamız arasındaki fark P₄ serum seviyelerinin değerlendirildiği günlerdir. Yapılan bir çalışmada fertilizasyon sonrası 7-8. günlerde hCG'nin blastokistlerden salındığı gösterilmiştir (101). Gebelik olduğu takdirde salınan hCG

sayesinde devam eden KL'den P₄ üretimi devam etmektedir. Gebelik oluşan siklularda 10. günde hCG kurtarıcı etkisi ile daha fazla olması beklenen serum P₄ seviyesinin, gebelik oluşmayan siklularda göre daha yüksek olması ve dolayısı ile 6.gün P₄ ile arasında gebelik oluşan siklularda daha az düşüş olması beklenebilir bir sonuçtur. Bakas ve arkadaşlarının çalışmasında değerlendirilen P₄ seviyeleri implantasyonun nedeni mi sonucu mu ayırt edilememektedir ve bu durum hastaların luteal fazını değerlendirmede eksiklik oluşturuyor olabilir.

Korpus luteumu oluşturan, granüloza hücrelerinden köken alan büyük luteal hücreler erken luteal fazda; teka hücrelerden köken alan küçük luteal hücreler ise erken-orta luteal fazda ve P₄ üretimine katkıda bulunur. (102). Progesteron üretim kaynakları belli olmakla beraber her hastada bu üretim aynı mı sorusunun cevabı araştırılmaktadır. Benzer protokol ile uyarım yapılan siklusların çoğunda P₄ artışı görülürken bu grupta neden azalma görüldüğü merak edilen sorulardan biridir. Bu sebeple çalışmamızda ΔP_4 negatifliği olan grupta etkili faktörleri araştırmak amacı ile lojistik regresyon analizi yapılmıştır. Bu analizde yaş, VKİ, AMH, infertilite süresi, infertilite tipi, protokol, 14 mm'den büyük folikül sayısı ve infertilite nedeni değerlendirilmiştir. Buna göre ΔP_4 negatifliği üzerinde etkili tek bağımsız prediktörün VKİ olduğu ($p= 0,048$); VKİ indeksi 1 birim arttıkça ΔP_4 negatifliğinin %13 kadar arttığı görülmüştür (OR:1,135; CI:1,001-1,297). Ayrıca benzer nitelikte farklı bir analizin sonucu olarak VKİ, hCG+7 P₄ düşük olan grupta anlamlı olarak daha fazla izlenmiştir [28,3($\pm 6,4$) vs 24,9($\pm 4,1$); $p<0.001$]. 2020 yılında Vuong'un yaptığı çalışmada IVF tedavisi alan hastalarda ($n=161$) hCG trigger sonrasında belirli günlerde hCG seviyeleri ölçülmüş ve 10 persentilden düşük olan grupta VKİ $21.57\pm 2,48$ kg/m²; kalan 90 persentilde $20,41\pm 2,05$ kg/m² olarak izlenmiş ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştu (103). Bu bilgiler ışığında hCG metabolizması VKİ yüksek olan hastalarda etkileniyor olabilir bu da dolaylı yoldan serum P₄ seviyelerine yansıyor olabilir.

Erken luteolizis yardımcı üreme tekniklerinin başarısında problem teşkil etmektedir. Voung ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada IVF tedavisi alan 160 hastanın hCG enjeksiyonu öncesinden başlayıp OPU+6. gün dahil olmak üzere serum P₄ seviyeleri ölçülmüştü ($n=160$). OPU+4'de P₄ düzeyleri pik seviyeye ulaşıp

OPU+6 'da %35 kadar düşüş görülmüştür. Bu hastaların %40'ında (n=64) ise %50'den fazla serum P₄ düşüşü görülmüştür (104). IVF sikluslarında GnRH analoglarının kullanılmasından kaynaklı baskılanan LH seviyelerinden dolayı erken luteolizis gerçekleşmektedir (93). İÜİ sikluslarında GnRH anaoloğu kullanımı yaygın değildir. GnRH anaoloğu kullanılmamasına rağmen luteolizis bazı hastalarda daha erken gerçekleşmektedir. Luteolizisde gerçekleşen moleküler olayların hepsi aydınlığa kavuşmamıştır ve bu konuda çalışmalara ihtiyaç vardır.

Luteal fazı İÜİ sikluslarında desteklemek amacıyla egzojen progesteron kullanımının faydası son 10 yılda yapılan çalışmalarda araştırılmış ve çelişkili sonuçlar bulunmuştur. Green ve arkadaşları tarafından 2017 yılında yayınlanan sistematik derlemede 7 çalışma dahil edilmiş ve 2842 hastanın toplamda 4065 İÜİ siklusu incelenmiştir. Bu sikluslarda ovulasyon indüksiyonu olarak gonadotropin, klomifen sitrat letrozol ve bunların kombinasyonları; luteal faz desteği ajanı olarak progesteron kullanılmış ve bu İÜİ sikluslarının gebelik sonuçları incelenmiştir. Bu çalışmanın sonucuna göre yalnızca gonadotropin ile indüklenmiş sikluslarda gebelik sonuçları iyileşse de CC, letrozol ve bunların gonadotropin ile kombinasyonunda luteal faz desteği olarak progesteronun yararı net gösterilememiştir (64).

Yaralı ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada taze transfer yapılan IVF sikluslarında P₄ desteği verilmeye başlanmasının 5. günü P₄ ölçümü yapılmış ve gebelik sonuçlarının daha kötü olduğunu buldukları eşik değer olarak 8.75 ng/ml (105) alınmıştır. (106) bu değer altında P₄ seviyesine sahip olan hastalara (n=40) mevcut P₄ tedavisine ek subkutan progesteron desteği verilmiştir. Ve sonrasında 8.75 ng/ml altında olup P₄ desteği verilenler ile >8.75 ng/ml değere sahip hastaların (n=120) devam eden gebelik oranlarının benzer olduğu görülmüştür (%50 vs %48.3) . IVF ve İÜİ tedavileri farklı olsa da luteal faz kurtarıcı progesteron etkisi İÜİ tedavilerinde de kullanılabilir.

İÜİ sikluslarında luteal faz yetmezliği tanımı ve tedavisi hala netleştirilememiştir. Luteal faz yetmezliği tedavisinde çeşitli görüşler mevcuttur. Tüm İÜİ sikluslarında progesteron tedavisi vermek bir seçenek olabilir. Ya da

bizim çalışmamızda belirtildiği gibi erken ve orta luteal faz ölçümlerinin farkından elde edilen ΔP_4 değeri devam eden gebelik sonuçları üzerine yorum yapabilmemizi sağlayabilir. Bu değeri negatif olan hastalarda luteal fazı kısaltmak amacı ile progesteron desteği verilebilir, zaten veriliyorsa ek progesteron preparatları tedaviye eklenebilir. Ancak bu stratejinin devam eden gebelik üzerine etkisinin araştırılması için randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

Mevcut çalışmanın prospektif dizaynı, seri serum P_4 seviyesi ölçümü yapılmış olması, her hastaya aynı trigger yöntemi uygulanması çalışmanın güçlü yönleridir. Ovulasyon indüksiyonunda klinisyen tercihinin göre, hastaların bir kısmında yalnızca gonadotropin kullanılırken bir kısmında gonadotropin ve klomifen sitrat birlikte kullanılmıştır. İki ayrı ovulasyon indüksiyon protokolü ve infertilite nedenlerinden kaynaklı heterojen hasta grubu olmasından sebebiyle hastaların luteal faz karakteristikleri farklı olabilmektedir. Bu faktörler ve örneklem büyüklüğünün olayın yani devam eden gebeliğin İUI sikluslarında gerçekleşme olasılığına göre küçük olması çalışmanın gücünü kısıtlamaktadır.

6. SONUÇ

Çalışmamız İÜİ sikluslarında erken ve orta luteal fazda seri progesteron ölçümü yapıp devam eden gebelik üzerine etkisine bakılan ilk çalışmadır. Orta ve erken luteal faz P_4 seviyeleri arasındaki farktan hesaplanan ΔP_4 değerleri ile gebelik hakkında yorum yapılabilir. Her altı İÜİ siklusundan birinde erken ve orta-luteal dönem arasında serum P_4 seviyeleri düşme göstermekte olup luteal fazdaki bu erken serum P_4 düşüşü devam eden gebelik sonuçlarını olumsuz etkilemektedir. Bu durumun getirdiği olumsuzluklardan kaçınmak amacıyla tüm İÜİ sikluslarında luteal fazı desteklemek bir strateji olabileceği gibi luteal fazı monitörize ederek hCG+7 günü serum $P_4 \leq 8.46$ olan veya negatif ΔP_4 olan hastalarda egzogen progesteron desteği ile siklus kurtarmaya çalışmak da başka bir strateji olabilir. Ancak luteal fazı kurtarma stratejisinin randomize kontrollü çalışmalarla desteklenmesine ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Medicine PCotASfR. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertility and sterility*. 2013;99(1):63.
2. for Women's NCC, Children's Health U. *Fertility: assessment and treatment for people with fertility problems*. 2013.
3. Organization WH. Recent advances in medically assisted conception: report of a WHO scientific group [meeting held in Geneva from 2 to 6 April 1990]: World Health Organization; 1992.
4. Hatasaka H. New perspectives for unexplained infertility. *Clinical obstetrics and gynecology*. 2011;54(4):727-33.
5. Ombelet W, Campo R, Bosmans E, Nijs M. Intrauterine insemination (IUI) as a first-line treatment in developing countries and methodological aspects that might influence IUI success. *ESHRE Monographs*. 2008;2008(1):64-72.
6. Speroff L, Fritz MA. *Clinical gynecologic endocrinology and infertility*: lippincott Williams & wilkins; 2005.
7. Medicine PCotASfR. Current clinical irrelevance of luteal phase deficiency: a committee opinion. *Fertility and Sterility*. 2015;103(4):e27-e32.
8. Mumusoglu S, Polat M, Ozbek IY, Bozdog G, Papanikolaou EG, Esteves SC, et al. Preparation of the Endometrium for Frozen Embryo Transfer: A Systematic Review. *Frontiers in Endocrinology*. 2021;12:831.
9. Hansen KR, Eisenberg E, Baker V, Hill MJ, Chen S, Talken S, et al. Midluteal progesterone: a marker of treatment outcomes in couples with unexplained infertility. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2018;103(7):2743-51.
10. Erdem A, Erdem M, Atmaca S, Guler I. Impact of luteal phase support on pregnancy rates in intrauterine insemination cycles: a prospective randomized study. *Fertility and sterility*. 2009;91(6):2508-13.
11. Maher MA. Luteal phase support may improve pregnancy outcomes during intrauterine insemination cycles. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2011;157(1):57-62.
12. Costello MF, Emerson S, Lukic J, Sjoblom P, Garrett D, Hughes G, et al. Predictive value of mid luteal progesterone concentration before luteal support in controlled ovarian hyperstimulation with intrauterine insemination. *Australian and New Zealand journal of obstetrics and gynaecology*. 2004;44(1):51-6.
13. Yildirim G, Turkgeldi LS, Koroglu N, Guler S, Talmac M. Predictive factors for pregnancy outcome following controlled ovarian stimulation and intrauterine insemination. *J Pak Med Assoc*. 2017;67(3):422-7.
14. Arce J-C, Balen A, Platteau P, Pettersson G, Andersen AN. Mid-luteal progesterone concentrations are associated with live birth rates during ovulation induction. *Reproductive biomedicine online*. 2011;22(5):449-56.
15. Cramer DW, Walker AM, Schiff I. Statistical methods in evaluating the outcome of infertility therapy. *Fertility and Sterility*. 1979;32(1):80-6.
16. Zinaman MJ, Clegg ED, Brown CC, O'Connor J, Selevan SG. Estimates of human fertility and pregnancy loss. *Fertility and sterility*. 1996;65(3):503-9.
17. 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 ...; 2014.
18. Miller JH, Weinberg RK, Canino NL, Klein NA, Soules MR. The pattern of infertility diagnoses in women of advanced reproductive age. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1999;181(4):952-7.

19. Maheshwari A, Hamilton M, Bhattacharya S. Effect of female age on the diagnostic categories of infertility. *Human reproduction*. 2008;23(3):538-42.
20. ABRAHAM GE, MAROULIS GB, MARSHALL JR. Evaluation of ovulation and corpus luteum function using measurements of plasma progesterone. *Obstetrics & Gynecology*. 1974;44(4):522-5.
21. Wathen N, Perry L, Lilford R, Chard T. Interpretation of single progesterone measurement in diagnosis of anovulation and defective luteal phase: observations on analysis of the normal range. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1984;288(6410):7-9.
22. Bozdag G, Mumusoglu S, Zengin D, Karabulut E, Yildiz BO. The prevalence and phenotypic features of polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Human reproduction*. 2016;31(12):2841-55.
23. ESHRE R. ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil steril*. 2004;81(1):19-25.
24. Apridonidze T, Essah PA, Luorno MJ, Nestler JE. Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2005;90(4):1929-35.
25. Teede HJ, Misso ML, Costello MF, Dokras A, Laven J, Moran L, et al. Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Human reproduction*. 2018;33(9):1602-18.
26. Hatch R, Rosenfield RL, Kim MH, Tredway D. Hirsutism: implications, etiology, and management. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1981;140(7):815-30.
27. Abu Hashim H, Ombar O, Abd Elaal I. Intrauterine insemination versus timed intercourse with clomiphene citrate in polycystic ovary syndrome: a randomized controlled trial. *Acta obstetrica et gynecologica scandinavica*. 2011;90(4):344-50.
28. Legro RS, Kunesman AR, Brzyski RG, Casson PR, Diamond MP, Schlaff WD, et al. The Pregnancy in Polycystic Ovary Syndrome II (PPCOS II) trial: rationale and design of a double-blind randomized trial of clomiphene citrate and letrozole for the treatment of infertility in women with polycystic ovary syndrome. *Contemporary clinical trials*. 2012;33(3):470-81.
29. Legro RS, Barnhart HX, Schlaff WD, Carr BR, Diamond MP, Carson SA, et al. Clomiphene, metformin, or both for infertility in the polycystic ovary syndrome. *New England Journal of Medicine*. 2007;356(6):551-66.
30. Guzick DS, Carson SA, Coutifaris C, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Steinkampf MP, et al. Efficacy of superovulation and intrauterine insemination in the treatment of infertility. *New England Journal of Medicine*. 1999;340(3):177-83.
31. Blacker CM, Ginsburg KA, Leach RE, Randolph J, Moghissi KS. Unexplained infertility: evaluation of the luteal phase; results of the National Center for Infertility Research at Michigan. *Fertility and sterility*. 1997;67(3):437-42.
32. Crosignani P, Rubin B. Optimal use of infertility diagnostic tests and treatments. The ESHRE Capri Workshop Group. *Human reproduction (Oxford, England)*. 2000;15(3):723-32.
33. Reindollar RH, Regan MM, Neumann PJ, Levine B-S, Thornton KL, Alper MM, et al. A randomized clinical trial to evaluate optimal treatment for unexplained infertility: the fast track and standard treatment (FASTT) trial. *Fertility and sterility*. 2010;94(3):888-99.
34. Clark JH, Markaverich BM. The agonistic-antagonistic properties of clomiphene: a review. *Pharmacology & therapeutics*. 1981;15(3):467-519.
35. Kettel LM, Roseff SJ, Berga SL, Mortola JF, Yen SS. Hypothalamic-pituitary-ovarian response to clomiphene citrate in women with polycystic ovary syndrome. *Fertility and sterility*. 1993;59(3):532-8.
36. Buhl Jørgensen S, Starup J, Roos J, Micic S. Studies on the mode of action of clomiphene citrate. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. 1976;55(4):337-40.

37. Eden JA, Place J, Carter GD, Jones J, Alagband-Zadeh J, Pawson ME. The effect of clomiphene citrate on follicular phase increase in endometrial thickness and uterine volume. *Obstetrics and gynecology*. 1989;73(2):187-90.
38. Guzick D, Sullivan M, Adamson GD, Cedars M, Falk R, Peterson E, et al. Efficacy of treatment for unexplained infertility. *Fertility and sterility*. 1998;70(2):207-13.
39. Bhattacharya S, Harrild K, Mollison J, Wordsworth S, Tay C, Harrold A, et al. Clomifene citrate or unstimulated intrauterine insemination compared with expectant management for unexplained infertility: pragmatic randomised controlled trial. *Bmj*. 2008;337.
40. Deaton JL, Gibson M, Blackmer KM, Nakajima ST, Badger GJ, Brumsted JR. A randomized, controlled trial of clomiphene citrate and intrauterine insemination in couples with unexplained infertility or surgically corrected endometriosis. *Fertility and sterility*. 1990;54(6):1083-8.
41. Wu CH, Winkel CA. The effect of therapy initiation day on clomiphene citrate therapy. *Fertility and sterility*. 1989;52(4):564-8.
42. Diamond MP, Kruger M, Santoro N, Zhang H, Casson P, Schlaff W, et al. Endometrial shedding effect on conception and live birth in women with polycystic ovary syndrome. *Obstetrics and gynecology*. 2012;119(5):902.
43. Jones CA, Garbedian K, Dixon M, Murphy K, Shapiro H. Randomized trial comparing the effect of endometrial shedding with medroxyprogesterone acetate with random start of clomiphene citrate for ovulation induction in oligo-ovulatory and anovulatory women. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*. 2016;38(5):458-64.
44. Gysler M, March CM, Mishell Jr DR, Bailey EJ. A decade's experience with an individualized clomiphene treatment regimen including its effect on the postcoital test. *Fertility and sterility*. 1982;37(2):161-7.
45. Imani B, Eijkemans MJ, Te Velde ER, Habbema JDF, Fauser BC. Predictors of patients remaining anovulatory during clomiphene citrate induction of ovulation in normogonadotropic oligoamenorrhoeic infertility. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1998;83(7):2361-5.
46. Homburg R. Clomiphene citrate—end of an era? A mini-review. *Human reproduction*. 2005;20(8):2043-51.
47. Dickey RP, Holtkamp DE. Development, pharmacology and clinical experience with clomiphene citrate. *Human Reproduction Update*. 1996;2(6):483-506.
48. Wallach EE, Scialli AR. The reproductive toxicity of ovulation induction. *Fertility and Sterility*. 1986;45(3):315-23.
49. Obstetricians ACo, Gynecologists. ACOG Committee Opinion. Aromatase inhibitors in gynecologic practice. *Obstetrics and gynecology*. 2008;112(2 Pt 1):405-7.
50. Buzdar A, Howell A. Advances in aromatase inhibition: clinical efficacy and tolerability in the treatment of breast cancer. *Clinical cancer research*. 2001;7(9):2620-35.
51. Winer EP, Hudis C, Burstein HJ, Wolff AC, Pritchard KI, Ingle JN, et al. American Society of Clinical Oncology technology assessment on the use of aromatase inhibitors as adjuvant therapy for postmenopausal women with hormone receptor-positive breast cancer: status report 2004. *Journal of clinical oncology*. 2005;23(3):619-29.
52. Naftolin F. Brain aromatization of androgens. *The Journal of reproductive medicine*. 1994;39(4):257-61.
53. Naftolin F, MacLusky N, Leranath C, Sakamoto H, Garcia-Segura L. The cellular effects of estrogens on neuroendocrine tissues. *Journal of steroid biochemistry*. 1988;30(1-6):195-207.

54. Al-Fozan H, Al-Khadouri M, Tan SL, Tulandi T. A randomized trial of letrozole versus clomiphene citrate in women undergoing superovulation. *Fertility and sterility*. 2004;82(6):1561-3.
55. Gadalla M, Huang S, Wang R, Norman R, Abdullah S, El Saman A, et al. Effect of clomiphene citrate on endometrial thickness, ovulation, pregnancy and live birth in anovulatory women: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2018;51(1):64-76.
56. Legro RS, Brzyski RG, Diamond MP, Coutifaris C, Schlaff WD, Casson P, et al. Letrozole versus clomiphene for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med*. 2014;371:119-29.
57. Tsiami AP, Goulis DG, Sotiriadis AI, Kolibianakis EM. Higher ovulation rate with letrozole as compared with clomiphene citrate in infertile women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hormones*. 2021:1-13.
58. Lunenfeld B. Historical perspectives in gonadotrophin therapy. *Human reproduction update*. 2004;10(6):453-67.
59. Giudice E, Crisci C, Eshkol A, Papoian R. Infertility: Composition of commercial gonadotrophin preparations extracted from human post-menopausal urine: characterization of non-gonadotrophin proteins. *Human Reproduction*. 1994;9(12):2291-9.
60. Carone D, Caropreso C, Vitti A, Chiappetta R. Efficacy of different gonadotropin combinations to support ovulation induction in WHO type I anovulation infertility: clinical evidences of human recombinant FSH/human recombinant LH in a 2: 1 ratio and highly purified human menopausal gonadotropin stimulation protocols. *Journal of endocrinological investigation*. 2012;35(11):996-1002.
61. Messinis IE, Bergh T, Wide L. The importance of human chorionic gonadotropin support of the corpus luteum during human gonadotropin therapy in women with anovulatory infertility. *Fertility and Sterility*. 1988;50(1):31-5.
62. Hamilton CJ, Jaroudi KA, Sieck UV. The value of luteal support with progesterone in gonadotropin-induced cycles. *Fertility and sterility*. 1993;60(5):786-90.
63. Weiss NS, Nahuis M, Bayram N, Mol BWJ, Van der Veen F, van Wely M. Gonadotrophins for ovulation induction in women with polycystic ovarian syndrome. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2015(9).
64. Green KA, Zolton JR, Schermerhorn SM, Lewis TD, Healy MW, Terry N, et al. Progesterone luteal support after ovulation induction and intrauterine insemination: an updated systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility*. 2017;107(4):924-33. e5.
65. Ayaz R, Aşoğlu MR, Ayas S. Use of clomiphene citrate alone, urinary follicle-stimulating hormone alone, or both combined sequentially in patients with unexplained subfertility undergoing intrauterine insemination: A randomized trial. *Turkish journal of obstetrics and gynecology*. 2018;15(4):243.
66. Cantineau AE, Janssen MJ, Cohlen BJ, Allersma T. Synchronised approach for intrauterine insemination in subfertile couples. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2014(12).
67. Devoto L, Kohen P, Gonzalez RR, Castro O, Retamales I, Vega M, et al. Expression of steroidogenic acute regulatory protein in the human corpus luteum throughout the luteal phase. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2001;86(11):5633-9.
68. Anasti J, Kalantaridou S, Kimzey L, George M, Nelson L. Human follicle fluid vascular endothelial growth factor concentrations are correlated with luteinization in spontaneously developing follicles. *Human reproduction (Oxford, England)*. 1998;13(5):1144-7.
69. GOLOS TG, SOTO EA, RICHARD S, TURECK W, STRAUSS III JF. Human chorionic gonadotropin and 8-bromo-adenosine 3'5'-monophosphate stimulate [125I] low density

- lipoprotein uptake and metabolism by luteinized human granulosa cells in culture. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1985;61(4):633-8.
70. Brannian JD, Shiigi SM, Stouffer RL. Gonadotropin surge increases fluorescently-tagged low-density lipoprotein uptake by macaque granulosa cells from preovulatory follicles. *Biology of reproduction*. 1992;47(3):355-60.
71. Stocco C, Telleria C, Gibori G. The molecular control of corpus luteum formation, function, and regression. *Endocrine reviews*. 2007;28(1):117-49.
72. Van der Linden M, Buckingham K, Farquhar C, Kremer J, Metwally M. Luteal phase support in assisted reproduction cycles. *Human reproduction update*. 2012;18(5):473-.
73. Fisch B, Margara R, Winston R, Hillier S. Cellular basis of luteal steroidogenesis in the human ovary. *Journal of endocrinology*. 1989;122(1):303-NP.
74. Maybin JA, Duncan WC. The human corpus luteum: which cells have progesterone receptors? *Reproduction*. 2004;128(4):423-31.
75. Devoto L, Fuentes A, Kohen P, Céspedes P, Palomino A, Pommer R, et al. The human corpus luteum: life cycle and function in natural cycles. *Fertility and sterility*. 2009;92(3):1067-79.
76. Brannian JD, Stouffer RL. Progesterone production by monkey luteal cell subpopulations at different stages of the menstrual cycle: changes in agonist responsiveness. *Biology of reproduction*. 1991;44(1):141-9.
77. Filicori M, Butler JP, Crowley WF. Neuroendocrine regulation of the corpus luteum in the human. Evidence for pulsatile progesterone secretion. *The Journal of clinical investigation*. 1984;73(6):1638-47.
78. Jones GS. Luteal phase defect: a review of pathophysiology. *Current opinion in obstetrics & gynecology*. 1991;3(5):641-8.
79. Bondouille M, Dodd R, Liebaers I, Van Steirteghem A, Williamson R, Akhurst R. Chorionic gonadotropin- β mRNA, a trophoblast marker, is expressed in human 8-cell embryos derived from tripronucleate zygotes. *Hum Reprod*. 1988;3:909-14.
80. Stewart DR, Overstreet JW, Nakajima ST, Lasley BL. Enhanced ovarian steroid secretion before implantation in early human pregnancy. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1993;76(6):1470-6.
81. Stevens V. Potential control of fertility in women by immunization with HCG. *Research in reproduction*. 1975;7(3):1-2.
82. Csapo AI, Pulkkinen MO, Wiest W. Effects of luteectomy and progesterone replacement therapy in early pregnant patients. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1973;115(6):759-65.
83. Tavaniotou A, Albano C, Smitz J, Devroey P. Impact of ovarian stimulation on corpus luteum function and embryonic implantation. *Journal of reproductive immunology*. 2002;55(1-2):123-30.
84. Strott CA, Cargille CM, Ross GT, Lipsett MB. The short luteal phase. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1970;30(2):246-51.
85. Lenton EA, LANDGREN BM, Sexton L. Normal variation in the length of the luteal phase of the menstrual cycle: identification of the short luteal phase. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 1984;91(7):685-9.
86. Boutzios G, Karalaki M, Zapanti E. Common pathophysiological mechanisms involved in luteal phase deficiency and polycystic ovary syndrome. Impact on fertility. *Endocrine*. 2013;43(2):314-7.
87. Usadi RS, Groll JM, Lessey BA, Lininger RA, Zaino RJ, Fritz MA, et al. Endometrial development and function in experimentally induced luteal phase deficiency. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2008;93(10):4058-64.

88. Jordan J, Craig K, Clifton DK, Soules MR. Luteal phase defect: the sensitivity and specificity of diagnostic methods in common clinical use. *Fertility and sterility*. 1994;62(1):54-62.
89. Noyes R, Hertig A, Rock J. Dating the endometrial biopsy. *Obstetrical & Gynecological Survey*. 1950;5(4):561-4.
90. 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. *Fertility and sterility*. 2004;81(5):1333-43.
91. 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. *Fertility and sterility*. 2004;82(5):1264-72.
92. Macklon N, Fauser B. Impact of ovarian hyperstimulation on the luteal phase. *Journal of reproduction and fertility Supplement*. 2000;55:101-8.
93. Fatemi H. The luteal phase after 3 decades of IVF: what do we know? *Reproductive biomedicine online*. 2009;19:1-13.
94. Fauser BC, Devroey P. Reproductive biology and IVF: ovarian stimulation and luteal phase consequences. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2003;14(5):236-42.
95. Duffy DA, Manzi D, Benadiva C, Maier D, Saunders M, Nulsen J. Impact of leuprolide acetate on luteal phase function in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation and intrauterine insemination. *Fertility and sterility*. 2006;85(2):407-11.
96. Olson JL, Rebar RW, Schreiber JR, Vaitukaitis JL. Shortened luteal phase after ovulation induction with human menopausal gonadotropin and human chorionic gonadotropin. *Fertility and sterility*. 1983;39(3):284-91.
97. Large MJ, DeMayo FJ. The regulation of embryo implantation and endometrial decidualization by progesterone receptor signaling. *Molecular and cellular endocrinology*. 2012;358(2):155-65.
98. Takaya Y, Matsubayashi H, Kitaya K, Nishiyama R, Yamaguchi K, Takeuchi T, et al. Minimum values for midluteal plasma progesterone and estradiol concentrations in patients who achieved pregnancy with timed intercourse or intrauterine insemination without a human menopausal gonadotropin. *BMC research notes*. 2018;11(1):1-5.
99. Thomsen LH, Kesmodel US, Andersen CY, Humaidan P. Daytime variation in serum progesterone during the mid-luteal phase in women undergoing in vitro fertilization treatment. *Frontiers in endocrinology*. 2018;9:92.
100. Bakas P, Simopoulou M, Giner M, Drakakis P, Panagopoulos P, Vlahos N. Predictive value of repeated measurements of luteal progesterone and estradiol levels in patients with intrauterine insemination and controlled ovarian stimulation. *Gynecological Endocrinology*. 2017;33(10):787-90.
101. Lopata A, Hay DL. The surplus human embryo: its potential for growth, blastulation, hatching, and human chorionic gonadotropin production in culture. *Fertility and sterility*. 1989;51(6):984-91.
102. Friden B, Hagström H-G, Lindblom B, Sjöblom P, Wallin A, Brännström M, et al. Cell characteristics and function of two enriched fraction of human luteal cells prolonged culture. *Molecular human reproduction*. 1999;5(8):714-9.
103. Vuong LN, Pham TD, Ho VN, Ho TM, Humaidan P, Andersen CY. Determinants of the hCG concentration in the early luteal phase after final maturation of follicles with bolus trigger of recombinant hCG. *Frontiers in endocrinology*. 2020;11:137.
104. Vuong LN, Ho TM, Pham TD, Ho VN, Andersen CY, Humaidan P. The early luteal hormonal profile in IVF patients triggered with hCG. *Human Reproduction*. 2020;35(1):157-66.

105. Polat M, Mumusoglu S, Bozdag G, Ozbek IY, Humaidan P, Yarali H. Addition of intramuscular progesterone to vaginal progesterone in hormone replacement therapy in vitrified–warmed blastocyst transfer cycles. *Reproductive biomedicine online*. 2020;40(6):812-8.
106. Yarali H, Polat M, Mumusoglu S, Ozbek IY, Erden M, Bozdag G, et al. Subcutaneous luteal phase progesterone rescue rectifies ongoing pregnancy rates in hormone replacement therapy vitrified–warmed blastocyst transfer cycles. *Reproductive BioMedicine Online*. 2021.