



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

AÇIKLANAMAYAN İNFERTİLİTE OLGULARINDA SERUM VE GONADAL
SIVI D VİTAMİNİ İLE GONADAL SIVI D VİTAMİNİ RESEPTÖR
DÜZEYİNİN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Dr. Özge CİNDEMİR

UZMANLIK TEZİ

BURSA – 2019



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

AÇIKLANAMAYAN İNFERTİLİTE OLGULARINDA SERUM VE GONADAL
SIVI D VİTAMİNİ İLE GONADAL SIVI D VİTAMİNİ RESEPTÖR
DÜZEYİNİN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Dr. Özge CİNDEMİR

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Esmâ GÜR

BURSA – 2019

İÇİNDEKİLER

Türkçe Özet.....	ii
İngilizce Özet.....	iv
Kısaltmalar.....	vi
Giriş.....	1
1. D vitamini.....	1
2. İnfertilite.....	16
3. İnfertilite ve D vitamini.....	23
Gereç ve Yöntem.....	26
Bulgular.....	35
Tartışma ve Sonuç.....	51
Kaynaklar.....	59
Teşekkür.....	69
Özgeçmiş.....	71

ÖZET

D vitamini etkisini nükleer vitamin D reseptörü (VDR) üzerinden gösteren kalsiyum-fosfor metabolizması üzerindeki etkilerinin yanı sıra birçok hücrel işlevi de düzenlediği bilinen bir vitamindir. D vitamininin infertilite etyolojisindeki rolü halen araştırılmaktadır.

Çalışmamızda intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) yöntemi ile tedaviye alınan açıklanamayan infertilite vakalarında eşlerin serum ve gonadal sıvı D vitamini düzeyleri ile gonadal sıvı VDR düzeylerinin infertilitede etkili olup olmadığının değerlendirmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya katılan 76 çiftte serum 25(OH)D vitamini düzeyleri sıvı kromatografi-kütle-kütle spektrometresi (LC-MS/MS), gonadal sıvı 25(OH)D vitamini kemilüminesan mikropartikül immünolojik tetkik (CMIA), gonadal sıvı VDR düzeyleri ELİSA yöntemleri ile ölçüldü. Kadın eşlerin serum Anti Müllerial Hormon (AMH) düzeyi paramanyetik partiküllü kemilüminesan immünoassay, progesteron, estradiol, folikül stimülan hormon (FSH) ve gebelik tanısı için β -hCG düzeyi CMIA yöntemiyle ölçüldü.

İşlem sonucunda 25 kadında gebelik (+), 51'inde gebelik (-) idi. Kadın serum ve gonadal sıvı 25(OH)D vitamini düzeyi gebelik gelişenlerde gelişmeyen gruba göre düşük bulundu. Ancak folikül sıvısı VDR düzeyleri gebelik (+) grupta gebelik (-) gruba göre anlamlı yüksekti. Erkeklerde serum 25(OH)D vitamini düzeyleri gebelik (+) grupta gebelik (-) gruba göre anlamlı düşük bulunurken, semen 25(OH)D vitamini ve VDR düzeyleri farksızdı. Kadınlarda serum ve folikül sıvısı 25(OH)D vitamini düzeyleri arasındaki anlamlı pozitif ilişki erkeklerde serum ve semen 25(OH)D vitamini düzeyleri arasında saptanmadı. Kadınlarda serum hormon düzeyleri gruplar arasında farklılık göstermedi.

Sonuçlar ışığında kadın eşlerde düşük serum ve folikül sıvısı 25(OH)D vitamini düzeylerinin açıklanamayan infertilitede tek başına etken olmayacağı, D vitamininin etkisini gösterebilmesi için gerekli olan VDR'nin folikül sıvısındaki

düzeylelerinin ICSI uygulamasının başarısında önemli bir faktör olduğu kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: D vitamini, VDR, Açıklanamayan infertilite.



SUMMARY

Role of Serum and Gonadal Fluid Vitamin D Levels and Gonadal Fluid Vitamin D Receptor Levels in Unexplained Infertility Cases

Vitamin D is a fat soluble vitamin with steroid hormone function that exerts its effects by binding to the nuclear vitamin D receptor (VDR). Besides its role on calcium-phosphorus metabolism, vitamin D has regulatory functions on various cellular metabolic processes, with crucial role in reproductive physiology. Its role in infertility is still unclear.

The present study aims to evaluate if vitamin D concentrations in serum and/or gonadal fluid and VDR levels in gonadal fluid affect fertility in unexplained infertility cases treated with intracytoplasmic sperm injection (ICSI).

Serum 25(OH) vitamin D concentrations from 76 partners were measured by tandem mass spectrometry (LC-MS/MS); gonadal fluid 25 (OH) vitamin D levels and gonadal fluid VDR levels were measured by chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) and ELISA, respectively. Anti-Mullerian Hormone (AMH) concentrations in sera from female subjects were determined by paramagnetic particle chemiluminescent immunoassay; progesterone, estradiol, follicle stimulating hormone (FSH) and β -hCG levels to diagnose pregnancy were measured by CMIA.

Pregnancy was (+) in 25 and (-) in 51 women after the ICSI cycle. Serum and gonadal fluid 25(OH) vitamin D levels were lower in pregnancy (+) women compared to that of pregnancy (-) women. However, follicular fluid VDR concentrations were significantly higher in pregnancy (+) women than that of non-pregnants. Serum 25(OH) vitamin D levels were lower in male partners of pregnancy (+) group compared to that of pregnancy (-) group while semen vitamin D and VDR concentrations were not different. Serum and follicular fluid vitamin D concentrations were significantly correlated in women

but not in men. Female serum hormone concentrations were not different between groups.

Results suggest that lower serum and/or follicular fluid vitamin D levels are not responsible alone as a factor of infertility; sufficient follicle VDR concentrations are also equally important to achieve pregnancy in ICSI treatment.

Key words: Vitamin D, VDR, Unexplained infertility.



KISALTMALAR

- 1,25(OH)₂D:** 1,25-dihidroksi D
24,25(OH)₂D: 24,25-dihidroksi D
25(OH)D: 25-hidroksi D
AMH: Anti müllerian hormon
CMIA: Kemilüminesan mikropartikül immünolojik tetkik
DFİ: DNA fragmantasyon indeksi
DM: Diyabetes mellitus
DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü
DVBP: D vitamini bağlayıcı protein
FGF-23: Fibroblast büyüme faktörü 23
FSH: Folikül stimülan hormon
GnRH: Gonadotropin salgılatıcı hormon
hCG: human koryonik gonadotropin
HSG: Histerosalpingografi
ICSI: İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu
IU: İnternasyonal ünite
IUI: İntrauterin inseminasyon
IVF: İn vitro fertilizasyon
LC-MS/MS: Sıvı kromatografi-kütle-kütle spektrometresi
LH: Luteinizan hormon
OCC: Oosit-kumulus kompleksi
OI: Ovulasyon indüksiyonu
OPU: Folikül aspirasyonu
PKOS: Polikistik over sendromu
PTH: Paratiroid hormon
RLU: Bağıl ışık birimi
RXR: Retinoid X reseptörü
VDR: Vitamin D reseptörü
YÜT: Yardımcı üreme tekniği

GİRİŞ

1. D vitamini

1.1. D vitamini tanımı ve tarihçesi

Vitaminler, farklı biyokimyasal işlevler için küçük miktarlarda gereken ve genellikle vücut tarafından sentezlenmeyen, dolayısıyla diyetle sağlanması zorunlu olan kimyasal moleküllerdir. Suda çözünen ve yağda çözünen vitaminler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. D vitamini yağda çözünen bir vitamindir (1).

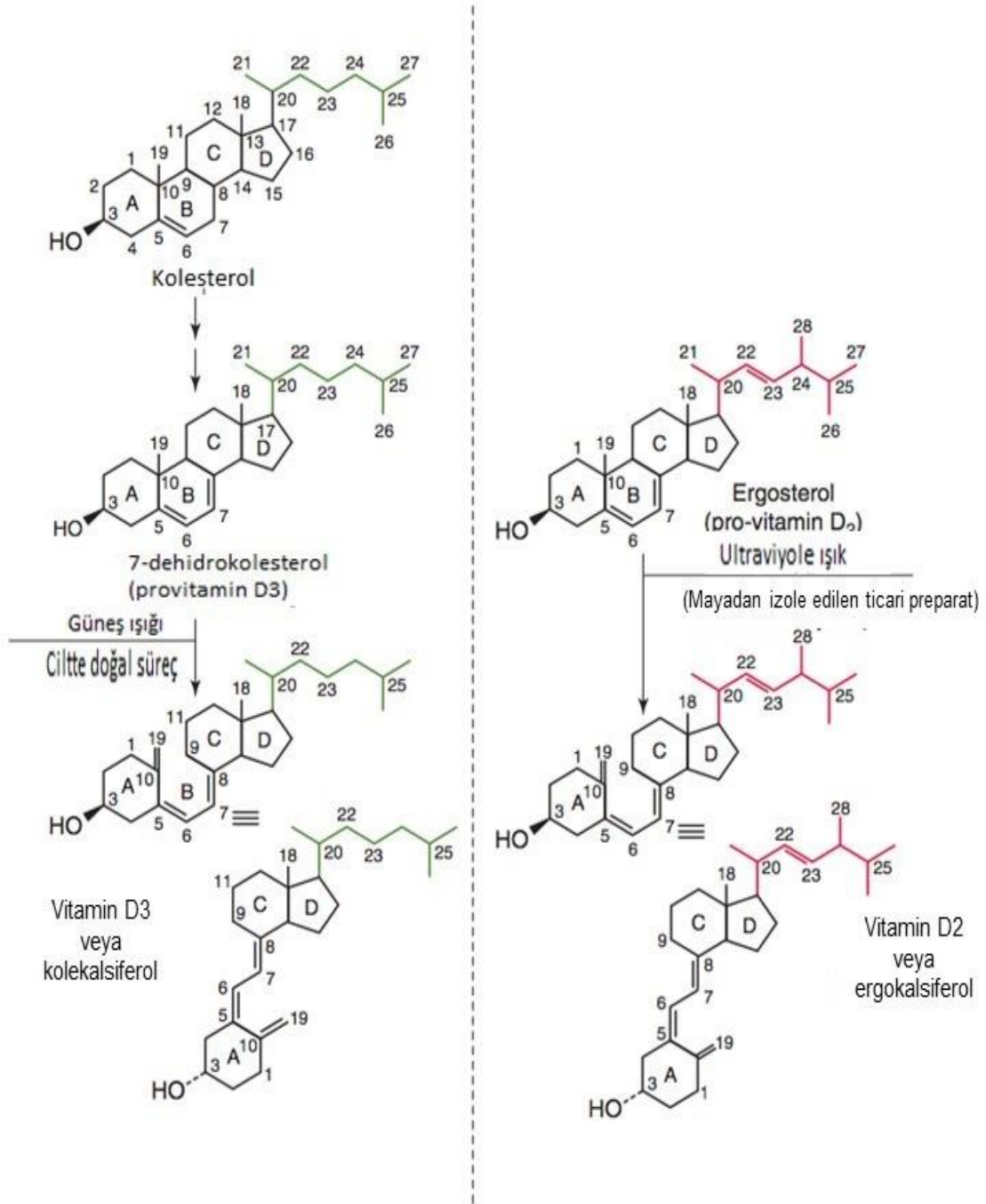
D vitamini ilk kez 1920'lerde keşfedilmiştir. Sir Edward Mellanby (2), 1919 yılında köpekler üzerinde yaptığı bir çalışmada raşitizmin diyetteki bir eksikliğe bağlı ortaya çıktığını öne sürmüştür. 1922'de McCollum ve ark. (3) D vitamini olarak adlandırdıkları yeni bir vitaminin raşitizmi iyileştirdiğini ortaya koymuşlardır. D2 vitamininin yapısı 1932'de Askew ve ark. (4) tarafından, D3 vitamininin yapısı Windaus ve Bock (5) tarafından 1937'de tanımlanmıştır. 20. yüzyılın ikinci yarısından sonra yapılan araştırmalar ise, D vitamininin bir vitamin değil, prohormon olduğunu göstermiştir (6).

1.2. D vitamininin yapısı ve sentezi

Siklopentanoperhidrofenantren halkasından sentezlenen D vitamini, steroid hormon ailesindedir. D vitamini ve metabolitleri farklı olarak 3 halkaya sahip olmaları dışında kolesterole benzerler. Siklopentanoperhidrofenantren halkasının 9 ile 10. karbonunun arasındaki bağın bölünmesi B halkasını açık hale getirmiştir ve tüm D vitamini formlarında yapı böyledir. D vitamini formlarının yapısal olarak farklılığını yan zincirler belirler.

D vitamininin iki ana formu D2 vitamini (ergokalsiferol) ve D3 vitamini (kolekalsiferol)'dir. D2 vitamini bitkisel steroid olan ergosterolün ultraviyole B ışınlarına maruz kalması sonucu oluşmaktadır. D3 vitamini 270-300 nanometre dalga boyundaki ultraviyole ışınların etkisiyle deride, 7-dehidrokolesterolden sentezlenir. Sentez en fazla 295-297 nanometre dalga boylarında olur. Provitamin D3 olarak da adlandırılan 7-dehidrokolesterol,

derinin epidermis tabakasında, stratum bazale ve stratum spinosumda bulunur. İnsan vücudunda sadece D3 vitamini sentezlenir (7). D2 vitamini 22 ile 23. karbon arasında çift bağa sahip olması ve 24. karbonuna bağlı metil grubu içermesiyle D3 vitamininden ayrılır (8) (Şekil-1).



Şekil-1: D2 ve D3 vitamininin sentezi ve moleküler yapıları (9)

D3 vitamini sentezi için gerekli olan 7-dehidrokolesterol ve cilde ulaşan ultraviyole B ışınlarının miktarı, vücuttaki D vitamini sentezini etkiler. D vitamini sentezini etkileyen faktörler iki ana başlık altında toplanabilir: çevresel ve kişisel faktörler. Çevresel etkenler; enlem, rakım, mevsim, günün saati (11-15 arası en etkili saatlerdir), ozon miktarı, bulutlar, aerosoller olarak özetlenebilir. Kişisel faktörlerden ise cilt tipi, yaş, giyim, topikal güneş koruyucuların kullanımı sayılabilir (10).

Ciltteki melanin ultraviyole fotonları için 7-dehidrokolesterolle yarışır ve böylece D vitamini sentezini sınırlandırır. Bu nedenle melanin arttıkça D vitamini sentezi azalır. Yaş arttıkça derideki 7-dehidrokolesterol miktarı ve derinin D3 vitamin üretim kapasitesi azaldığı için sentez azalır.

Güneş ışığına yeterince maruz kalınırsa, D vitamininin diyetle alınmasına gerek yoktur. Güneşe uzun süreli maruziyette D3 vitamininin birikimini önleyen en önemli mekanizma biyokimyasal olarak aktif olmayan izomerlerine dönüşmesidir.

Vitamin D3 sentezlendikten sonra bir alfa 2 globülin olan D vitamini bağlayıcı protein (DVBP) ile epidermisten dolaşıma taşınır (11).

1.3. D vitamininin metabolizması (Şekil-2)

Vücuttaki D vitamininin %80-90'ı ciltte endojen olarak üretilir. Vücut ihtiyacının az bir miktarı da diyetten elde edilir. D2 vitamini içeren bitki veya mantarlar ve D3 vitamini içeren balık, karaciğer, yumurta gibi hayvansal besinler diyetle alınan D vitamini kaynaklarıdır (12). Diyetteki D2 ve D3 vitamini safra asitleri yardımıyla miçel yapısına katılarak enterositler tarafından emilir. Enterositlerde şilomikronda paketlenerek lenfatik sistemle dolaşıma katılır. Şilomikron yapısı içinde karaciğere gelir. Diyetle alınan D vitamininin yaklaşık %50'si intestinal sistem tarafından absorbe edilir (7). Şilomikronlar haricinde, D vitamini ve metabolitleri, %85-90 DVBP ile, %10-15 albuminle taşınır; %1'den az bir kısmı dolaşımda serbest halde bulunur (13).

DVBP 58 kilodalton ağırlığında, 458 aminoasitten oluşan bir alfa 2 globulindir. Diğer plazma proteinlerinin aksine, yaşam boyunca plazma konsantrasyonu stabildir. Ancak karaciğerdeki sentezi östrojen bağımlıdır ve hamilelik ve östrojen tedavisi sırasında sentezi artar. Bu proteinin D vitaminini

taşıması dışında, ekstraselüler aktine bağlanma ve yağ asitlerini taşıma gibi özellikleri de vardır (14).

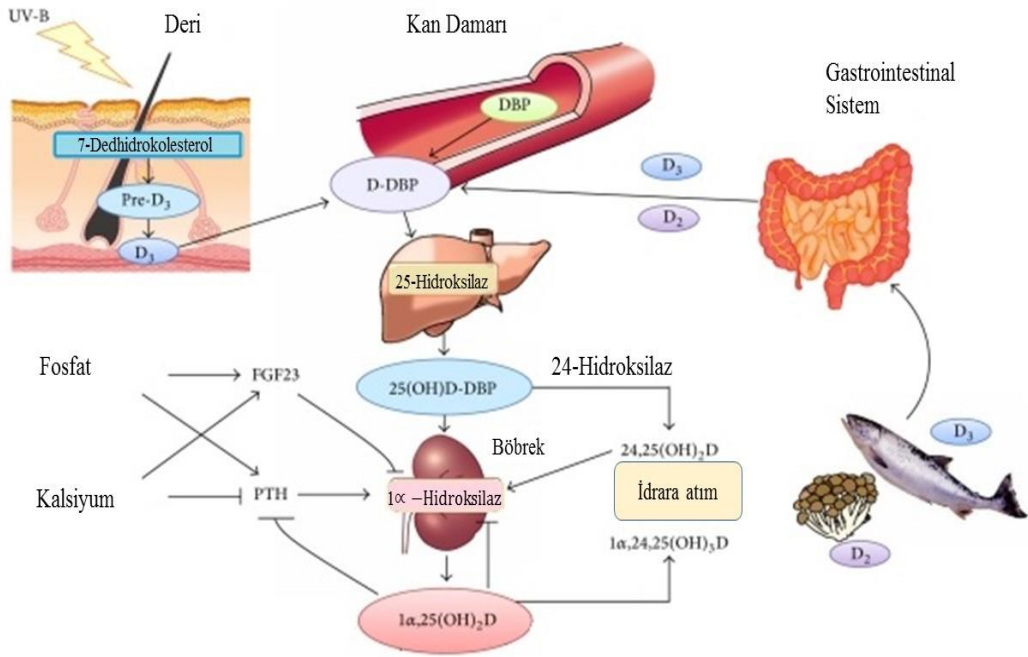
Biyolojik aktivite gösterebilmesi için D vitamininin aktif formuna dönüşmesi gerekir (15). Hem deride endojen sentezlenen, hem de intestinal sistemden emilen D vitamini öncelikle karaciğerde bulunan sitokrom P450 ailesinin bir üyesi olan 25-hidroksilaz enzimi ile 25-hidroksi D [25(OH)D]'ye dönüşür (16). 25(OH)D, vücudun D vitamini düzeyi hakkında en iyi bilgi veren parametredir. Yarı ömrü 21 gündür (11).

25(OH)D vitamini, DVBP'ye bağlanarak böbreğe gelir. Glomerüllerde süzülen 25(OH)D vitamini ve DVBP kompleksi, böbrek proksimal tübüllerinde bol miktarda bulunan, düşük dansiteli lipoprotein reseptörü ailesinin bir üyesi olan megalinle, tübül hücrelerine reseptör aracılı endositozla alınır. Reseptör aracılı endositoz, idrarda 25(OH)D vitamini kaybını önlemek için gereklidir. Böbrek proksimal tübüllerindeki cubulin de 25(OH)D vitamini ve DVBP kompleksi için diğer bir reseptördür. Bu reseptörlerden herhangi birinde patoloji olduğunda, D vitamini eksikliği görülür (17). 25(OH)D, proksimal tübül hücrelerinde DVBP'den ayrılıp serbestleşerek, mitokondride 25-hidroksivitamin D-1- α -hidroksilaz enzimi (CYP27B1) ile ikinci kez hidroksilasyona uğrayarak 1,25-dihidroksi D [1,25(OH)₂D] ye dönüşür. Bu, D vitamininin başlıca biyolojik olarak aktif formudur. Kalsitriol olarak da adlandırılır. Sitokrom P450 ailesinden olan 25-hidroksivitamin D-1- α -hidroksilaz, plasenta, monosit, makrofaj gibi ekstrarenal yapılarda da bulunur (18). Böbrekte 1,25(OH)₂D'ye ek olarak, mitokondriyal P450 enzimi olan 25-hidroksivitamin D-24-hidroksilaz (CYP24) enzimi ile 24,25-dihidroksi D [24,25(OH)₂D] üretilir. Bu, inaktif metabolittir. 25-hidroksivitamin D-24-hidroksilaz, hem 25-hidroksivitamin D'yi hem de 1,25(OH)₂D'yi hidroksilleyebilir. Asıl fonksiyonu D vitamininin inaktivasyonudur.

En güçlü D vitamini metaboliti olan 1,25(OH)₂D'nin oluşumu, sıkı bir şekilde düzenlenir. Düşük kalsiyum ve fosfor düzeyi, 1- α -hidroksilaz enziminin aktivitesini arttırır. Düşük kalsiyum, paratiroid hormon (PTH)'un artmasına neden olur. PTH 1- α -hidroksilaz enziminin transkripsiyonunu uyarır. 1,25(OH)₂D düzeyinin artması 1- α -hidroksilaz enzimini negatif olarak düzenler.

1,25(OH)₂D, proksimal tübülde fosfat emilimini engelleyerek fosfatüriye neden olan fibroblast büyüme faktörü 23 (FGF-23)'ü de uyarır. FGF-23, 1- α -hidroksilaz enziminin ekspresyonunu baskılar ve 24-hidroksilaz enzimini indükler. Östrojen, prolaktin, kalsitonin 1,25(OH)₂D üretimini arttıran diğer faktörlerdir (18).

24-hidroksilaz, D vitamininin metabolik degradasyonundan sorumlu asıl enzimdir. 1,25(OH)₂D'nin kalsitroik asite, 24,25(OH)₂D'nin 1-desoksikalsitroik asite dönüşümünü katalize eder. Bu ürünler safra aracılığıyla feçesle, çok az bir miktarda da idrarla dışarıya atılır (19).



Şekil-2: D vitamininin metabolizması. **DBP:** D vitamini bağlayıcı protein, **FGF23:** Fibroblast büyüme faktörü 23, **PTH:** Paratiroid hormon (20).

1.4. D vitamininin etki mekanizması

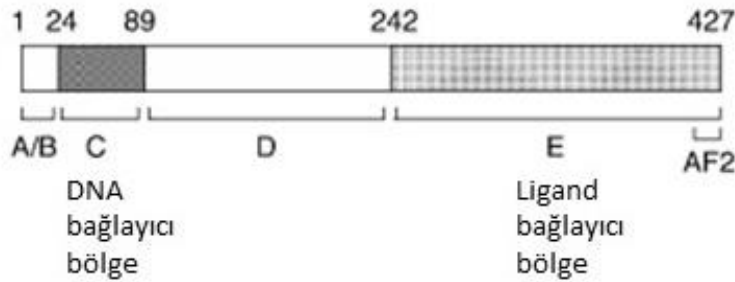
D vitamininin aktif formu $1,25(OH)_2D$, iki farklı yolla etki gösterir. Bunlar genomik ve non-genomik etki olarak adlandırılır.

1.4.1. Genomik etki

Dolaşımında DVBP'ye bağlı bulunan $1,25(OH)_2D$, hedef dokuya gelir. Burada DVBP'den ayrılır ve sitoplazmada bulunan nükleer vitamin D reseptörü (VDR)'ne bağlanır (7).

1.4.1.1. Vitamin D reseptörü

VDR, nükleer reseptör süper ailesine ait olan ligandla aktive olan bir transkripsiyon faktörüdür. Yaklaşık 50.000 dalton olan tek zincirli bir polipeptittir (21). VDR proteini, diğer nükleer reseptörlerde olduğu gibi, beş bölgeden (A-E) oluşur (Şekil 3) (22).

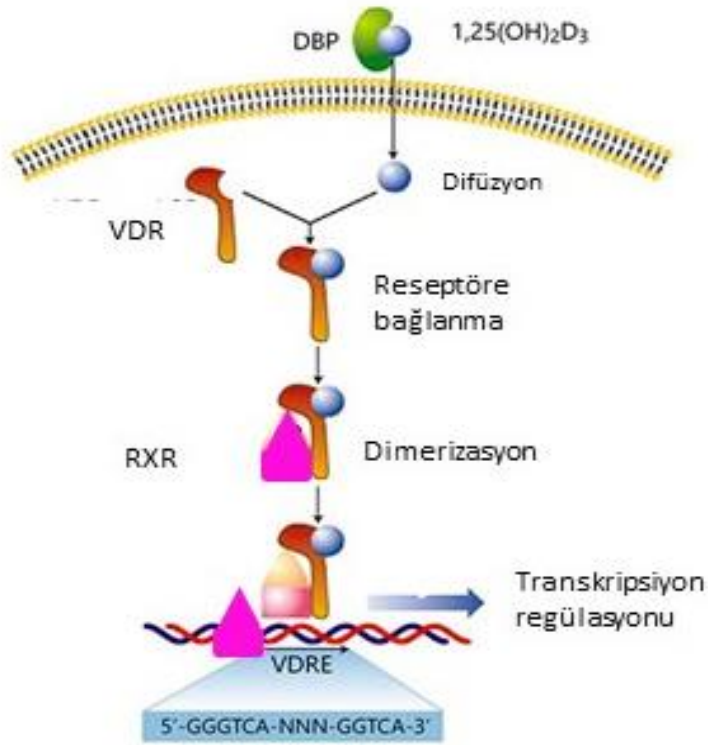


Şekil-3: VDR'nin yapısı (22)

N terminalindeki A/B bölgesi, aktivasyon bölgesi olarak da adlandırılır. Bu bölge, VDR'de çok kısadır ve 24 aminoasitten oluşur. DNA bağlayıcı bölge olan C bölgesi, 65 aminoasitten oluşur. Bu bölge DNA'daki D vitamini cevap elamanı olarak adlandırılan bölgeye bağlanabilen iki çinko parmağına sahiptir. Esnek menteşe bölgesi olan ve 143 aminoasitten oluşan D bölgesi, DNA bağlanma bölgesiyle E bölgesini birbirinden ayırır. Ligand bağlayıcı bölge ve terminal aktivasyon bölgesi (AF2) içeren E bölgesi 195 aminoasitten oluşur. Bu kısım VDR'nin partnerleriyle (Retinoid X reseptörü gibi) dimerizasyon

oluşturması için veya AF2 bölgesine korepresör ve koaktivatörlerin bağlanması için fonksiyon görür. VDR toplam 427 aminoasitten oluşur (23).

1,25(OH)₂D'nin etkinliği ilk olarak, VDR'nin ligand bağlayıcı kısmına bağlanması ile başlar. Bu bağlanma, reseptör hormon kompleksinin, retinoid X reseptörü (RXR) ile heterodimerizasyonunu ve nükleusa translokasyonunu uyarır. Nükleusta VDR-RXR kompleksi transkripsiyon faktörü gibi rol alır ve hedef genin promotör bölgesindeki vitamin D cevap elementlerine bağlanarak ekspresyonu düzenler (7) (Şekil-4).



Şekil-4: D vitamininin moleküler etki mekanizması. **DBP:** D vitamini bağlayıcı protein, **VDR:** Vitamin D reseptörü, **RXR:** Retinoid X reseptörü, **VDRE:** Vitamin D cevap elemanı (24).

VDR geni 12. kromozomda lokalizedir (21). Pek çok dokunun VDR eksprese ettiği gösterilmiştir (Tablo-1). Bu D vitamininin klasik bilinen mineral

homeostazındaki rolünün ötesinde çeşitli dokularda farklı biyolojik fonksiyonlara sahip olduğunu göstermektedir (7).

Tablo-1: D vitamini reseptörü tanımlanan hücre ve dokular (25)

Adipoz doku	Aktive T hücreleri
Adrenal	Kalp kası
Kemik	Aort endotel hücreleri
Kemik iliği	Osteoblastlar
Beyin	Pankreas adacık hücreleri
Meme bezi	Paratiroid bezi
Neoplastik hücreler	Parotis
Kondrositler	Hipofiz bezi
Kolondaki enterositler	Plasenta
Over	Prostat
Epididimis	Retina
Saç folikülleri	Deride keratinositler
İntestinal hücreler	Mide
Distal renal hücreler	Testis
Karaciğer	Timüs
Akciğer	Tiroid
Transforme B hücreleri	Uterus

1.4.2. Nongenomik etki

D vitamininin tüm etkileri genom üzerinden yaptığı etkiyle açıklanamamaktadır. Bazı etkilerini peptit hormon reseptörlerine benzer olan hücre membranı üzerinde bulunan VDR üzerinden gösterir. D vitamini bağlandığında hücre membranındaki VDR aracılığı ile fosfolipaz C, fosfolipaz D, protein kinaz C aktive edilir. D vitamininin intestinal hücrelere hızlı kalsiyum girişini sağlaması nongenomik etkisine örnektir (7).

1.5. D vitamininin fonksiyonları

1.5.1. D vitamininin kas ve iskelet sistemi üzerindeki etkileri

1,25(OH)₂D'nin temel etkisi kemik mineralizasyonu için gerekli olan kalsiyum ve fostor düzeylerini düzenlemektir. Kalsiyum seviyesinin normal seviyelerde tutulması nöromüsküler bileşkenin fonksiyonu, vazodilatasyon, sinir iletimi ve hormon salgılanması için de gereklidir.

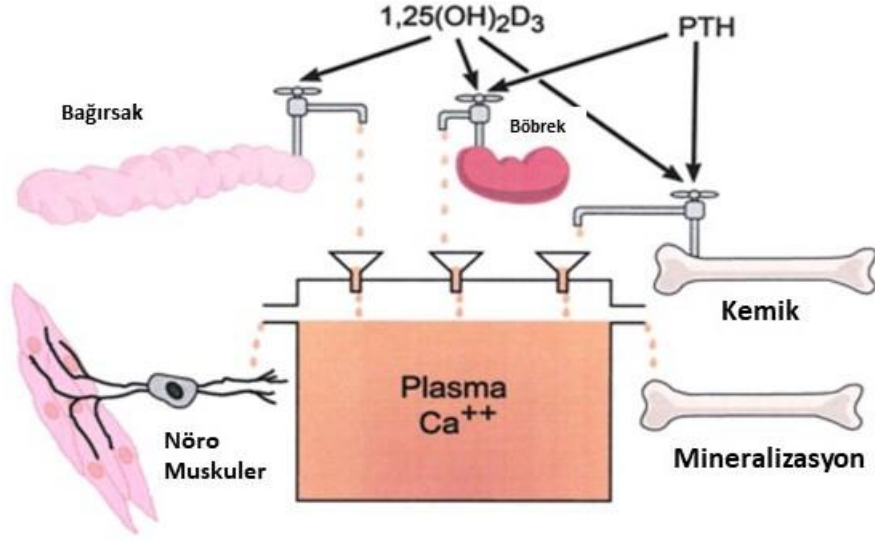
D vitamini kalsiyum seviyesini normal seviyede tutmak için 3 farklı mekanizma ile etki eder (Şekil-5).

PTH bağımlı olmayan ilk mekanizma, bağırsakta özellikle duodenum ve jejunumda direkt olarak kalsiyum ve indirekt olarak da fosfat emilimini uyarmaktır (26). D vitamini yoksunluğunda ince bağırsaktan diyetdeki kalsiyumun emilimi %10-15 kadar olmaktadır. D vitamini yeterli bireylerde kalsiyum emilimi ortalama %30'dur ve bu oran büyüme, gebelik, laktasyon esnasında %80'e çıkar (27).

İkinci mekanizmada 1,25(OH)₂D, PTH aracılığıyla kalsiyumun kemikten mobilizasyonunda önemli bir rol oynar. Kemik rezorpsiyonundan sorumlu olan reseptör aktivatör nükleer faktör kappa B ligandını uyararak, osteoklastları uyarır. Osteoklastlar kalsiyumun kemikten mobilizasyonunu sağlar.

Üçüncü mekanizmada 1,25(OH)₂D, PTH ile birlikte böbrekte distal tübülden kalsiyumun reabsorpsiyonunu uyarır (26).

Kemik formasyonu ve rezorpsiyonu arasındaki denge, kalsiyum seviyesini belli sınırlar içinde tutmak için sıkı bir kontrol altındadır. D vitamininin kemik rezorpsiyonunu uyarma etkisi yanında, intestinal sistemden kalsiyum ve fosfor emilimini sağlayarak kemik formasyonunu, gelişimini ve mineralizasyonunu uyarma etkisi de vardır (7).



Şekil-5: D vitamininin kalsiyum homeostazı üzerine etkileri.
PTH: Paratiroid hormon, **Ca:** Kalsiyum (28).

Raşitizm ve osteomalazi kemik mineralizasyonunda bozulmayla karakterize hastalıklardır. Raşitizm, epifiz plakları kapanmadan önce büyüyen kemikte çocuklarda görülürken, osteomalazi epifiz plaklarının kapanmasından sonra erişkinde görülen matür kemiğin hastalığıdır. En sık nutrisyonel D vitamini eksikliğine bağlı gelişir. D vitamini metabolizmasındaki aksaklıklar da raşitizm ve osteomalaziye sebep olabilir. Başlıca semptomları kemik ağrısı, hassasiyeti, iskelet deformitesi ve kırıkları, kas güçsüzlüğü ve tetanidir (29).

D vitamini kas hücrelerinde kalsiyum transportunda ve protein sentezinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Yaşlılarda düşük D vitamini düzeyleri, kas zayıflığı, kötü fiziksel performans, denge sorunları ve düşmeler ile ilişkilendirilmiştir (30).

1.5.2. D vitamininin kas iskelet sistemi haricindeki etkileri

Kalsiyum ve kemik homeostazındaki rolüne ek olarak, D vitamini potansiyel olarak birçok hücresel işlevi de düzenler. İnsan genomunun yaklaşık %3'ü, D vitamininin aktif formu olan 1,25(OH)₂D kontrolündedir.

1.5.2.1. Kanser ve D vitamini

D vitamini ile kanser ve hücre proliferasyonu arasındaki ilişkiyi gösteren çok sayıda çalışma vardır. İn vitro çalışmalar, aktif D vitamini veya

analoglarının hücre proliferasyonunu azaltabildiğini ve bunu sağlamak için birçok geni aktive veya inaktive edebildiğini göstermiştir. Bazı hayvan çalışmalarında, D vitamini reseptör eksikliğinin kansere yatkınlığa neden olduğu belirtilmektedir (31). Bazı epidemiyolojik çalışmalar düşük D vitamini düzeyinin meme, prostat ve kolorektal kanser riskinin artışı ile ilişkili olduğunu göstermiştir. 1,25(OH)₂D'nin kanser hücrelerinde proliferasyon, metastaz, invazyon ve anjiogenez üzerine azaltıcı, apoptozis ve diferansiasyon üzerine arttırıcı etkileri vardır (32). Bazı gözlemsel çalışmalar ise, daha yüksek 25(OH)D vitamini düzeyi olanlarda pankreas kanseri riskinin artmış olduğunu bildirmiştir (33).

1.5.2.2. Otoimmün hastalıklar ve D vitamini

D vitamininin immün sistemin neredeyse tüm hücreleri üzerinde etkisi vardır. Dendritik hücreler, makrofajlar, T ve B lenfosit hücrelerinde VDR ekspresyonu tanımlanmıştır. 1,25(OH)₂D, kazanılmış immün sistemin aktivasyonunu azaltmaktadır. Bundan dolayı D vitamini eksikliği hayvan modellerinde de gösterildiği gibi teorik olarak otoimmün hastalık riskini arttırabilmektedir (31). Yapılan çalışmalar D vitamini eksikliğinde Tip 1 diyabetes mellitus (DM), multipl skleroz, romatoid artrit gibi otoimmün hastalık gelişme riskinde artış olduğunu desteklemektedir (7).

D vitamini kazanılmış bağışıklık sisteminin aktivasyonunu azaltmasına rağmen, doğal bağışıklık sistemini, özellikle monositleri ve makrofajları aktive etmektedir. Viral enfeksiyonların D vitamininin mevsimsel değişimine paralel olarak belirgin bir mevsimsel değişime sahip olduğu hipotez edilmektedir (31).

1.5.2.3. Diyabet ve D vitamini

Tip 1 ve tip 2 DM'nin D vitamini ile ilişkilendirilmesinin birçok nedeni vardır (34).

Tip 1 DM ile D vitamini ilişkisi büyük ölçüde D vitamininin bağışıklık sistemi üzerindeki etkileriyle açıklanmaktadır. Tip 1 DM ile D vitamini eksikliği arasında ilişki olduğu, erken bebeklik döneminde D vitamini desteğinin, tip 1 diyabet riskini yaklaşık %30 azalttığı gösterilmiştir (35-37).

Tip 2 DM için potansiyel mekanizmalar, D vitamininin pankreas beta hücre aktivitesinin ve insülin duyarlılığının artışına neden olmasıdır. D vitamini,

obez ve tip 2 diyabetli bireylerde düşüktür, ancak bu ilişkinin nedenselliği bilinmemektedir. Birçok kesitsel ve prospektif kohort çalışmada tip 2 DM olan bireyler ve metabolik sendromla ilişkili durumlarda D vitamini düşük bulunmuştur. Neredeyse tüm çalışmalarda, obezite düşük 25(OH)D vitamini konsantrasyonları ile ilişkili bulunmuştur (38). Glukoz toleransı normal olan, normal kilolu kişilerde 25(OH)D düzeyi ile insülin duyarlılığı arasında pozitif ilişki saptanmıştır (39).

1.5.2.4. Kardiyovasküler hastalıklar ve D vitamini

D vitamininin renin-anjiyotensin sistemini etkileyerek vasküler düz kas hücrelerinde, endotelde ve kardiyomyositler üzerinde olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir (40). Bir çalışmada tip 2 DM'li hastalara D vitamini takviyesiyle santral kan basıncının 14 mmHg düştüğü görülmüştür (41). Çalışmalar D vitamininin antiinflamatuvar etkisiyle, glukoz metabolizması üzerine olan etkisiyle ve kan basıncını düzenleyerek kardiyovasküler hastalık riskini düşürebileceğini göstermektedir (40). Düşük serum 25(OH)D düzeyleri bazı çalışmalarda artmış kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkilendirildiği halde, D vitamini takviyesinin kardiyovasküler hadiselerle ilgili sonuçları iyileştirdiğine dair kanıt yoktur (31).

1.5.2.5. Nöropsikiyatrik hastalıklar ve D vitamini

Beyinde D vitaminini aktif formuna dönüştüren 1- α -hidroksilaz enzimi ve VDR ekspresyonu gösterilmiştir. Nöronal proliferasyon, diferansiyasyon, migrasyon ve apoptoz üzerine etkileri sayesinde, D vitamininin beyin gelişiminde önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Prenatal D vitamini eksikliğinin şizofreni gibi nöropsikiyatrik bozuklukların riskini artırabileceği öne sürülmüştür. Fikir birliği olmamakla birlikte, çalışmalar depresyon veya Alzheimer hastalığı olan hastalarda D vitamini eksikliğinin sık olduğunu göstermektedir (31).

1.5.2.6. Üreme fizyolojisi ve D vitamini

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, D vitamini ve aktif metaboliti 1,25(OH)₂D'nin üreme fizyolojisinde önemli bir rol oynadığı öne sürülmektedir (42). Kadın veya erkek eşte D vitamini düzeylerinin fertilitateye etkisini inceleyen ve farklı sonuçlar bildiren çalışmalar mevcuttur (43).

İn vitro çalışmalar, D vitamininin over hücrelerinde estradiol ve progesteron üretimini uyardığını göstermiştir (44). Ayrıca over rezervinin iyi bir belirteci olan anti Müllerian hormon (AMH) ile D vitamini arasında pozitif korelasyon gösteren çalışmalar da mevcuttur (45). AMH geninin promotor bölgesinde fonksiyonel D vitamini cevap elamanı olduğu bilinmektedir (46).

Spermatogenez, sperm motilitesi ve akrozom reaksiyonu için çok önemli olduğu bilinen kalsiyumun metabolizmasında, D vitamini önemli bir role sahiptir (47). Ancak D vitamininin semen kalitesi ve spermatogenezle olan bağlantısı henüz tam olarak anlaşılamamıştır (48). Testis, sperm, epididimis, seminal vezikül, prostat, over, uterus, plasenta, serviks, hipofiz, hipotalamus gibi üreme sistemiyle ilişkili yapılarda VDR ekspresyonu olduğu gösterilmiştir (45). Fertil erkeklerle gerçekleştirilen bir çalışmada VDR'nin sperm özelliği baş ve çekirdek kısmında olduğu saptanmıştır (48). D vitamini eksikliğinin, azalmış sperm motilitesi ve normal morfoloji ile korele olduğu, 1,25(OH)₂D verilmesiyle sperm motilitesinin arttığı saptanmıştır (49). Danimarka'da yapılan bir çalışmada ise yüksek D vitamini düzeylerinde anlamlı olmasa da daha düşük sperm sayısı saptanmıştır (50).

1.6. D vitamini eksikliği

Vücudun D vitamini durumunu gösteren en iyi parametre serum 25(OH)D vitamini düzeyidir. Çünkü 25(OH)D yarı ömrü 2-3 hafta olan major sirkulatuar formdur ve hem D vitamini alımını hem de endojen yapımı göstermektedir. Biyolojik aktif form 1,25(OH)₂D ideal ölçüm için uygun değildir. Çünkü yarı ömrü 4-6 saat kadar kısa ve dolaşımdaki düzeyleri 25(OH)D'den 1000 kat düşüktür (51).

1998 yılına kadar D vitamini eksikliği, 25(OH)D vitamini konsantrasyonunun 10 ng/mL'den (25 nmol/L) az olması olarak tanımlanmıştır. Bu tanım temel olarak raşitizm gelişimi ile 25(OH)D kan düzeyi arasındaki ilişkiye dayanmıştır (52). Ayrıca, D vitamini eksikliğinin dolaşımdaki PTH seviyelerinde bir artış ile ilişkili olduğu da anlaşılmıştır. Serum PTH düzeyi ile 25(OH)D vitamini seviyesi arasında ters bir ilişki olduğu ve PTH seviyelerinin yaklaşık 30 ng/mL'de plato yapmaya başladığı bildirilmiştir (53). 1998'de Malabanan ve ark. (54), 25(OH)D vitamini düzeyleri 11-25 ng/mL olan

sağlıklı yetişkinlere 8 hafta boyunca haftada bir kez 50.000 internasyonal ünite (IU) D2 vitamini verildiğinde, D vitamini düzeyi 11-19 ng/mL olan bireylerde PTH'nin istatistiksel olarak anlamlı düştüğünü, 20-25 ng/mL olanlarda ise PTH seviyelerinde anlamlı bir değişme gözlemlenemediklerini bildirmişlerdir. Böylece D vitamini eksikliği 1998'de 25(OH)D'nin 20 ng/mL altında olması şeklinde yeniden tanımlanmıştır.

Endokrin Derneği (Endocrine Society) <20 ng/mL değerleri D vitamini eksikliği, 20-30 ng/mL arası değerleri D vitamini yetersizliği, 30 ng/mL'nin üzerindeki D vitamini düzeylerini ise optimal kas- iskelet sistemi sağlığı için yeterli olarak tanımlamaktadır (55). Türk Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, bunlara ek olarak <10 ng/mL değerleri ciddi eksiklik olarak kabul etmektedir (56). D vitamini eksiklik nedenleri tablo-2'de özetlenmiştir.

Tablo-2: D vitamini eksikliği nedenleri (56)

Yetersiz alım veya emilim
Besinlerle yetersiz alım Yetersiz güneş ışığı maruziyeti (kuzey enlemler, hava kirliliği, koyu cilt, güneş koruyucu kullanımı, kapalı giyim tarzı vb) Yağ malabsorbsiyonu Gastrektomi İnce barsak hastalıkları (Çölyak hastalığı, inflamatuvar barsak hastalıkları vb) Pankreas yetmezliği
25(OH)D sentezinin azalması
Kronik karaciğer hastalıkları (siroz vb)
D vitamini inaktif metabolitlere yıkımında artış
Antikonvülzan ilaçlar (fenitoin, fenobarbital) Antifungal ilaçlar (ketokonazol) Antitüberküloz ilaçları (rifampisin, izoniazid) Anti-retroviral ilaçlar Glukokortikoidler
D vitamini bağlayıcı protein kaybı
Nefrotik sendrom
1,25(OH)₂D sentezinin azalması
Hipoparatiroidi Renal yetmezlik 1-alfahidroksilaz eksikliği (D vitamini bağımlı raşitizm tip 1)
Aktif D vitamini hedef organ cevapsızlığı (D vitamini direnci)
Hereditör D vitamini bağımlı raşitizm (D vitamini bağımlı raşitizm tip 2)

D vitamini eksikliği, yaygın medikal durumlardan biridir. Klinik bulgular D vitamini eksikliğin derecesi ve süresine bağlıdır. Çoğu hasta asemptomatiktir. Vitamin D eksikliğinin yaygın belirtileri, bel, pelvis, alt ekstremitelerde ağrı veya kemik rahatsızlıkları, düşme riskinde artış, bozulmuş fiziksel fonksiyon, kas ağrıları ve proksimal kas güçsüzlüğüdür (57).

1.7. D vitamini intoksikasyonu

25(OH)D düzeyinin 150 ng/mL üzerinde olması D vitamini intoksikasyonu olarak kabul edilmektedir. Nadir görülen D vitamini intoksikasyonu genellikle iatrojenik yüksek doz D vitamini kullanımına bağlı gelişir. D vitamini intoksikasyonunun klinik bulguları çeşitlidir ve temel olarak hiperkalsemiye bağlıdır. Konfüzyon, apati, depresyon, koma, kusma, iştahsızlık, elektrokardiyografi bozuklukları, aritmi, hipertansiyon, damar kalsifikasyonu, hiperkalsiüri, nefrokalsinoz, poliüri, böbrek yetmezliği gibi durumlar görülebilmektedir (58).

2. İnfertilite

2.1. İnfertilite tanımı

Yardımla Üreme Teknikleri Uluslararası İzleme Komitesi ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün tanımına göre infertilite; 12 ay veya daha uzun bir süre boyunca, düzenli sıklıkta korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebelik elde edilememesi durumudur (59). Çiftlerin en az bir yıl süreyle korunmamasına rağmen hiç gebelik oluşmaması durumu primer infertilite, en az bir gebelik gerçekleşmesinden sonra en az bir yıl süreyle korunmamasına rağmen gebelik oluşmaması durumu sekonder infertilite olarak tanımlanmaktadır (60). İnfertilitenin yaştan bağımsız olarak en yaygın görülen kronik sağlık bozukluklarından biri olduğu bildirilmektedir (61). DSÖ'nün 2004 yılındaki gelişmekte olan ülkelerdeki infertilite raporuna göre, dünyada üreme çağındaki çiftlerde primer infertilite oranı %3,9 ile %16,8 arasında değişmektedir. Bu raporda Türkiye'de 25-49 yaş arası kadınlarda primer infertilite insidansının %8,5 olduğu bildirilmiştir (60).

2.2. İnfertilite nedenleri

DSÖ'nün çok merkezli olarak gerçekleştirdiği bir çalışmaya göre, infertilite olgularının %20'sinde erkek faktörü, %38'inde kadın faktörü, %27'sinde erkek ve kadın faktörü birlikte bulunmuştur. Olguların %15'inde ise kadın ve erkekte infertiliteye neden olabilecek bir patolojinin saptanmadığı,

nedeni açıklanamayan faktörlerden kaynaklandığı bulunmuştur (62). Kadın ve erkek faktörlerine bağlı infertilite nedenleri tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo-3: Kadın ve erkek infertilite nedenleri (63)

Kadın faktörlü infertilite sebepleri				
Ovulatuvar faktörler	Santral defektler	Kronik hiperandrojenik anovulasyon Hiperprolaktinemi Hipotalamik yetmezlik		
	Pitüiter yetmezlik (Travma, tümör, konjenital)			
	Periferik defektler	Gonadal disgenezis Prematür ovaryan yetmezlik Ovaryan tümör Ovaryan rezistans		
	Metabolik hastalıklar	Tiroid hastalığı Karaciğer hastalığı Böbrek hastalığı Obezite Androjen fazlalığı		
Pelvik faktörler	Enfeksiyon	Appendisit Pelvik enflamatuvar hastalık Uterin adezyonlar (Asherman sendromu)		
	Endometriozis			
Yapısal anomaliler	Dietilstilbestrol (DES)'e maruz kalma			
	Reproduktif sistemin anormal füzyonu Myom			
Servikal faktörler	Konjenital	DES'e maruz kalma Müllerian kanal anomalileri		
	Akkiz	Cerrahi tedavi Enfeksiyon		
Erkek faktörlü infertilite sebepleri				
Endokrin hastalıklar	Hipotalamik disfonksiyon (Kallman sendromu) Pitüiter yetmezlik (Tümör, radyasyon, cerrahi) Hiperprolaktinemi (İlaç, tümör) Eksojen androjenler Tiroid hastalıkları Adrenal hiperplazi			
	Anatomik bozukluklar	Konjenital vas deferens yokluğu Vas deferens tıkanıklığı Ejakulatuvar sistemin konjenital anomalileri		
		Anormal spermatogenez	Kromozomal bozukluklar Kabakulak orşiti Kriptorşidizm Kimyasal maddelere ve radyasyona maruz kalma	
			Anormal motilite	Sillia yokluğu (Kartagener sendromu) Varikozel Antikor yapımı
	Seksüel disfonksiyon	Retrograd ejakulasyon İmpotans Libido azalması		

2.3. Açıklanamayan İnfertilite

Açıklanamayan infertilite düzenli ilişkiye rağmen çiftlerin 12 ay veya daha uzun süre, 35 yaş üstü kadınların ise 6 ay veya daha uzun süre gösterilebilir bir neden bulunamazken gebelik elde edememesi olarak tanımlanır (64,65). Bu bireylere açıklanamayan infertilite tanısı koymak için ovulasyonun objektif kanıtları, bilateral tubal açıklık ve normal uterin kavitenin varlığı, yeterli over rezervinin olduğu, semen analizinin normal olduğu gösterilmelidir (66).

2.3.1. İnfertil çiftin değerlendirilmesi

Kadın temel infertilite araştırmaları detaylı hikaye alındıktan sonra over, uterus, fallop tüpleri ve peritonun fonksiyonel ve anatomik değerlendirilmesini içermektedir.

Erkek temel infertilite araştırmasında detaylı hikaye alınmasından sonra yapılacak test spermiogramdır (67). Spermogram; 2-7 günlük cinsel perhiz sonrasında, mastürbasyon ile alınan semenin incelenmesini içermektedir (66).

2.3.1.1. Ovulatuvar fonksiyonun değerlendirilmesi

Ovulatuvar disfonksiyon, infertilitenin en sık nedenlerinden biri olduğundan, ovulatuvar fonksiyonun değerlendirilmesi kadın infertilitesinin değerlendirilmesinde önemli bir role sahiptir.

Yaklaşık 28 günde bir düzenli adeti ve menstrüasyon öncesi minimal semptomları (meme hassasiyeti, şişkinlik, halsizlik) olan kadınlar genellikle ovulatuardır. Menstrual sikluslarını bu şekilde ifade etmeyen kadınlarda ovulasyonun laboratuvar değerlendirmesi yapılmalıdır. Ovulasyonun belirlenmesinde en kolay yaklaşım beklenen menstrüasyondan 1 hafta önce midluteal dönemde serum progesteron seviyesinin ölçümüdür. 28 günlük siklusları olan bir kadında 21. gün progesteron seviyesinin >3 ng/mL olması ovulasyon olduğunun kanıtıdır (68). Eğer 21. gün progesteron seviyesi <3 ng/mL ise hasta anovulatuvar olarak kabul edilir (66). Ovulasyonun belirlenmesinde bir alternatif de idrarda luteinizan hormon (LH) ölçümüdür. Ovulasyonun saptanmasında diğer yöntemler, seri ultrasonografi ile folikül

gelişimi takibi ve sekretuar değişiklikleri göstermek için endometrial biyopsidir (69).

2.3.1.2. Over rezervinin değerlendirilmesi

Over rezervinin azalması oosit kalitesinde düşme, oosit sayısının azalması ve azalmış reproduktif potansiyel ile ilişkilidir (70). Over rezervinin değerlendirilmesinde ideal bir yöntem yoktur. Testlerin kombinasyonu en iyi değerlendirmeyi sağlar (66). AMH ölçümü, menstruasyonun 3. günü folikül stimulan hormon (FSH) ve estradiol ölçümü, antral folikül sayımı over rezervini değerlendirmede kullanılabilir yöntemlerdendir.

AMH, transforme edici büyüme faktörü-beta ailesinin bir üyesidir ve 8 mm'den küçük preantral ve erken antral foliküllerden eksprese olur. AMH seviyesi primordial folikül havuzunu yansıtır (71). İlerleyen yaşla beraber primordial folikül havuzunun azalması ile AMH düzeyleri düşer ve menopozda ölçülemeyecek düzeylere iner (72,73). AMH seviyesi azalan over fonksiyonunun güvenilir, erken ve direkt göstergesi olarak kabul edilir ancak eşik değeri hakkında tam bir fikir birliği yoktur (74). İn vitro fertilizasyon (IVF) planlanan hastalarda AMH düzeyi, stimülasyondan sonra alınan oosit sayısı ile koreledir ve zayıf veya aşırı over yanıtını tahmin etmek için iyi bir biyobelirteçtir (75-78). Kesin eşik değeri olmamakla beraber AMH'nin 1 ng/mL'den düşük değerleri kötü embriyo kalitesi, zayıf ovaryan yanıt ve kötü gebelik sonuçlarıyla, 3,5 ng/ml'den yüksek değerleri de artmış ovaryan hiperstimülasyon sendromu riskiyle ilişkilidir (69). AMH siklusun herhangi bir zamanında ölçülebilir (66).

Menstrual siklusun 3. günü FSH ve estradiol ölçümü over rezervinin değerlendirilmesinde yaygın kullanılan testlerdendir. Bu testlerin temeli iyi over rezervine sahip hastalarda menstrual siklusun erken dönemlerinde küçük foliküllerden salınan ovaryan hormonların FSH'yı düşük seviyelerde tutmasına dayanır. Bunun tersine over rezervi azalmış olan ve ovaryan hormon salınımı yetersiz olan hastalarda hipofizden salınan FSH inhibe edilemez ve siklusun erken dönemlerinde FSH seviyesi artar. Over rezervinin azalması sonucunda, inhibin üretimi azalırken FSH düzeyi artmakta ve bunun sonucunda erken foliküler dönemde estradiol düzeyleri yükselmektedir (79).

Antral folikül ortalama çapları 2-10 mm arası olan foliküller olarak tanımlanır. Antral folikül sayısı primordial folikül sayısı ile orantılıdır Düzenli adetleri olan bir kadında menstrual siklusun 2-4.günleri arasında >6 adet antral folikül bulunması iyi ovaryan rezervi yansıtırken 4'ten az olması kötü ovaryan rezervi gösterir (80).

2.3.1.3.Tubal açıklığın değerlendirilmesi

Tubal açıklığın değerlendirilmesinde histerosalpingografi (HSG), histerosalpingokontrast sonografi ve laparoskopi en sık kullanılan yöntemlerdir. HSG'nin avantajları, uterin kavitenin şekli hakkında bilgi verebilmesi ve peritoneal çevreyi değiştirerek fekundabiliteyi arttırabilmesidir. Laparoskopinin HSG'ye temel üstünlüğü tubal ve peritoneal hastalıklar açısından daha yüksek sensitiviteye ve spesifiteye sahip olmasıdır, ayrıca endometriozis ve peritoneal hastalıkları gösterebildiği gibi, tanı anında hastalığa müdahale edilebilme olanağı da sunar. Histerokontrast sonografi, içerisinde albümin, galaktoz, lipid ve polimer gibi maddelerin bulunduğu mikroköpükcük içeren sıvının endometrial kaviteye verilmesi ve bu sıvının tubaların geçişinin ultrasonografi ile tespit edilmesi esasına dayanır (81).

2.3.1.4. Uterin kavitenin değerlendirilmesi

Uterin kavite değenlendirmesi salin infüzyon sonohisterografi, üç boyutlu sonografi, HSG ve histeroskopi ile yapılabilir (66). Uterin kavitenin şeklinin değerlendirilmesinde HSG faydalıdır, ancak kavite içi yer kaplayan lezyonlarda (submukozal myom veya polip, vb.) sonohisterografi, HSG'den üstündür (67,82). Endometrial kavite ile ilgili anomalilerin değerlendirilmesinde histeroskopi altın standart metoddur. Tanıyla birlikte tedavi imkanı da sağlar (83).

2.3.1.5. Semen analizi

İnfertilitenin erkek kaynaklı olup olmadığının belirlenebilmesi için rutin incelemede semen analizi en önemli parametredir. Semen örneği, 2-7 günlük bir cinsel perhiz sonrasında mastürbasyon ile alınır. Semen örneğinde sperm konsantrasyonu doğal varyasyon gösterebildiği için, 1-2 hafta arayla en az 2 örnek toplanmalıdır (66). Standart semen analizinin değerlendirilmesinde DSÖ'nün belirlediği değerler tablo-4'te gösterilmiştir.

Tablo-4: Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasına göre normal semen parametreleri (84)

Parametre	Referans değerler
Semen hacmi (mL)	1,5 (1,4-1,7) mL
Ph	≥ 7,2
Sperm konsantrasyonu	15 (12-16) milyon/mL
Total sperm sayısı	39 (33-46) milyon/ejakulat
Total hareket	%40 (38-42)
İleri hareket	%32 (31-34)
Canlılık	%58 (55-63)
Normal morfoloji	%4 (3-4)
Peroksidaz pozitif lökosit	< 1 milyon/mL

Erkek infertilitesi değerlendirmesinde ek olarak genetik ve endokrin testler de yapılabilmektedir.

2.3.2. Açıklanamayan infertilitenin olası etyolojileri

Tubal transportasyon problemi, sperm ve yumurta etkileşiminde problemler, hafif ovulatuvar disfonksiyon, luteal faz yetersizliği, implantasyon anomalileri, erkeğin semen analizinde sperm konsantrasyonunun ve hareketliliğin normal aralığın alt sınırında olması sebebi açıklanamayan infertilite için olası etyolojiler arasında sayılmaktadır.

Bunların dışında açıklanamayan infertilite vakalarında, tek başına fertilitiyi anlamlı derecede azaltmayan faktörlerin, çiftlerin her ikisinde birlikte bulunmasının gebelik oranını etkileyebileceği de varsayılmaktadır (66).

2.4. Açıklanamayan infertilite olgularında üremeye yardımcı teknik uygulamaları

Açıklanamayan infertilite tanısı almış çiftlerin tedavisinde etkinlik, maliyet ve riski dikkate alan bir yaklaşım benimsenmektedir. Açıklanamayan infertilitenin tedavi planlamasında öncelikle daha az kaynak gerektiren ve hasta odaklı (hayat tarzı değişikliği, zamanlanmış ilişki) seçeneklerle başlanıp, cevap alınamazsa daha çok kaynak gerektiren ve daha kapsamlı seçeneklere yönelilmektedir. Klomifen sitrat ile intrauterin inseminasyon (IUI)

kombinasyonu, cevap alınamaması halinde gonadotropinlere IUI kombinasyonu, yine cevap alınamazsa in vitro fertilizasyon denenmektedir (85).

2011'de yayınlanan Türkiye Sağlık Uygulama Tebliği'ne göre açıklanamayan infertilite olgularında öncelikle gonadotropinlerle ovulasyon indüksiyonu (OI) + IUI uygulanmaktadır. En az iki deneme gonadotropinlerle OI+IUI tedavisi sonrası gebelik elde edilemediği durumda IVF tedavisi gerçekleştirilmektedir (86).

Klomifen sitrat selektif östrojen reseptör modülatörüdür. Genellikle ovaryan stimülasyon için ilk kullanılan ajandır. Hipotalamusta klomifen sitrat östrojen reseptörlerine uzun süre bağlanarak ve bloke ederek, normal ovaryan hipotalamik feedback yolun fonksiyonunu azaltır. Artan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) hipofizden gonadotropin salınımını uyarır. Ayrıca klomifen sitrat direkt olarak hipofiz ve over üzerinde etki göstererek de ovulasyonu uyarır (87).

Gonadotropinler, endojen gonadotropinlerin yerini alarak ovulasyon indüksiyonu yapmaktadır. Spontan sıklularda olduğu gibi FSH primer olarak granuloza hücreleri, LH teka lütein hücreleri üzerinde etki göstererek follükülogenezi uyarır. Oosit maturasyonunun sağlanması, ovulasyonun uyarılması, korpus luteum oluşumu ve fonksiyonların devam etmesi için tedaviye human koryonik gonadotropin (hCG) eklenir (88).

IUI, özel yöntemler ile yıkanmış ve konsantre edilmiş motil spermlerin bir katater aracılığı ile direkt olarak uterin kavite içerisine verilmesi işlemidir (89). Bu yöntemle vajinal asidite ve servikal mukus bariyeri gibi faktörlerin ortadan kaldırılması, hareketli ve normal morfolojiye sahip spermlerin oosite yakın mesafeye yerleştirilmesi hedeflenmektedir.

IVF, fertilizasyon işleminin in vitro şartlarda laboratuvar ortamında, özel kültür ortamında gerçekleşmesi işlemidir. Bu tedavi yönteminde, kontrollü ovaryan stimülasyon ile foliküllerin olgunlaşması sağlanır. Oositler vajinal yolla cerrahi yöntemle toplanır ve invitro ortamda fertilizasyon gerçekleştirilir. Fertilizasyon sonucu gelişen embriyo uterusu transfer edilir. Transferin başarısı gebelik testi ile analiz edilir.

Erkek faktörü varlığında ya da nedeni açıklanamayan infertilite olgularında konvansiyonel IVF yerine intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) tercih edilmektedir (90,91). ICSI uygulanan olgularda, IVF prosedürü ile benzer şekilde folikül stimülasyonu uygulanır ve foliküllerin büyümesinin ardından oositler toplanır (92). Oosit toplama işlemi sırasında erkekten ejakulat alınır ve rutin semen analizi ile sperm sayısı, morfolojisi ve hareketliliği değerlendirilir. IVF yönteminde oosite yakın yerleştirilen 20.000 progressif hareketli spermden birisi doğal seleksiyon ile oositi döllerken, ICSI yönteminde spermin doğal seçim süreci atlanır ve sperm embriyolog tarafından seçilerek ooplazma içine mekanik olarak yerleştirilir (63,92). Araştırmalar, spermatozodaki yüksek DNA fragmantasyon indeksi (DFİ) oranlarının IUI ve IVF'de döllenmede başarısızlığa yol açtığını ve DFİ yüzdesi yüksek olan açıklanamayan infertilite olgularında en yüksek gebelik başarısının, spermin embriyolog tarafından seçilerek oosite mekanik olarak yerleştirildiği ICSI yönteminden sağlandığını göstermektedir (92,93).

3. İnfertilite ve D vitamini

İnfertilite ve D vitamini ilişkisi son yıllarda giderek artan ilgi ile incelenmektedir. D vitamininin üreme sistemindeki etkilerini inceleyen ilk çalışmalar hayvanlar üzerinde yapılmıştır. Halloran ve Deluca (94)'nin yaptığı çalışmada D vitamini eksikliği olan dişi sıçanların fertilizasyon oranının D vitamini düzeyi yeterli olan sıçanlara göre %75 düşük olduğu bulunmuştur. Yeterli D vitamini olan dişi sıçanlarla D vitamini eksikliği olan ve olmayan erkek sıçanların çiftleştirildiği çalışmada D vitamini eksikliği olan erkek sıçanlarda fertilizasyon ve başarılı gebelik oranının %73 az olduğu bulunmuştur (95). VDR mutasyonu oluşturulan farelerde hem erkek hem de dişi üreme disfonksiyonu izlenmiştir. Erkek farelerde sperm sayısının yanı sıra hareketliliğin de azaldığı ve testiste histolojik anomaliler olduğu fark edilmiştir. Ancak testosteron seviyeleri normal kalmıştır. Dişi farelerde uterus hipoplazisi, bozulmuş folikülogenez ve aromataz gen ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir (96-103).

Üreme çağındaki kadınlarda sık görülen ve infertiliteye sebep olan polikistik over sendromlu (PKOS) kadınların yaklaşık % 67-85'inde serum D vitamini düzeyleri 20 ng/mL'nin altında bulunmuştur (104). VDR genindeki polimorfizm, PKOS görülme sıklığıyla ilişkili bulunmasa da, hastalık ciddiyetiyle ilişkili bulunmuştur (105). Tahran'da yapılan bir çalışmada ise PKOS'lu ve sağlıklı kadınların D vitamini düzeyleri arasında fark bulunmamıştır (106).

D vitamininin infertiliteye etkisiyle ilgili bilgiler en çok IVF çalışmalarından elde edilmiştir. D vitamininin IVF başarısında etkili olup olmadığıyla ilgili farklı sonuçlar mevcuttur. Kandaki D vitamini ile foliküler sıvıdaki D vitamini arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada, IVF uygulanan 84 kadının ovaryan folikül sıvılarındaki D vitamini ile kandaki D vitamini düzeyinin korele olduğu, ovaryan ve serum D vitamini düzeyi artışının gebelik oranını istatistiksel olarak arttırdığı bildirilmiştir (107). Farzadi ve ark. (108), infertilite tedavisi gören 80 kadında foliküler sıvıda D vitamini düzeyi ile infertilite tedavisinin sonuçları arasındaki ilişkiyi inceledikleri çalışmada, gebe kadınlarda foliküler sıvıdaki D vitamini düzeyinin, gebe olmayan kadınlara göre anlamlı oranda yüksek olduğunu saptamıştır. Aleyasin ve ark. (109) foliküler sıvıdaki D vitamini ile yardımcı üreme tekniği (YÜT) uygulaması sonuçları arasındaki ilişkiyi inceledikleri çalışmada, gebe olan kadınlarla gebe olmayan kadınların foliküler sıvı D vitamini düzeyleri arasında fark saptamamıştır. Aynı çalışmada foliküler sıvıdaki D vitamini düzeyinin artmasıyla, fertilizasyon oranında anlamlı azalma bulunurken, implantasyon oranında değişiklik olmadığı bulunmuştur.

D vitamini düzeyi ve fertilityle ilişkisi ırklara göre de farklılıklar göstermektedir. IVF tedavisi gören 188 kadın ile yapılan araştırmada çalışma grubundaki Kafkas ve Asya ırklarında D vitamini düzeyinin önemli oranda yüksek olduğu, Kafkas ırkında D vitamini artışı gebelik oranıyla ilişkili bulunurken, Asya ırkında ters bir ilişki olduğu gözlenmiştir (110).

Açıklanamayan infertilite olgularında D vitamininin rolünün değerlendirildiği çalışmalar incelendiğinde bugüne kadar sadece bir çalışma olduğu göze çarpmaktadır. Butts ve ark.'nın (111) yürüttüğü bu çalışmada

infertilite tedavisi gören açıklanamayan infertilite olgularında D vitamini eksikliğiyle tedavi sonucunda elde edilen canlı doğum arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığını saptanmıştır.

Bugüne kadar açıklanamayan infertilite olgularında eşlerin serum ve gonadal sıvı D vitamini düzeylerinin birlikte değerlendirildiği ve yardımcı üreme yöntemleri ile amaçlanan gebelik başarısındaki etkisinin birlikte incelendiği bir çalışma bildirilmemiştir. Bunun yanı sıra gonadal sıvılarda VDR düzeyinin ölçüldüğü ve D vitamini düzeyi ile birlikte değerlendirildiği bir çalışmaya da rastlanmamaktadır.

Bizim çalışmamızda her iki eşin serum ve gonadal sıvılarındaki D vitamini düzeylerinin birlikte ve ayrı olarak fertilitiyi etkileyip etkilemediğinin araştırması ve buna ek olarak eşlerde gonadal sıvı VDR düzeylerinin infertilitede etkili olup olmadığının değerlendirmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

1. Gereç

1.1. Olgular

Bu çalışma 1.06.2016 - 31.10.2018 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi'ne başvurular içerisinden açıklanamayan infertilite tanısı alarak ICSI yöntemi ile bebek sahibi olmak üzere tedaviye alınan çiftlerle gerçekleştirildi. Çalışmaya 76 çift katıldı.

Çalışma, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 10 Mayıs 2016 tarih ve 2016-9/ 20 karar ile onaylandı. Tüm katılımcılar araştırma ile ilgili olarak sözel olarak bilgilendirildi. Katılımcıların Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nca onaylanmış olan, "Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu" ile imzalı onamları alındı.

Servikal- uterin faktör değerlendirilmesinde histerosalpingografi ile patoloji izlenmeyen, tubal patensi değerlendirilmesinde histerosalpingografi ile tubal geçiş izlenen, over rezervi değerlendirilmesinde AMH düzeyi $>1,3$ ng/mL, FSH düzeyi <10 IU/mL, antral folikül sayısı >6 olarak belirlenip normal over rezervine sahip olduğu kabul edilen, ovulasyonun değerlendirilmesinde 21. gün progesteron düzeyi >3 ng/mL olan kadın eşler ve erkek faktörü değerlendirilmesinde spermioqram ile DSÖ kriterlerine göre sperm sayı ve motilitesi normal sınırlarda olan erkek eşler, açıklanamayan infertilite olgusu olarak kabul edildi.

Kontrollü ovaryan stimülasyon programına alınan 76 infertil kadına, özelliklerine uygun olarak rekombinant veya üriner FSH veya LH kombinasyonu uygulandı. Hasta özelliklerine göre luteal baskılama GnRH antagonistleriyle yapıldı. Folikülometri 2- 3 günlük aralıklarla ve transvajinal ultrasonografi ile gerçekleştirildi. Folikül çapı en az 3 folikülde 16-18 mm'ye ulaştığında oosit matürasyonu için rekombinant hCG uygulandı. Son matürasyonun tetiklemesini takiben 34-36 saat sonra genel anestezi altında 18 gauge iğne ile folikül aspirasyonu (OPU) gerçekleştirildi. Folikül

aspirasyonu 110-120 mmHg basınç ile gerçekleştirildi ve 14 mL'lik steril cam tüplere alınan folikül sıvısı embriyoloji laboratuvarında stereomikroskop altında değerlendirildi. Folikül sıvısını ve oosit-kumulus kompleksini (OCC) içeren aspirattan OCC pipetle ayrıldı. OPU işlemi tamamlandıktan sonra toplanan OCC'leri üzeri parafin yağ ile kaplı önceden gazlanarak pH dengesi sağlanmış fertilizasyon medyumuna içeren kültür kaplarına taşınarak, 2-4 saat 37°C'de, %98 nem, %5 O₂ ve %7 CO₂ içeren inkübatör ortamında bekletildi. İnkübasyonun ardından kumulus ve korona radiata hücrelerinin oositten uzaklaştırılması amacıyla enzimatik ve mekanik denudasyon işlemi gerçekleştirildi. Denudasyon sonrasında tüm oositlerin inverted mikroskop altında nükleer maturasyon aşamaları tayini yapıldı ve germinal vezikülün silinmesinin gerçekleşip, 1. kutup cisimciğinin atıldığı oositler sekonder oosit (metafaz II) olarak kaydedilerek, ICSI uygulamasına alındı.

ICSI sonrası oositler, içerisinde 1 gün önceden hazırlanmış üzeri parafin yağ ile kaplı erken dönem (klivaj) embriyo kültür medyumuna bulunan kültür kapları içerisinde %98 nem, %5 O₂ ve %7 CO₂ içeren inkübatör ortamında 18 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından oositler inverted mikroskop altında değerlendirilerek fertilizasyon değerlendirmesi yapıldı. Erkek ve dişi pronükleus gelişimi görülmesi fertilizasyon pozitif olarak kaydedildi ve embriyo kültür sürecine devam edildi. Embriyo kültürü blastosist gelişim sürecine kadar gerçekleştirildi (5+2 gün). ICSI sonrası ve 5. gün (blastosist aşamasında embriyo) embriyo gelişimi ve kalitesi inverted mikroskop altında değerlendirildi ve kaydedildi. OPU sonrası 5. gün matürasyon ve morfolojisine göre en iyi kalitede olan 1 veya 2 embriyonun transferi gerçekleştirildi.

ICSI sonrası 16-18. saatte pronükleusların sayısı, lokalizasyonu, büyüklüğü, birbirine göre pozisyonları, nükleolar prekürsör cisimlerin sayısı, yerleşimi ve çevresindeki ooplazmanın morfolojik özellikleri değerlendirildi. Erkek ve dişi pronükleusun görülmesi başarılı fertilizasyon olarak kabul edildi. Embriyo transferi sonrası 12. gün bakılan β -hCG'nin >5 IU/L olması gebelik (+) olarak kabul edildi.

1.2. Biyokimyasal analizler için örnek toplanması

Kadınlardan folikül sıvısı ultrasonografi eşliğinde, anestezi altında, transvajinal yolla elde edildi. Alınan folikül sıvısı 3000 x rpm' de 10 dakika santrifüj edildikten sonra porsiyonlara bölündü. Çalışılincaya kadar -80°C'de depolandı.

Erkeklerden mastürbasyon yolu ile steril kaplar içerisine ejakulat örneği kadınlara OPU yapılan günde alındı. Semen örnekleri likefaksiyonun gerçekleşmesi için 37°C'deki inkübatör içinde 30 dk bekletildi. 3000 x rpm' de 10 dakika santrifüj edildikten sonra porsiyonlara bölündü. Çalışılincaya kadar -80°C'de depolandı.

Serumda D vitamini değerlendirilmesi amacıyla OPU yapılan gün kadın ve erkek olgulardan antekübital venden jelli kuru tüpe kan örnekleri alındı. Alınan örnekler 3000 x rpm' de 10 dakika santrifüj edildikten sonra porsiyonlara bölündü. Porsiyonlanan serum örnekleri çalışılincaya kadar -80°C'de depolandı.

AMH ölçümü, kadın olguların menstrual sikluslarının 2-3. gününde yapıldı. Oosit matürasyonu için hCG uygulanan gün kadın olguların serum estradiol, progesteron, FSH ölçümleri yapıldı.

1.3. Biyokimyasal analizlerde kullanılan cihazlar

1- LC-MS-MS sistemi, "Zivak Tandem Gold" (Türkiye)

2- LC otomatik numune hazırlama ve enjeksiyon sistemi, "Zivak MultiTasker" (Türkiye)

3- Elisa okuyucu, "Analytic Jena AG" (Almanya)

4- Immunassay analizörü, "Architect i2000SR" (A.B.D)

5- Immunassay analizörü, "Access 2" (A.B.D)

6- Santrifüj, "Hettich EBA 20" (Almanya)

7- Karıştırıcı (vorteks), "Heidolph" (Almanya)

8- Derin dondurucu (-80 °C), "Sanyo" (Japonya)

9- Otomatik pipet (20-200 µL), "Eppendorf" (Almanya)

10- Otomatik pipet (100-1000 µL), "Eppendorf" (Almanya)

11- Otomatik pipet (200-1000 µL), "Eppendorf" (Almanya)

1.4. Biyokimyasal analizlerde kullanılan ticari kitle

- 1- 25-Hidroksivitamin D2-D3 Serum LCMS-MS APCI analiz kiti (Zivak Technologies, Türkiye)
- 2- Human Vitamin D Reseptör ELISA kiti (Cusabio, Çin)
- 3- Architect 25-OH Vitamin D kiti (Abbott, A.B.D)
- 4- Access Anti-Müllerian Hormon kiti (Beckman Coulter, A.B.D)
- 5- Architect Estradiol kiti (Abbott, A.B.D)
- 6- Architect Progesterone kiti (Abbott, A.B.D)
- 7- Architect Folikül Stimülan Hormon kiti (Abbott, A.B.D)

2. Biyokimyasal analizlerde kullanılan yöntemler

2.1. Serum 25(OH)D vitamini ölçümü

Kadın ve erkek eşlerde serum 25(OH) D vitamini düzeyleri Zivak 25-hidroksivitamin D ticari kitleleri kullanılarak sıvı kromatografi-kütle-kütle spektrometresi (LC-MS/MS) yöntemi ile Zivak Tandemgold cihazında ölçüldü.

LC-MS/MS tekniğinde ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi cihazı sayesinde fizikokimyasal özelliklerine göre ayrılan örnek moleküller kütle dedektörü ile analiz edilmektedir. Kütle spektrometreleri molekülleri iyonizasyon işlemi ile uyararak yüklü iyonize moleküller haline dönüştürürler. Birinci kuadrupol filtrede m/z (kütle/yük) oranına göre ayrılan moleküller collision gaz adı verilen yüksek saflıkta özel bir gaz ile (Azot) parçalanmaya tabi tutulmaktadır. İkinci kuadrupol filtrede parçalanma sonucu oluşan iyonların (daughter veya product ion) üzerinden teşhis ve miktar tayini yapılmaktadır.

Numunelerden 25-hidroksivitamin D metabolitlerinin ekstraksiyonu serumlar deproteinize edildikten sonra organik ekstraksiyon çözeltisi kullanılarak yapıldı. Ayırım Zivak 25(OH)D Vitamini yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) kolonunda yapıldı ve LC-MS/MS sistemi ile ölçüldü. Kalibratörlerle doğrusal bir kalibrasyon eğrisi oluşturulduktan sonra sonuçlar, pik alanları ile internal standart alanı arasındaki oranla ng/mL cinsinden hesaplandı.

2.2. Folikül sıvısı ve semen 25(OH)D vitamini ölçümü

Folikül sıvısı ve semen 25(OH)D vitamini düzeyleri, Architect i2000SR analizöründe Abbott marka 25(OH)D vitamini kiti kullanılarak kemilüminesan mikropartikül immünolojik tetkik (CMIA) yöntemi ile ölçüldü.

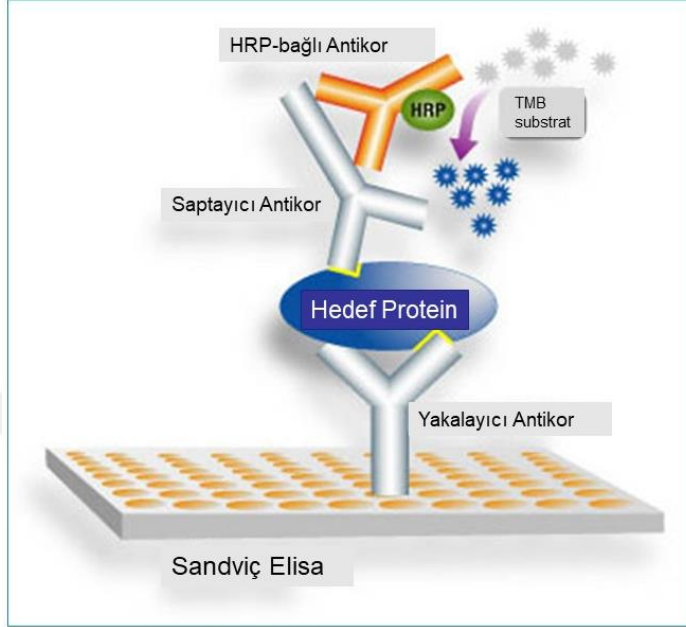
Architect 25(OH)D vitamini tetkiki tek adımlı ve yarışmalı bir immünotetkiktir. Numune, tetkik dilüenti ve paramanyetik anti-vitamin D kaplı mikropartiküller ile birleştirilir. Numunede mevcut olan 25(OH)D vitamini, vitamin D bağlama proteininden ayrılarak anti-vitamin D kaplı mikropartiküllere bağlanır ve bir antijen-antikör kompleksi oluşturulur. İnkübasyondan sonra, reaksiyon karışımına akridinyum işaretli vitamin D içeren bir konjugat eklenir ve konjugat anti-vitamin D kaplı mikropartiküllerin boş bağlanma bölgelerine bağlanır. İnkübasyon ve yıkamadan sonra, reaksiyon karışımına Pre-Trigger ve Trigger çözeltileri ilave edilir. Ortaya çıkan kemilüminesan reaksiyon, bağlı ışık birimleri (RLU- relative light unit) olarak ölçülür. Numunedeki 25(OH)D vitamini miktarı ile Architect iSystem optik sistemi tarafından saptanan RLU'lar arasında bir ilişki vardır. Sonuçlar, önceden belirlenen kalibrasyon eğrisine göre otomatik olarak ng/mL cinsinden hesaplanır.

2.3. Vitamin D reseptörü ölçümü

Folikül sıvısı ve semen vitamin D reseptör düzeyleri, Cusabio human vitamin D reseptör ELISA kiti ile kantitatif sandviç enzim immünoassay prensibiyle ölçüldü.

Bu yöntemde kit içinde hazır bulunan liyofilize haldeki standart çözülerek, dilüenti ile 400 pg/mL, 200 pg/mL, 100 pg/mL, 50 pg/mL, 25 pg/mL, 12,5 pg/mL ve 6,25 pg/mL konsantrasyonlarında standartlar elde edilir. Standartlar ve numuneler, mikroplatedeki VDR için spesifik antikörle kaplanmış kuyucuklara pipetlenir. VDR varsa, kuyucuktaki antikora bağlanır. Bağlanmayan kısım yıkanıp uzaklaştırıldıktan sonra, VDR için spesifik olan biyotin-konjuge antikör, kuyucuklara eklenir. Yıkama işleminden sonra, avidin konjuge Horseradish Peroxidase (HRP) kuyucuklara eklenir. Avidin enzim reaktifine bağlanmayan kısmı çıkarmak için yıkamayı takiben tetrametilbenzidin (TMB) substrat solüsyonu kuyucuklara ilave edilir ve ilk

adımda bağlanan VDR ile orantılı renklenme olur (Şekil-6). Sonra renklenme stop solüsyonuyla durdurulur. Rengin yoğunluğu ölçülür.



Şekil-6: Sandviç ELISA yönteminin prensibi. **HRP:** Horseradish peroxidase, **TMB:** Tetrametilbenzidin (112).

Kit prosedürüne uygun olarak çalışılan örneklerin absorbansları "Analytic Jena AG" cihazında 450 nanometre dalga boyunda ölçüldü. Standart eğri grafiği yardımıyla elde edilen formül ile tüm absorbansların karşılık geldiği pg/mL cinsinden konsantrasyonlar hesaplandı.

2.4. Serum anti müllerian hormon ölçümü

Serum AMH düzeyleri ölçümü Access immunassay analizöründe Beckman Coulter marka AMH kiti kullanılarak paramanyetik partiküllü kemilüminesan immünoassay ile ölçüldü.

Access AMH testi, eşzamanlı tek adımlı immünoenzimatik (sandviç) testtir. Numune, MES tamponu içinde alkalın fosfatazla konjuge bir fare monoklonal anti-AMH antikoru, proteinli TRIS tamponlu salin ve TRIS tamponunda fare monoklonal anti-AMH antikoru ile kaplanmış paramanyetik parçacıklar ile birlikte tepkime kabına eklenir. İnkübasyondan sonra tepkime kabında katı faza bağlı olmayanlar yıkanıp temizlenirken, bağlı olan materyaller manyetik alanda tutulur. Daha sonra kemilüminesans substrat

(Lumi-Phos 530) kaba eklenir ve bu tepkime ile üretilen ışık bir lüminometre ile ölçülür. Işık üretimi, numunedeki AMH konsantrasyonuyla doğru orantılıdır. Numunedeki analit miktarı, çok noktalı bir kalibrasyon eğrisinden ng/mL cinsinden hesaplanır.

2.5. Serum estradiol ölçümü

Serum estradiol düzeyleri, Architect i2000SR analizöründe Abbott marka estradiol kiti kullanılarak CMIA yöntemi ile ölçüldü.

Architect estradiol tetkiki tek adımlı bir immünotetkiktir. Numune, numune dilüenti, tetkik dilüenti ve anti-estradiol (tavşan, monoklonal) kaplı paramanyetik mikropartiküller birleştirilir. Numunede bulunan estradiol, anti-estradiol kaplı mikropartiküllere bağlanır. İnkübasyondan sonra, estradiol akridinyum işaretli konjugat eklenerek, bir reaksiyon karışımı elde edilir. İnkübasyon ve yıkamadan sonra, Pre-trigger ve Trigger çözeltileri reaksiyon karışımına ilave edilir. Ortaya çıkan kemilüminesan reaksiyon, RLU'lar olarak ölçülür. Numunedeki estradiol miktarı ile Architect iSystem optik sistemi tarafından saptanan RLU'lar arasındaki ters ilişki yoluyla sonuçlar ng/L cinsinden hesaplanır.

2.6. Serum progesteron ölçümü

Serum progesteron düzeyleri, Architect i2000SR analizöründe Abbott marka progesteron kiti kullanılarak CMIA yöntemi ile ölçüldü.

Architect progesteron tetkiki tek adımlı bir immünolojik tetkiktir. Reaksiyon karışımını elde etmek için, numune, anti-floresan (fare, monoklonal) floresan-progesteron kompleksi kaplı paramanyetik mikropartiküller ve antiprogesteron (koyun, monoklonal) akridinyum işaretli konjugat birleştirilir. Numunedeki mevcut progesteron, anti-progesteron (koyun, monoklonal) akridinyum işaretli konjugata tutunup antikor-antijen-antikor kompleksleri oluşturmak için, anti-floresan (fare, monoklonal) floresan-progesteron kompleksi kaplı mikropartiküller ile rekabete girer. Yıkamadan sonra, Pre-trigger ve Trigger çözeltileri reaksiyon karışımına ilave edilir. Ortaya çıkan kemilüminesan reaksiyon, RLU'lar olarak ölçülür. Numunedeki progesteron miktarı ile Architect iSystem optik sistemi tarafından saptanan RLU'lar arasında ters bir ilişki vardır. Sonuçlar µg/L cinsinden verilir.

2.7. Serum folikül stimulan hormon ölçümü

Serum FSH düzeyleri, Architect i2000SR analizöründe Abbott marka FSH kiti kullanılarak CMIA yöntemi ile ölçüldü.

Architect FSH tetkiki iki adımlı bir immünotetkiktir. Numune ve anti- β FSH kaplı paramanyetik mikropartiküller birleştirilir. Numunede bulunan FSH, anti- β FSH kaplı mikropartiküllere bağlanır. Yıkamanın ardından, anti- α FSH akridinyum işaretli konjugat eklenerek, bir reaksiyon karışımı elde edilir. Başka bir yıkama döngüsünün ardından, reaksiyon karışımına Pre-Trigger ve Trigger çözeltileri ilave edilir. Ortaya çıkan kemilüminesan reaksiyon, RLU'lar olarak ölçülür. Numunedeki FSH miktarı ile Architect iSystem optik sistemi tarafından saptanan RLU'lar arasındaki doğru ilişki yoluyla sonuçlar IU/L cinsinden hesaplanır.

2.8. Serum beta-hCG ölçümü

Serum β -hCG düzeyleri, Architect i2000SR analizöründe Abbott marka total β -hCG kiti kullanılarak CMIA yöntemi ile ölçüldü.

Architect total β -hCG tetkiki iki adımlı bir immünotetkiktir. Numune ve anti- β -hCG kaplı paramanyetik mikropartiküller birleştirilir. Numunede bulunan β -hCG, anti β -hCG kaplı mikropartiküllere bağlanır. Yıkamanın ardından, bir reaksiyon karışımı elde etmek için anti- β -hCG akridinyum işaretli konjugat eklenir. Başka bir yıkama döngüsünün ardından, reaksiyon karışımına Pre-Trigger ve Trigger çözeltileri ilave edilir. Ortaya çıkan kemilüminesan reaksiyon, RLU'lar olarak ölçülür. Numunedeki β -hCG miktarı ile Architect iSystem optik sistemi tarafından saptanan RLU'lar arasındaki doğru ilişki yoluyla sonuçlar IU/L cinsinden ifade edilir.

3. İstatistiksel analiz

Verilerin istatistiksel analizi SPSS23.0 istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Normal dağılım gösteren veriler için iki grup karşılaştırmalarında t-testi uygulandı. Değişkenler arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon katsayısı ile incelendi. Kategorik verinin incelenmesinde Pearson Ki-kare testi ve Fisher'in kesin Ki-kare testi kullanıldı. Parametrelerin birlikte

etkileri lojistik regresyon incelemesiyle yapıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak belirlendi.



BULGULAR

1. Olguların özellikleri

Çalışmaya alınan sebebi açıklanamayan infertilite olgularından ICSI uygulaması sonucu gebelik gelişen ve gelişmeyen çiftlerin özellikleri tablo-5'te gösterilmiştir.

Tablo-5: Gebelik gelişen (+) ve gelişmeyen (-) çiftlerin özellikleri

	Gebelik (+) (Ortalama±SS)	Gebelik (-) (Ortalama±SS)	p
n	25 (%33)	51 (%67)	
Kadın Yaş	30,16 ± 4,23	31,55 ± 3,6	0,313
Erkek Yaş	36,68 ± 5,54	34,73 ± 4,28	0,133
Kadın VKİ	25,67 ± 4,38	25,70 ± 6,12	0,097
Erkek VKİ	27,76 ± 5,21	25,76 ± 3,58	0,333
Sigara İçen Kadın Eş Sayısı	5 (%20)*	17 (%33)*	0,229
Sigara İçen Erkek Eş Sayısı	13 (%52)*	25 (%49)*	0,807
İnfertilite Süresi (yıl)	7,49 ± 3,53	6,80 ± 2,83	0,129

n: hasta sayısı, SS: Standart sapma, VKİ: Vücut kitle indeksi, *: Grup içindeki yüzde oran

İşlem sonucunda gebelik gelişen ve gelişmeyen iki gruptaki çiftlerdeki hem kadın hem de erkek eşlerin yaş, vücut kitle indeksi ve sigara tüketim

sıklığı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. İki grup arasında infertilite süresi bakımından da istatistiksel olarak fark bulunmadı.

2. Gebelik (+) ve (-) gruplarda serum ve gonadal sıvı 25(OH)D vitamini ve gonadal sıvı vitamin D reseptörü düzeylerinin karşılaştırılması

Tüm olguların serum ve gonadal sıvı 25(OH)D vitamini ve gonadal sıvı vitamin D reseptörü düzeyleri ölçümü yapıldı. Elde edilen verilerin ortalamaları ve standart sapmaları tablo-6'da verilmiştir.

Tablo-6: Kadın ve erkek eşlerde serum ve gonadal sıvı 25(OH)D vitamini ve gonadal sıvı vitamin D reseptörü düzeyleri

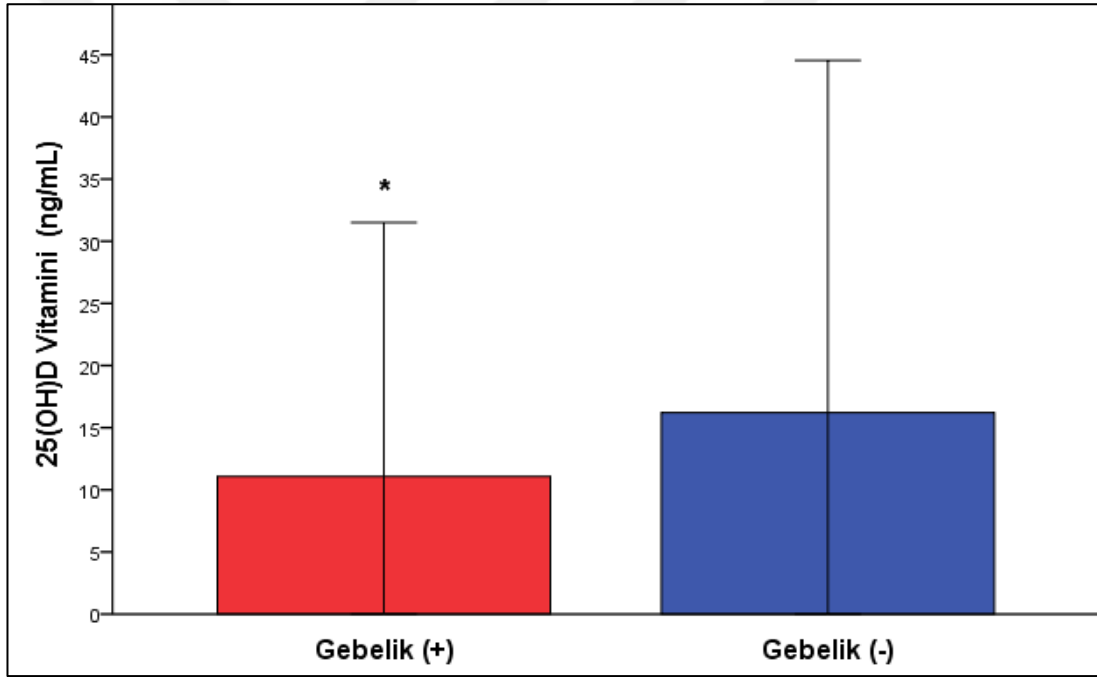
		Gebelik (+) (Ortalama±SS) (n=25)	Gebelik (-) (Ortalama±SS) (n=51)	p
Kadın	Serum 25(OH)D Vitamini (ng/mL)	11,08 ± 10,22	16,21 ± 14,17	0,033
	Folikül Sıvısı 25(OH)D Vitamini (ng/mL)	7,4 ± 6,18	10,33 ± 8,48	0,044
	Folikül Sıvısı VDR (pg/mL)	6,52 ± 18,72	2,07 ± 5,44	0,002
Erkek	Serum 25(OH)D Vitamini (ng/mL)	16,33 ± 6,77	22,39 ± 15,77	0,010
	Semen 25(OH)D Vitamini (ng/mL)	0,91 ± 0,93	1,02 ± 1,22	0,146
	Semen VDR (pg/mL)	3,92 ± 10,34	3,79 ± 8,19	0,553

n: hasta sayısı, **SS:** Standart sapma **VDR:** Vitamin D reseptörü

Her parametrenin gebelik gelişen ve gelişmeyen gruptaki ortalama değerlerinin bağımsız örneklem t test ile karşılaştırılması şekil-7, 8, 9, 10, 11, 12’de gösterilmiştir.

2.1. Kadın eşlerde serum 25(OH)D vitamini düzeyleri

Kadın eşlerde serum 25(OH)D vitamini düzeylerinin gebelik gelişen ve gelişmeyen gruptaki ortalamaları şekil-7’de görülmektedir. Serum 25(OH)D vitamini düzeyi düşük olan gebelik (+) grubun ortalaması $11,08 \pm 10,22$ ng/mL iken gebelik (-) grubun ortalaması $16,21 \pm 14,17$ ng/mL olarak bulundu. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,033$).

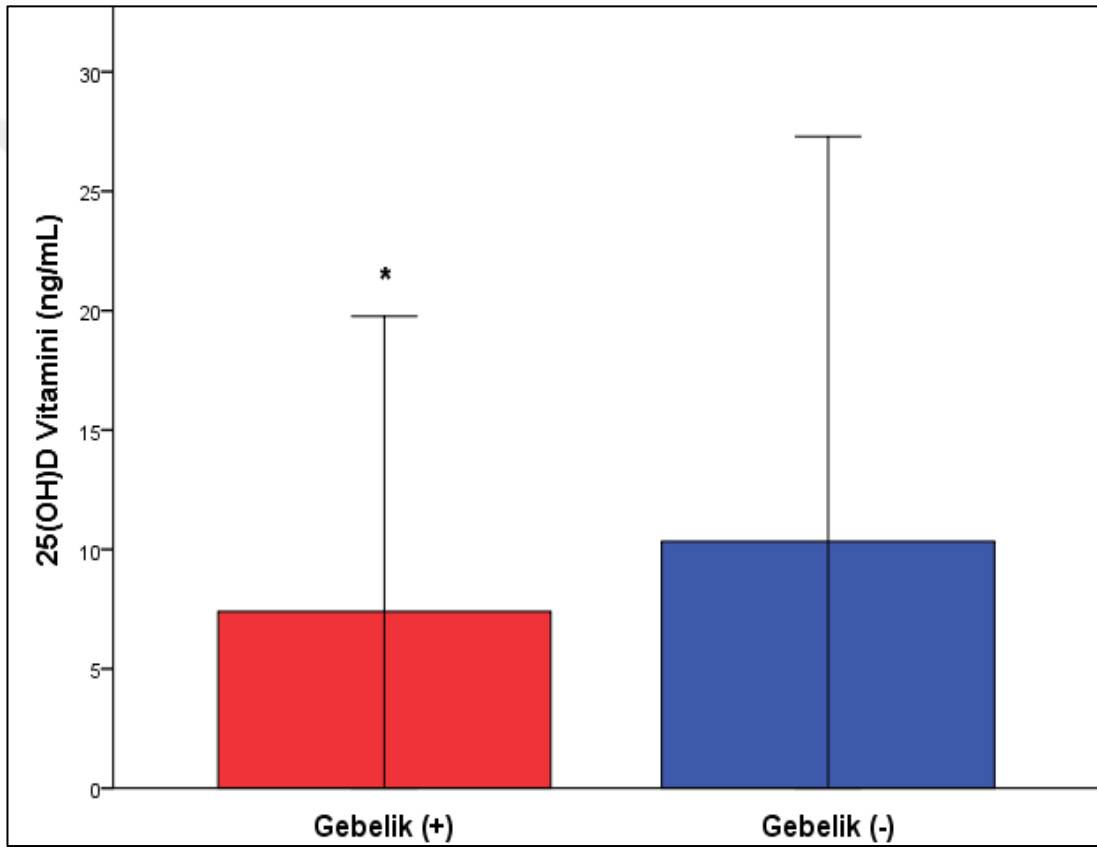


Şekil-7: Kadın eşlerde serum 25(OH)D vitamini düzeylerinin gebelik gelişen (n=25) ve gelişmeyen (n=51) gruplar arasındaki karşılaştırması

* Gebelik elde edilmeyen gruba göre anlamlı farklı, $p=0,033$

2.2. Kadın eşlerde folikül sıvısı 25(OH)D vitamini düzeyleri

Şekil-8'de kadın eşlerde folikül sıvısı 25(OH)D vitamini düzeylerinin gebelik gelişen ve gelişmeyen gruplardaki karşılaştırması görülmektedir. Folikül sıvısı 25(OH)D vitamini düzeyi düşük olan gebelik (+) grubun ortalaması $7,4 \pm 6,18$ ng/mL iken gebelik (-) grubun ortalaması $10,33 \pm 8,48$ ng/mL olarak bulundu. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,044$).

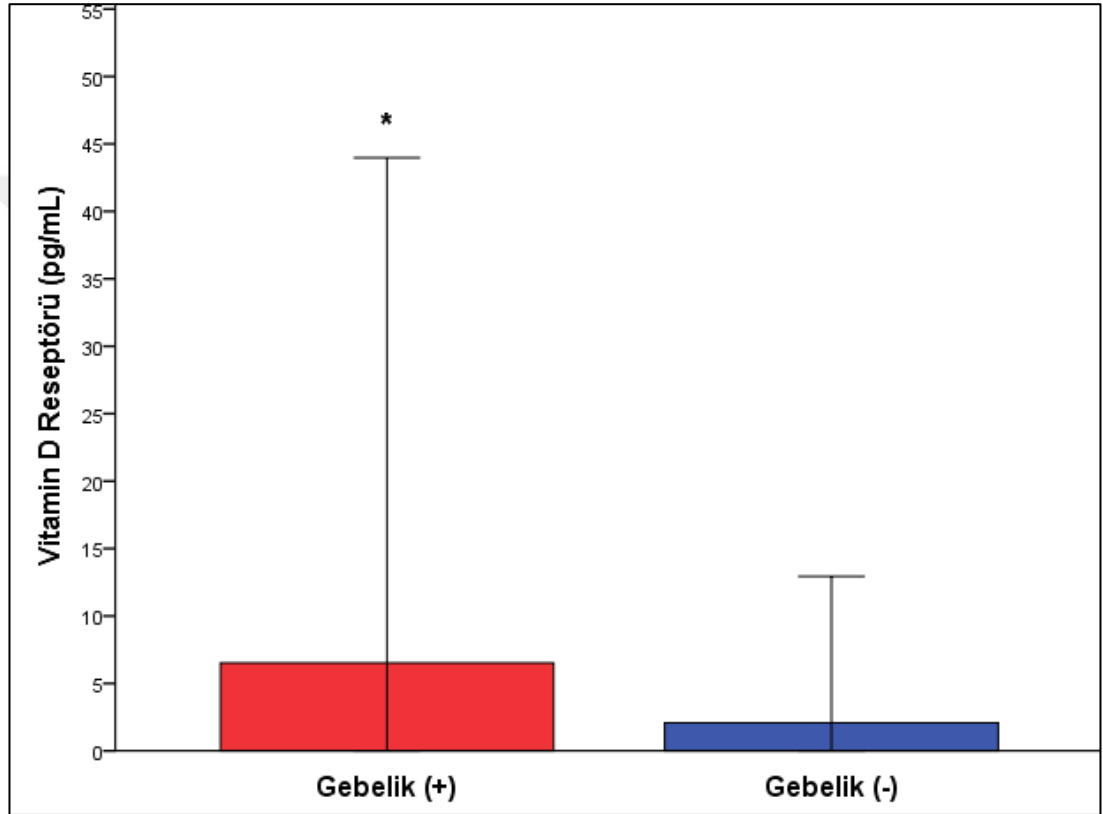


Şekil-8: Kadın eşlerde folikül sıvısı 25(OH)D vitamini düzeylerinin gebelik gelişen (n=25) ve gelişmeyen (n=51) gruplar arasındaki karşılaştırması.

* Gebelik elde edilmeyen gruba göre anlamlı farklı, $p=0,044$

2.3. Kadın eşlerde folikül sıvısı vitamin D reseptörü düzeyleri

Kadın eşlerde folikül sıvısı VDR düzeylerinin gebelik gelişen ve gelişmeyen gruplardaki karşılaştırması şekil-9'da görülmektedir. Folikül sıvısı VDR düzeyi yüksek olan gebelik (+) grubun ortalaması $6,52 \pm 18,72$ pg/mL iken gebelik (-) grubun ortalaması $2,07 \pm 5,44$ pg/mL olarak bulundu. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,002$).

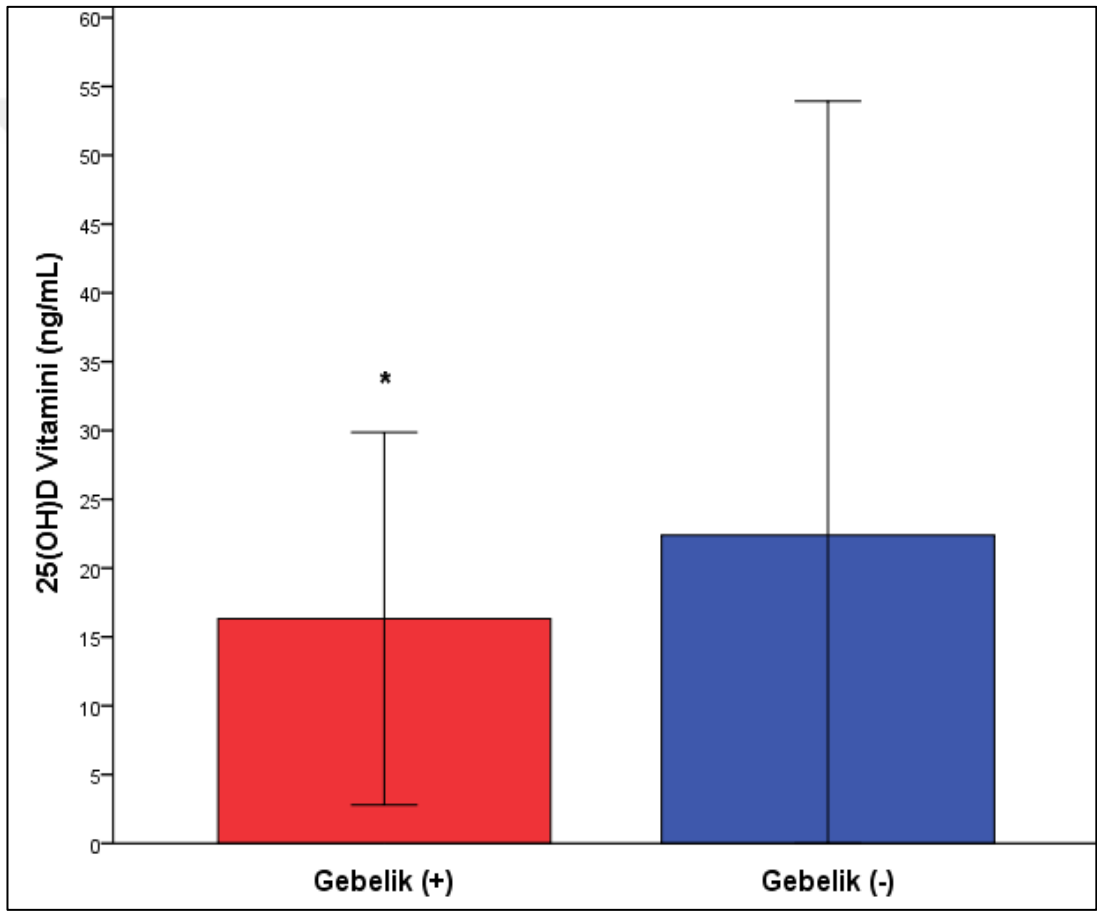


Şekil-9: Kadın eşlerde folikül sıvısı VDR düzeylerinin gebelik gelişen (n=25) ve gelişmeyen (n=51) gruplar arasındaki karşılaştırması.

* Gebelik elde edilmeyen gruba göre anlamlı farklı, $p=0,002$

2.4. Erkek eşlerde serum 25(OH)D vitamini düzeyleri

Şekil-10'da gebelik gelişen ve gelişmeyen gruplarda erkek eşlerde serum 25(OH)D vitamini düzeylerinin karşılaştırması görülmektedir. Serum 25(OH)D vitamini düzeyi düşük olan gebelik (+) gruptaki erkek eşlerin ortalaması $16,33 \pm 6,77$ ng/mL iken gebelik (-) gruptaki erkek eşlerin ortalaması $22,39 \pm 15,77$ ng/mL olarak bulundu. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,010$).

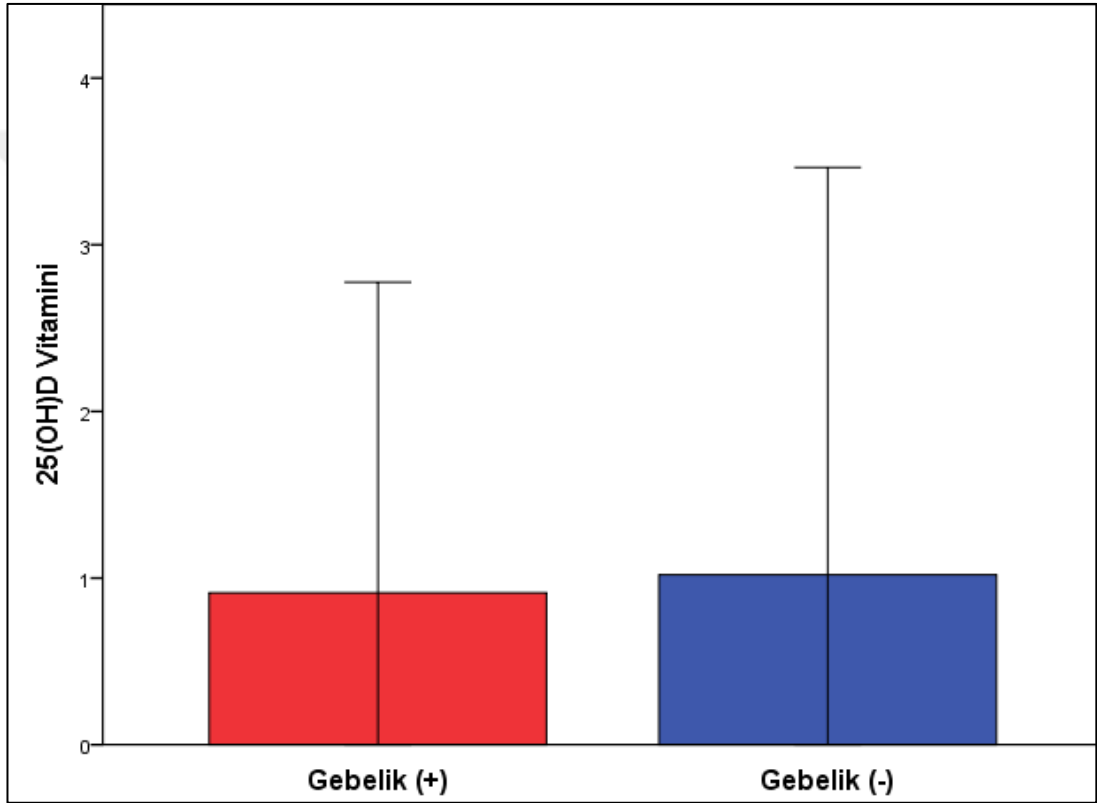


Şekil-10: Erkek eşlerde serum 25(OH)D vitamini düzeylerinin gebelik gelişen (n=25) ve gelişmeyen (n=51) gruplar arasındaki karşılaştırması.

* Gebelik elde edilmeyen gruba göre anlamlı farklı, $p=0,010$

2.5. Erkek eşlerde semen 25(OH)D vitamini düzeyleri

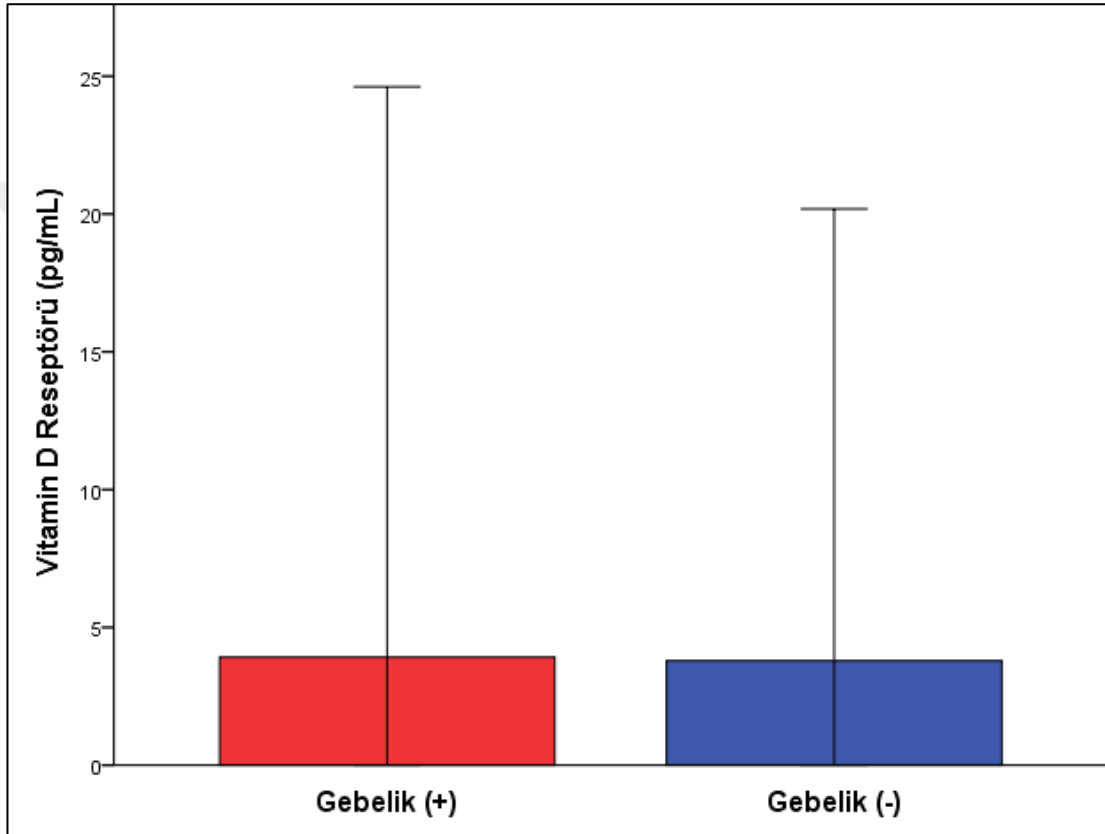
Gebelik gelişen ve gelişmeyen gruplarda erkek eşlerde semen 25(OH)D vitamini düzeylerinin karşılaştırması şekil-11'de görülmektedir. Gebelik (+) gruptaki erkek eşlerin semen 25(OH)D vitamini düzeyi ortalaması $0,91 \pm 0,93$ ng/mL iken gebelik (-) grubun ortalaması $1,02 \pm 1,22$ ng/mL olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,146$).



Şekil-11: Erkek eşlerde semen 25(OH)D vitamini düzeylerinin gebelik gelişen (n=25) ve gelişmeyen (n=51) gruplar arasındaki karşılaştırması.

2.6. Erkek eşlerde semen vitamin D reseptörü düzeyleri

Şekil-12'de gebelik gelişen ve gelişmeyen gruptaki erkek eşlerde semen VDR düzeylerinin karşılaştırması görülmektedir. Ortalama semen VDR düzeyi gebelik (+) grupta $3,92 \pm 10,34$ pg/mL iken gebelik (-) grupta $3,79 \pm 8,19$ pg/mL olup iki grup arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p=0,553$).



Şekil-12: Erkek eşlerde semen VDR düzeylerinin gebelik gelişen (n=25) ve gelişmeyen (n=51) gruplar arasındaki karşılaştırması.

3. Kadın eşlerin serum hormon düzeyleri

Gebelik (+) ve (-) gruplardaki kadın eşlerin serum hormon düzeyleri tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo-7: Kadın eşlerin serum hormon düzeyleri

	Gebelik (+) (Ortalama±SS)	Gebelik (-) (Ortalama±SS)	p
Progesteron (µg/L)	0,77 ± 0,34 (n=20)	0,92 ± 0,58 (n=44)	0,156
Estradiol (ng/L)	3152,50 ± 4388,30 (n=22)	2175,43 ± 1241,17 (n=47)	0,065
FSH (IU/L)	12,1 ± 3,59 (n=17)	13,78 ± 5,12 (n=33)	0,39
AMH (ng/mL)	4,07 ± 2,20 (n=25)	3,24 ± 1,56 (n=51)	0,065

n: hasta sayısı, **SS:** Standart sapma, **FSH:** Folikül stimulan hormon, **AMH:** Anti müllerian hormon

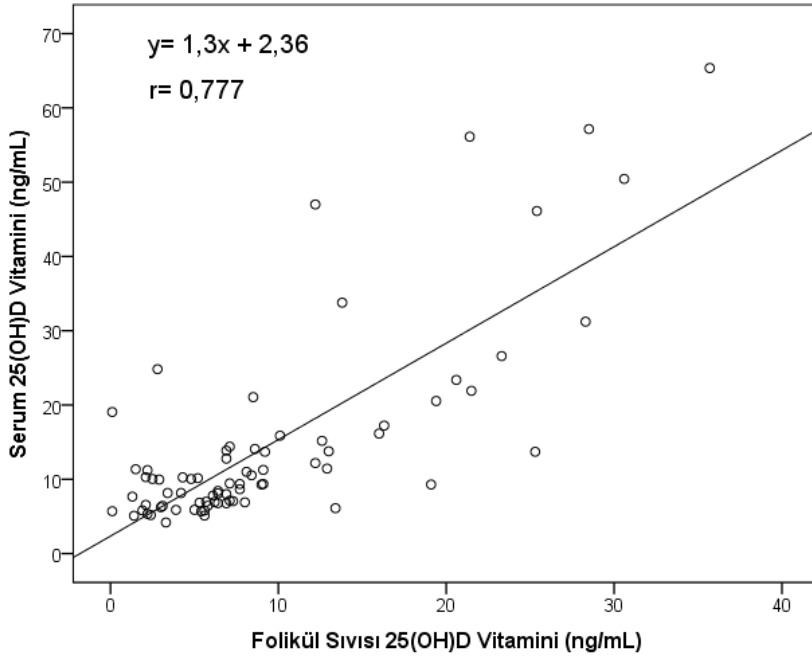
Kadın eşlerde serum progesteron, estradiol, FSH, AMH düzeyleri bakımından gebelik gelişen ve gelişmeyen gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

4. Korelasyon incelemeleri

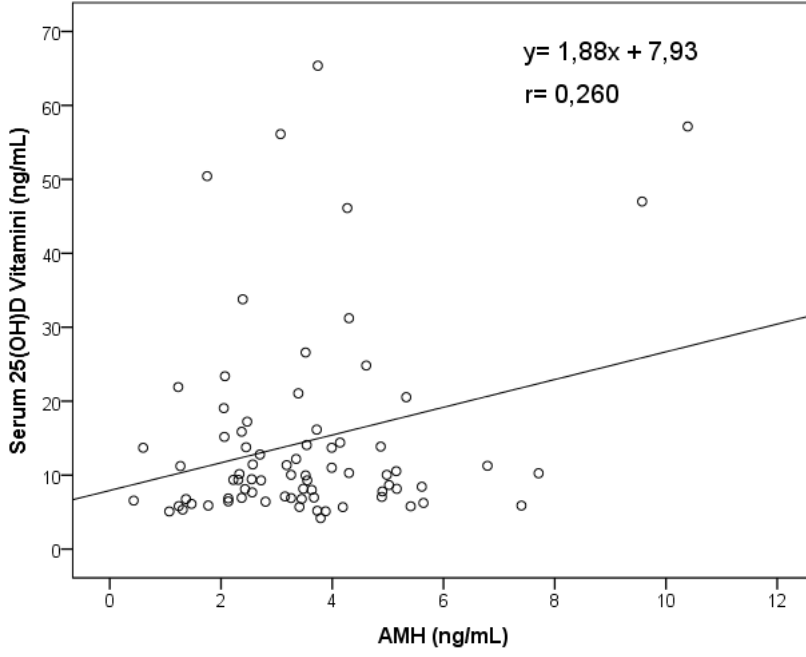
Çalışmada değerlendirilen parametrelerin birbiriyle ilişkisi, olgular hem gebelik sonuçlarına göre gruplandırılmadan hem de gebelik (+) ve gebelik (-) olarak gruplandırılarak incelendi.

4.1. Tüm olguların katıldığı korelasyon değerlendirmeleri

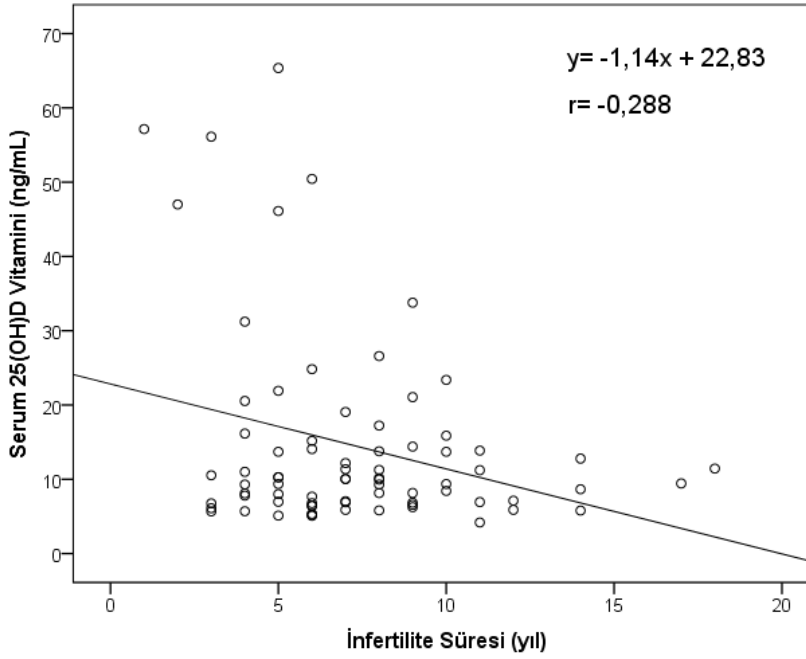
Şekil-13'te kadın eşlerde serum 25(OH)D vitamini ile folikül sıvısı 25(OH)D vitamini arasında pozitif korelasyon ($r=0,777$, $p<0,001$), şekil-14'te kadın eşlerde serum 25(OH)D vitamini ile AMH arasında pozitif korelasyon ($r=0,260$, $p=0,023$) saptandığı görülmektedir. Şekil 15'te kadın eşlerde serum 25(OH)D vitamini ile infertilite süresi ($r=-0,288$, $p=0,012$) arasında ve şekil-16'da kadın eşlerde folikül sıvısı 25(OH)D vitamini ile infertilite süresi ($r=-0,250$, $p=0,029$) arasında negatif korelasyon saptandığı görülmektedir. Ayrıca kadın eşlerde AMH ile infertilite süresi ($r=-0,238$, $p=0,038$) arasında da negatif korelasyon bulunmuştur (Şekil-17).



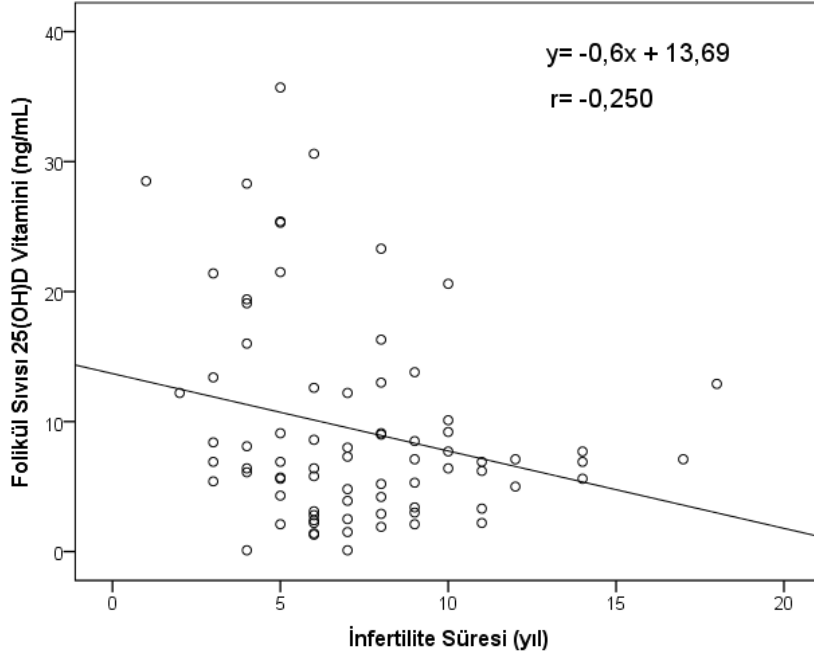
Şekil-13: Tüm olgularda kadın eşlerde serum 25(OH)D vitamini ile folikül sıvısı 25(OH)D vitamini arasındaki ilişki



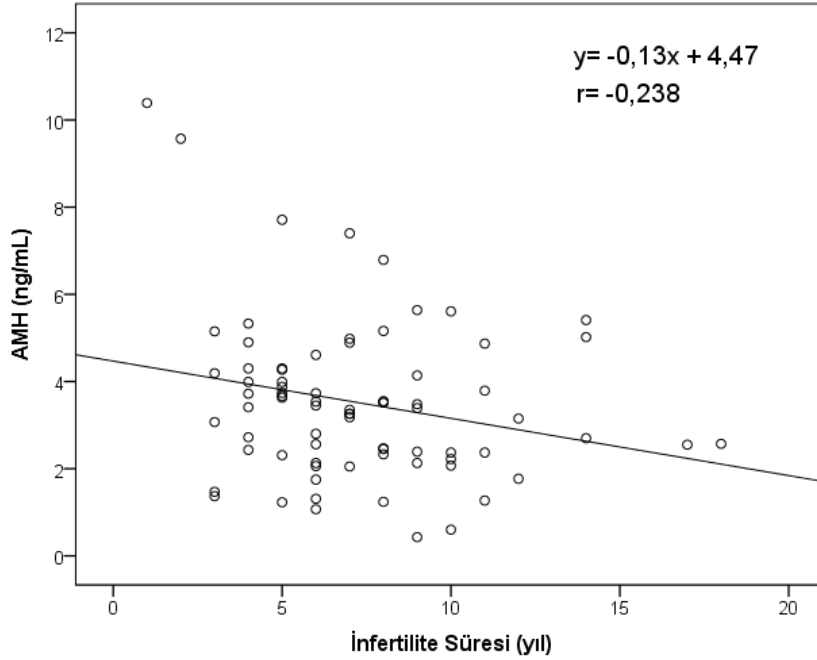
Şekil-14: Tüm olgularda kadın eşlerde serum 25(OH)D vitamini ile AMH arasındaki ilişki



Şekil-15: Tüm olgularda kadın eşlerde serum 25(OH)D vitamini ile infertilite süresi arasındaki ilişki



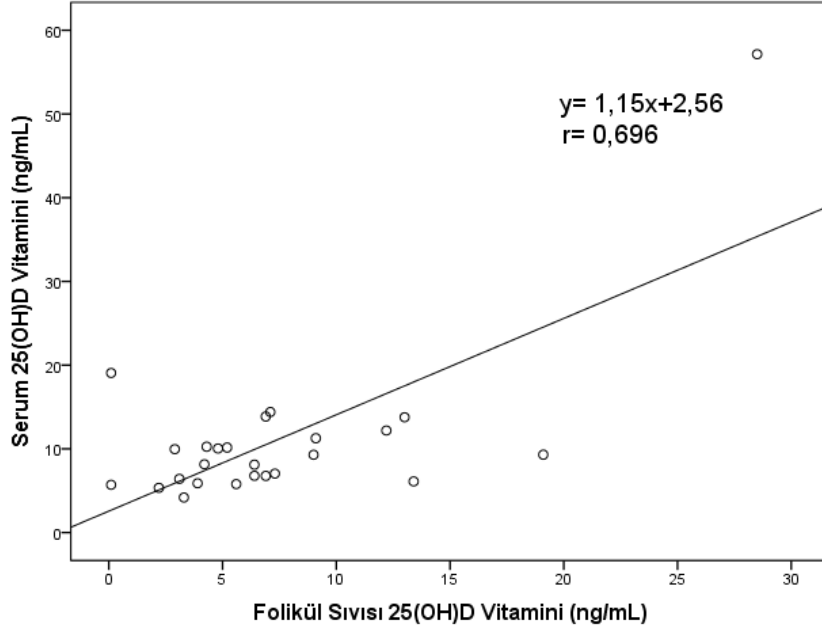
Şekil-16: Tüm olgularda kadın eşlerde folikül sıvısı 25(OH)D vitamini ile infertilite süresi arasındaki ilişki



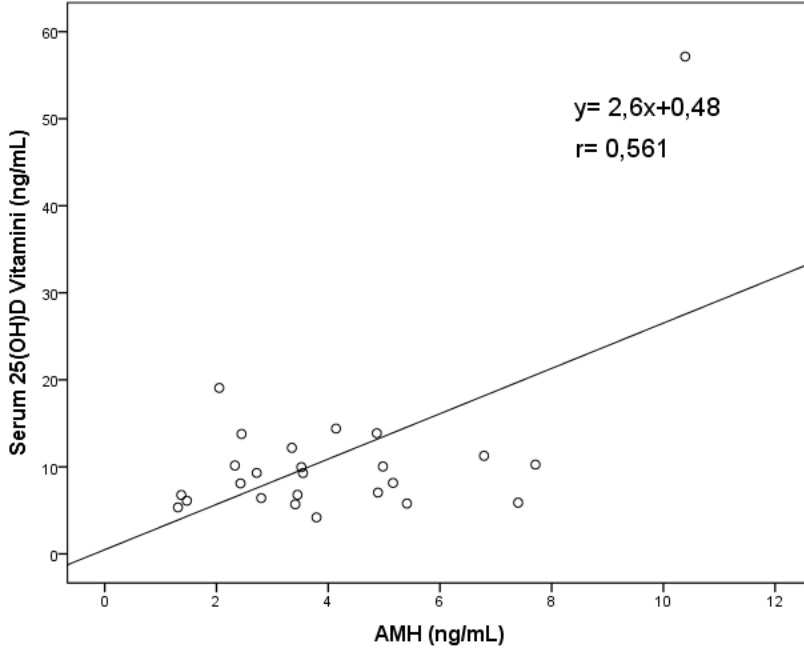
Şekil-17: Tüm olgularda kadın eşlerde AMH ile infertilite süresi arasındaki ilişki

4.1. Gebelik gelişen olgulara ait korelasyon değerlendirmeleri

Gebelik (+) grupta kadın eşlerde serum 25(OH)D vitamini ile folikül sıvısı 25(OH)D vitamini arasında pozitif korelasyon ($r=0,696$, $p< 0,001$) (Şekil-18), kadın eşlerde serum 25(OH)D vitamini ile AMH arasında pozitif korelasyon ($r=0,561$, $p=0,004$) (Şekil-19) saptanmıştır.



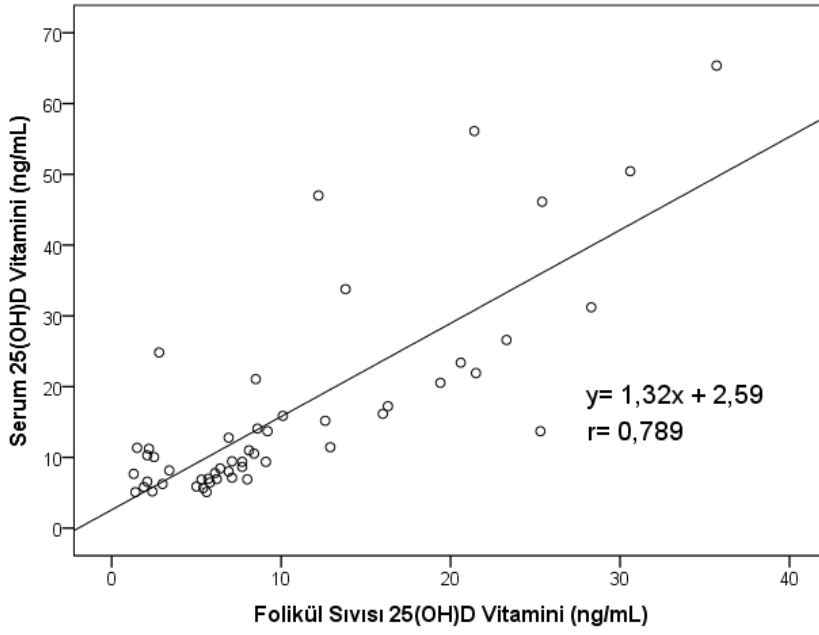
Şekil-18: Gebelik (+) grupta kadın eşlerde serum 25(OH)D vitamini ile folikül sıvısı 25(OH)D vitamini arasındaki ilişki



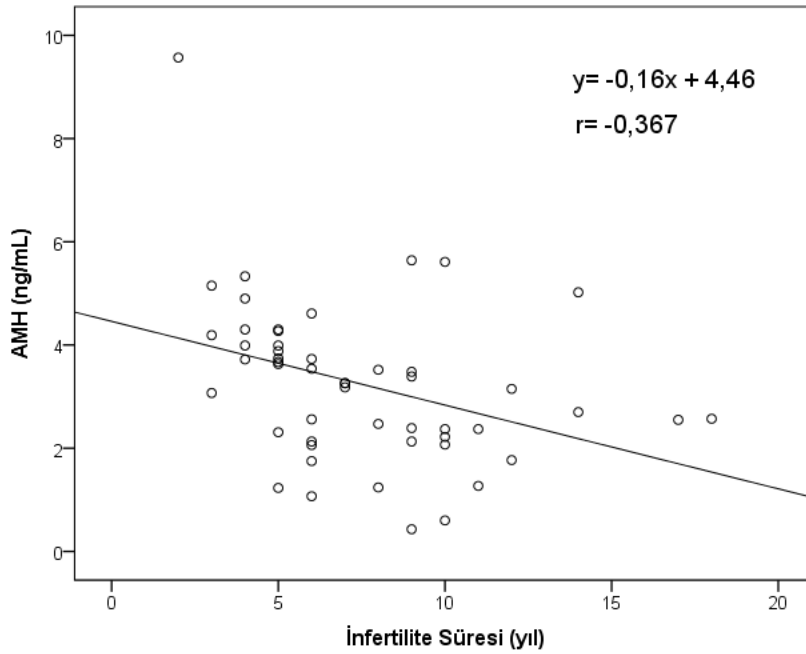
Şekil-19: Gebelik (+) grupta kadın eşlerde serum 25(OH)D vitamini ile AMH arasındaki ilişki

4.2. Gebelik gelişmeyen olgulara ait korelasyon değerlendirmeleri

Şekil-20’de gebelik (-) olgularda kadın eşlerde serum 25(OH)D vitamini ile folikül sıvısı 25(OH)D vitamini ($r=0,789$, $p<0,001$) arasında pozitif, şekil-21’de AMH ile infertilite süresi ($r=-0,367$, $p=0,008$) arasında anlamlı negatif korelasyon saptandığı görülmektedir.



Şekil-20: Gebelik (-) olgularda kadın eşlerde serum 25(OH)D vitamini ile folikül sıvısı 25(OH)D vitamini arasındaki ilişki



Şekil-21: Gebelik (-) olgularda kadın eşlerde AMH ile infertilite süresi arasındaki ilişki

5. Kadın ve erkek eşlerde serum ve gonadal sıvı 25(OH)D ve gonadal sıvı VDR düzeylerinin birlikte değerlendirmesi

Kadın ve erkek eşlerde serum ve gonadal sıvı 25(OH)D ve gonadal sıvı VDR düzeyleri gebelik (+) ve gebelik (-) gruplarda birlikte değerlendirildiğinde gebelik gelişiminde istatistiksel olarak anlamlı bir etkileri olmadığı saptandı (p=0,410)



TARTIŞMA VE SONUÇ

İnfertilite, reproduktif çağda olan çiftlerin yaklaşık %15'inde görülen, herhangi bir doğum kontrol yöntemi kullanmaksızın, en az bir yıl düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebelik elde edilememesi olarak tanımlanır (113). İnfertilite nedeni olarak PKOS, endometriozis, uterin leiomyomları gibi kadına ait nedenler, erkeklerde hipotalamus ve hipofiz hastalıkları, kromozomal bozukluklar, testis hasarlanmaları, varikozel gibi çeşitli faktörler tanımlanmış, bunlar dışlanmasına rağmen infertilite sorunu devam eden çiftlerin yaklaşık %15'ini oluşturan infertilite durumu açıklanamayan infertilite olarak sınıflandırılmıştır (63). Açıklanamayan infertilite olgularında altta yatan nedenlerin araştırılması halen devam etmektedir.

Steroid hormon yapıda olan D vitamininin kalsiyum homeostazı ve kemik sağlığı üzerine bilinen klasik etkileri dışında üreme sisteminde de etkileri olduğu bilinmektedir. D vitamini biyolojik fonksiyonlarını steroid nükleer reseptör ailesinin bir üyesi olan VDR üzerinden gerçekleştirir (114). VDR hem kadın hem de erkek üreme sistemindeki yapılarda gösterilmiştir (45). 1970'li yıllardan beri D vitamini eksikliğinin üreme fizyolojisindeki rolü araştırılmaya başlanmış, son yıllarda ise D vitamininin üreme fizyolojisi ve fertilitedeki rolüne ilgi giderek artmıştır (114).

Bu çalışmada açıklanamayan infertilite tanısı alarak ICSI yöntemiyle bebek sahibi olmak üzere tedaviye alınmış gönüllü çiftlerde serum ve gonadal sıvı 25(OH)D vitamini ve gonadal sıvı VDR düzeylerinin tedavi başarısındaki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya katılan açıklanamayan infertilite tanılı çiftler ICSI işlemi sonucuna göre gebelik gelişen ve gelişmeyen olarak iki gruba ayrıldığında her iki gruptaki kadın ve erkek eşlerin yaş, vücut kitle indeksi ortalamaları, sigara tüketim sıklığı yüzdesi bakımından ve ayrıca iki grup arasında infertilite süresi bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo-5). Bu da grupların gebelik başarısını etkileyecek demografik farklılıklara sahip olmadığını göstermektedir.

D vitamininin oosit gelişimi, AMH üretimi, ovaryan steroidogenezis, endometrial reseptivite vb gibi kadın üreme sistemine ait faktörlerde kritik rol oynadığı ve IVF/ICSI sonrası klinik gebelik sonuçlarında etkili olabileceği düşünülmektedir (114). Kaliforniya'da farklı ırklardan kadınlarla yapılan retrospektif kohort çalışmada, IVF sonucu klinik gebelik oranı D vitamini eksikliği olan grupta %37 iken, D vitamini yeterli olan grupta %78 bulunmuştur (115). Paffoni ve ark. (116) İtalya'da, Garbedian ve ark. (117) Kanada'da yaptıkları çalışmalarda IVF sonrası gebelik oranı ile ilgili benzer sonuçlara ulaşmışlardır. Polyzos ve ark. (118) IVF/ICSI uygulanan 368 kadınla yaptıkları çalışmada, D vitamini eksikliğinin bağımsız olarak klinik gebelik oranının azalması ile ilişkili olduğunu saptamıştır. Abedi ve ark. (119) ICSI öncesi 6 hafta D vitamini takviyesi uygulanan grupta takviye uygulanmayan kontrol grubuna göre klinik gebelik oranını anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır. Bu çalışmaların aksine, Fabris ve ark. (120) yumurta donasyonu uygulanan 267 kadınla yaptığı retrospektif çalışmada D vitamini düzeyi normal olan grupla yetersiz ve eksik olan kadınların gebelik oranları (sırasıyla %70, %69,9 %73,9) arasında fark bulmamıştır. Fransiak ve ark. (121) IVF uygulanan kadınların serum D vitamini düzeyiyle gebelik sonuçları arasında ilişki bulunmadığını bildirmişlerdir. Aflatoonian ve ark. (122) D vitamini yetersiz olan 57 kadına 6-8 hafta süresince D vitamini destek tedavisi uygulamış, D vitamini yetersiz olan 57 kadına ise D vitamini takviyesi uygulamamış ve IVF sonrasında gruplar arasında gebelik oranlarında anlamlı fark saptamamışlardır. Yılmaz ve ark. (123) IUI başarısına D vitamininin etkisini araştırmışlar, gebelik elde edilen ve elde edilmeyen gruplar arasında fark olmadığını bildirmişlerdir. Literatürdeki D vitamini düzeyi ve gebelik başarısı ile ilgili farklı sonuçların hasta yaş ortalaması, etnik köken, ırk, vücut kitle indeksi, sosyoekonomik durum, mevsim, güneş ışığına maruziyet, analiz yöntemleri ve çalışma tasarımındaki farklılıklar sebebiyle ortaya çıkabileceği ifade edilmektedir (114). Bizim çalışmamızda kadın eşlerin serum 25(OH)D vitamini düzeyleri gebelik gelişen grupta gebelik gelişmeye göre anlamlı düşük bulunmuştur ($p=0,033$) (Şekil-7). Hem gebelik gelişen ($11,08 \pm 10,22$ ng/mL) hem de gebelik elde gelişmeyen ($16,21 \pm 14,17$ ng/mL) kadın eşlerde 25(OH)D

vitamini düzeylerinin ortalamasının 20 ng/mL'nin altında olması Türk popülasyonunda yaygın görülen D vitamini eksikliğinin bizim çalışmamıza katılan kadınlarda da görüldüğünü göstermektedir (124). Bu durum dikkate alındığında, çalışmamızdaki her iki grupta da 25(OH)D vitamini eksikliğinin söz konusu olması, gruplar arasındaki farkın D vitamini düzeylerindeki yeterlilik açısından değerlendirilmesinin uygun olmayacağını düşündürmektedir.

Farzadi ve ark. (108) infertilite tedavisi gören kadınlarda foliküler sıvıda D vitamini düzeyi ile YÜT sonuçları arasındaki ilişkiyi inceledikleri çalışmada, gebe kadınlarda foliküler sıvıdaki D vitamini konsantrasyonunun, gebe olmayan kadınlara göre anlamlı oranda yüksek olduğunu ancak oosit sayısı ve kalitesi, fertilize oosit sayısı arasında gruplar arasında fark olmadığını saptamıştır. Yine aynı çalışmada folikül sıvısı D vitamini konsantrasyonu arttıkça, implantasyon oranının da arttığı bulunmuştur. Aleyasin ve ark. (109) foliküler sıvıda D vitamini düzeyi ile YÜT sonuçları arasındaki ilişkiyi inceledikleri çalışmada, gebe olan (n=24) kadınların foliküler sıvı D vitamini düzeyi (9,19 ng/mL) ile gebe olmayan kadınların (n=53) (10,34 ng/mL) düzeyleri arasında fark saptamamıştır. Aynı çalışmada foliküler sıvıdaki D vitamini düzeyinin artmasıyla, fertilizasyon oranında anlamlı azalma bulunurken, implantasyon oranında değişiklik olmadığı bulunmuştur. Anifandis ve ark. (125) , IVF uygulaması gören kadınların folikül sıvısında D vitamini seviyelerini incelemiş, D vitamini artışının düşük embriyo kalitesi ve gebelik oranı ile ilişkili olduğunu bulmuştur. Ciepiela ve ark. (126) ICSI tedavisi görenlerde daha düşük 25(OH)D konsantrasyonlu folikül sıvılarında olgunlaşan oositlerin daha yüksek gebelik ve doğum oranları ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da bu çalışma ile paralellik gösterecek şekilde folikül sıvısı 25(OH)D vitamini düzeyleri gebelik gelişen grupta gebelik gelişmeyen gruba göre anlamlı düşük bulunmuştur (p=0,044) (Şekil-8).

Özkan ve ark. (107) çalışmalarında serum D vitamini ile foliküler sıvıdaki D vitamini arasında güçlü bir ilişki olduğunu, kandaki D vitamini düzeyi arttıkça ovaryan folikül sıvısındaki D vitamini düzeyinin de arttığını bildirmişlerdir. Esmailzadeh ve ark. (127), Firouzabadi ve ark. (128),

Anifandis ve ark. (125) da çalışmalarında benzer sonuçlara ulaşmışlardır. Çalışmamızda da hem tüm vakalarda kadın eşlerin serum 25(OH)D vitamini ile folikül sıvısı 25(OH)D vitamini arasında hem de gebelik gelişen ve gelişmeyen gruplar ayrı olarak değerlendirildiğinde serum 25(OH)D vitaminiyle folikül sıvısı 25(OH)D vitamini arasında pozitif ilişki saptanmıştır (Şekil-13, 18, 20). Bu bulgular folikül sıvısı 25(OH)D vitamini düzeylerinin serum D vitamini düzeylerinden beslendiğini göstermektedir.

Çalışmamızda tüm vakalar değerlendirildiğinde kadın eşlerin serum 25(OH)D vitaminiyle AMH düzeyleri arasında pozitif ilişki bulunmuştur (Şekil-14). Gebelik gelişen grupta da kadın eşlerin serum 25(OH)D vitaminiyle AMH düzeyleri arasında pozitif ilişki bulunmuştur (Şekil-19). AMH düzeyinin D vitamininden etkilenebileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (45). AMH geninin promotor bölgesinde fonksiyonel D vitamini cevap elamanı olduğu bildirilmiştir (46). Çalışmamızdaki bulgularımıza paralellik gösterecek şekilde D vitaminiyle AMH düzeyi arasında pozitif ilişki bildiren çalışmalar mevcuttur. Merhi ve ark. (129) düzenli menstrual siklusları olan insan immün yetmezlik (HIV) enfeksiyonu olan vakalarda yaptıkları çalışmada düşük D vitamini olanların AMH seviyelerinin de düşük olduğu sonucuna varmıştır. Başka bir çalışma AMH'nin mevsimsel değişiminin D vitamini durumuyla korele olduğunu bildirmiştir (130). 1,25(OH)₂D takviyesiyle AMH'nin kış aylarında düşüşünün önlenebileceği gösterilmiştir (131).

Çalışmamızda kadın eşlerin serum 25(OH)D vitamini düzeyiyle infertilite süresi arasında negatif ilişki bulunmuştur (Şekil-15). Benzer şekilde folikül sıvısı 25(OH)D vitamini düzeyiyle infertilite süresi arasında da negatif ilişki bulunmuştur (Şekil-16). Paffoni ve ark. (116) D vitamini eksikliğinin infertiliteyle ilişkisini araştırdıkları çalışmalarında D vitamini eksikliği olanların infertilite süresinin D vitamini yeterli olanlara göre anlamlı olarak daha uzun olduğunu bulmuşlardır. Bu sonuçlar ışığında düşük 25(OH)D vitamini düzeylerinin infertilite üzerinde etkili olduğu yorumu yapılabilir.

Çalışmamızda kadın eşlerin serum AMH düzeyiyle ile infertilite süresi arasında negatif ilişki saptanmıştır (Şekil-17, 21). Lie Fong ve ark. (132) yaş ilerledikçe AMH düzeylerinin azaldığını bildirmişlerdir. Yaşa bağlı olarak over

rezervi azaldığı için, infertilite süresi uzadıkça over rezervinin göstergesi olan AMH'nin azalması beklenen bir bulgudur. Bizim bulgularımız da bu klasik bilgiyi destekler niteliktedir.

Kadın eşlerde folikül sıvısı VDR düzeyleri gebelik gelişen grupta gebelik gelişmeyen gruba göre anlamlı yüksek bulunmuştur (p=0,002) (Şekil-9). Değerlendirilen literatür ışığında daha önce folikül sıvısında VDR düzeyinin değerlendirildiği bir çalışma bulunmamakta, bu anlamda bizim çalışmamız bu konudaki ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır. Literatürde VDR ile ilgili çalışmalar daha çok VDR genindeki polimorfizmlerin incelendiği çalışmalar ile kısıtlıdır. VDR'deki polimorfizmlerin çeşitli hastalıklarla ilgili olup olmadığı yaygın bir şekilde araştırılmıştır (133-139). VDR genindeki polimorfizmlerin kemik hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, tüberküloz, multiple skleroz, kanser riski artışıyla ilgili olduğu bildirilmiştir (133). VDR polimorfizmlerinin PKOS ve endometriozisle de ilişkili olabileceği söylenmiştir (134-138). Dişi farelerde VDR'ye sahip olmayacakları şekilde genetik modifikasyon oluşturulduğunda uterus hipoplazisi ve yetersiz folikülogenez gözlemlendiği bildirilmiştir (45). Djuroviç ve ark. (139) açıklanamayan infertilite tanılı kadınlarda periferal kandan VDR polimorfizmini inceledikleri çalışmalarında, VDR geninin ekspresyonunun ve aktivitesinin değişmesinin, D vitamini cevap veren genlerin ekspresyonunda değişikliğe yol açtığını ve üreme sistemini etkileyebileceğini bildirmiştir. D vitamini aktif formu olan 1,25(OH)₂D'nin etkinliğini gösterebilmesi için hem vitamin D reseptörünün varlığı hem de bu reseptörün fonksiyonel olması gerekir (7). Çalışmamızda gebelik gelişmeyen kadınların folikül sıvısında D vitamini düzeyi gebelik gelişenlere göre yüksek olduğu halde D vitamini reseptör düzeyinin gebelik gelişenlere göre anlamlı düşük bulunması, D vitamini etkisini reseptör üzerinden gösterdiği için folikül sıvısındaki VDR'nin açıklanamayan infertilitede ICSI başarısında etkili bir faktör olabileceğini düşündürmektedir. Başka bir deyişle, serum ve folikül sıvısı 25(OH)D vitamini düzeyleri yüksek olsa bile folikül sıvısı VDR düzeyi yetersiz olan kadınlarda D vitamini fonksiyonel etkilerini gösteremeyerek gebelik gelişiminde etkili olamadığı söylenebilir.

D vitamini metabolize eden enzimlerin ve VDR'nin insanlarda testis (özellikle germ hücrelerinde), epididimis, seminal vezikül, prostat ve spermelerde ekspresse edildiği gösterildikten sonra, aktif D vitamini erkeklerde spermatogenezis veya sperm fonksiyonları için önemli olabileceği öne sürülmüştür (140-142). Ancak D vitamini erkek üreme sistemini hangi mekanizmayla etkilediği hala belirsizliğini korumaktadır. Serum 25(OH)D vitamini düzeyi ile erkek infertilitesini ve sperm parametrelerini karşılaştıran çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Avrupa'da yapılan çok merkezli 40-79 yaş aralığında 3369 hasta ile yapılan çalışmada serum D vitamini düzeyleriyle serum testosteron düzeyleri arasında pozitif korelasyon olduğu gösterilmiştir (143). D vitamini seviyesi yetersiz olan 31 erkekle yapılan bir çalışmada 1 yıl boyunca D vitamini takviyesi yapılmasının total testosteron seviyelerini %25 arttırdığı belirlenmiştir (144). Bu çalışmanın tersine randomize kontrollü bir çalışmada ise düşük D vitamini seviyesine sahip erkeklerde D vitamini takviyesi alan ve plasebo grubu arasında testosteron seviyelerinde anlamlı farklılık bulunmamıştır (145). Blomberg Jensen ve ark. (49) semen kalitesi ve D vitamini düzeyi ilişkisini araştırmak için 300 erkekle yaptıkları çalışmada serum 25(OH)D vitamini seviyesi ile sperm motilitesi arasında pozitif ilişki olduğunu göstermişlerdir. Yaşları 20-40 arasında değişen 195 fertil ve 314 infertil Çinli erkekle yapılan kesitsel bir çalışmada serum vitamin D seviyeleri ile hem sperm motilitesi ve hem de morfolojisi pozitif ilişkili bulunmuştur (146). Alzoubi ve ark. (147), açıklanamayan infertilite tanılı düşük serum D vitamini olan erkeklerde D vitamini takviyesinin, sperm motilitesini arttırdığını bulmuşlardır. Bunların aksine, Ramlau-Hansen ve ark. (148) 307 erkekle semen kalitesi ve D vitamini düzeyinin ilişkisini araştırdıkları çalışmada yüksek D vitamini seviyelerine sahip erkeklerin daha düşük sperm kalitesine sahip olduğunu tespit etmiştir. Başka bir çalışmada yüksek doz D vitamini takviyesinin, D vitamini yetersiz infertil erkeklerde semen kalitesini arttırmadığı bulunmuştur (149). Joskow ve ark. (150) sağlıklı erkeklerde yaptıkları çalışmada serum 1,25(OH)₂D ile semen parametreleri arasında ilişki olmadığını ve 1,25(OH)₂D'nin semen kalitesini göstermediğini ortaya koymuştur. İranlı erkeklerle yapılan çalışmada serum D vitaminiyle

oligoastenoteratozoospermi olanlarda sperm motilitesi ile ilişki bulunurken, normospermik erkeklerde D vitaminiyle sperm motilitesi arasında ilişki bulunmamıştır (151). İrlanda'da IVF/ICSI işlemine tabi tutulan çiftlerle yapılan çalışmada erkeklerde serum 25(OH)D vitaminiyle sperm motilitesi, sperm sayısı ve gebelik oranı arasında ilişki bulunmamıştır (152). Benzer şekilde Liu Jiang ve ark. (153) IVF/ICSI uygulanan çiftlerdeki araştırmalarında erkeklerde D vitamini düzeyiyle ile embriyo gelişimi veya klinik sonuçlar arasında anlamlı bir ilişki bulmamışlardır. Bizim çalışmamızda erkek eşlerin serum 25(OH)D vitamini düzeyleri gebelik gelişen grupta gebelik gelişmeye göre anlamlı düşük bulunmuştur ($p=0,01$) (Şekil-10). Ancak gebelik gelişen grupta erkek eşlerin semen 25(OH)D vitamin düzeyi gebelik gelişmeyen gruba göre düşük bulunsa da anlamlı bir fark saptanmamıştır (Şekil-11). Değerlendirilen literatüre göre erkeklerde seminal sıvıda 25(OH)D vitamini düzeyinin incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Sonuçlarımız erkek eşlerde serum ve semen 25(OH)D vitamini düzeylerinin açıklanamayan infertilitede etkili bir faktör olmadığını düşündürmektedir.

Kinuta ve ark. (102), VDR reseptörü mutant olan ve fonksiyon göstermeyen farelerde belirgin gonadal yetersizlik, azalmış sperm sayı ve motilitesi ve testiste histolojik anormallikler izlemiştir. Bu farelerde testis ve epididimiste aromataz aktivitesinin azaldığı (sırayla %58 ve %35) bulunmuştur. Ayrıca FSH ve LH seviyelerinin yüksek oluşu hipergonadotropik hipogonadizmi göstermiştir. Kalsiyum replasmanı aromataz aktivitesini arttırarak hipogonadizmi kısmen düzeltmiştir ancak FSH ve LH düzeyleri yüksek seyretmeye devam etmiştir; bu da D vitamininin spermatogenezde direkt etkisinin olabileceğini düşündürmüştür. Spermde VDR ekspresyonunun, sperm öncelikli olarak baş/nükleus ve orta kısmında olduğu, D vitamininin mitokondriyal DNA ve/veya baş nükleus fonksiyonunda rol oynayabileceği öne sürülmüştür (48). VDR ekspresyonunun düşük sperm motilitesine sahip erkeklerde azaldığı gösterilmiştir (48,154). İn vitro olarak yapılan bir çalışmada D vitamininin sperm üzerine etkisini VDR üzerinden hücre içi kalsiyum miktarını arttırarak gerçekleştirebileceği gösterilmiştir (49). Fertilizasyon için gerekli olan sperm hareketi yani hiperaktivasyonun hücre içi kalsiyum miktarı

artışına bağlı olarak gerçekleştiği düşünülmektedir (155). Aquila ve ark. (141), çalışmalarında erkek gamet hücrelerinde D vitamini aktivasyonunda rol alan 1 alfa hidroksilaz enziminin varlığını göstermişler ve aktif D vitamini formu olan 1,25(OH)₂D'nin lokal olarak üretildiğini bildirmişlerdir. Değerlendirilen litetarürlere göre bugüne dek semende kantitatif olarak VDR düzeyinin incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu anlamda çalışmamız ilk olma özelliğini taşımaktadır. Bizim çalışmamızda semen VDR düzeyi gebelik gelişenlerde gebelik gelişmeyenlere göre daha yüksek bulunmuş ancak iki grup arasında istatistiksel anlam saptanmamıştır (Şekil-12). Sonuçlarımız erkek eşlerin serum ve semen D vitamini düzeyi gibi, semen VDR düzeyinin de açıklanamayan infertilitede fertilizasyona etkisinin olmadığını düşündürmektedir.

Bugüne kadar insanlarda erkek ve dişi üreme sistemlerinde D vitamini reseptörünün varlığının gösterilmesiyle D vitamininin üreme fonksiyonlarındaki rolünü anlamak için pek çok çalışma yapılmıştır. Bizim çalışmamızda kadın ve erkek eşlerin serum ve gonadal sıvılarındaki D vitamini düzeylerinin ve gonadal sıvı VDR düzeylerinin açıklanamayan infertilitede etkili olup olmadığının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışma, kadın ve erkek eşlerin serum ve gonadal sıvılarındaki D vitamini düzeylerinin birlikte değerlendirildiği ilk çalışmadır. Ayrıca gonadal sıvılarda VDR düzeylerinin kantitatif olarak ölçüldüğü ilk çalışma olma özelliği de taşımaktadır.

Tüm bulgular değerlendirildiğinde, çalışmamıza katılan kadın eşlerde serum 25(OH)D vitamini düzeylerinin Türk popülasyonunda yaygın görülen eksiklik seviyelerinde olduğu, düşük serum ve folikül sıvısı 25(OH)D vitamini düzeylerinin açıklanamayan infertilitede tek başına bir etken olmadığı, erkek eşlerin serum ve semen 25(OH)D vitamini ile semen VDR düzeylerinin gebelik başarısında etkili bir faktör olmadığı, buna karşılık kadın eşlerde D vitamininin etkisini gösterebilmesi için gerekli olan VDR'nin folikül sıvısındaki düzeylerinin ICSI uygulamasında gebelik başarısında önemli bir faktör olduğu kanısına varılabilir.

KAYNAKLAR

1. Murray RK, Granner, DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper'in Biyokimyası. Çeviri editörleri Nurten Dikmen, Tuncay Özgünen. 25. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2004.
2. Mellanby E. An experimental investigation on rickets. *Lancet* 1919;1:407-12.
3. McCollum EV, Simmonds N, Becker JE, Shipley PG. An experimental demonstration of the existence of a vitamin which promotes calcium deposition. *J Biol Chem* 1922;53:293-312.
4. Askew FA, Bourdillon RB, Bruce HM, Jenkins RGC, Webster TA. The distillation of vitamin D. *Proc R Soc* 1931;107:76-90.
5. Windaus A, Bock F. Über das provitamin aus dem sterin der schweineschwarte. *Z Physiol Chem* 1937;245:168-70.
6. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1689-96.
7. Zempleni J. Handbook of vitamins. 5 edition. New York: CRC Press; 2013.
8. Holick MF. The vitamin D epidemic and its health consequences. *The Journal of Nutrition* 2005;135(11):2739-48.
9. Chemistry of Vitamin D, updated November 2011, <https://vitamind.ucr.edu/about>. Erişim tarihi: 02.01.2019.
10. Webb AR. Who, what, where and when-influences on cutaneous vitamin D synthesis. *Prog Biophys Mol Biol* 2006;92:17-25.
11. Braunwald E, Fauci AS, Kasper D, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. Harrison's Principles of Internal Medicine. New York: McGraw-Hill Companies; 2005.
12. Lerchbaum E, Obermayer-Pietsch B. Vitamin D and fertility: A systematic review. *Eur J Endocrinol* 2012;166:765-78.
13. Chun RF, Peercy BE, Orwoll ES, Nielson CM, Adams JS, Hewison M. Vitamin D and DBP: the free hormone hypothesis revisited. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2014;144:132-7.
14. Speeckaert M, Huang G, Delanghe JR, Taes YE. Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism. *Clinica Chimica Acta* 2006;372(1-2):33-42.
15. Prosser DE, Jones G. Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. *Trends Biochem Sci* 2004;29(12):664-73.
16. Christakos S. In search of regulatory circuits that control the biological activity of vitamin D. *J Biol Chem* 2017;292:17559-60.
17. Nykjaer A, Fyfe JC, Kozyraki R, et al. Cubilin dysfunction causes abnormal metabolism of the steroid hormone 25(OH) vitamin D(3). *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:13895-900.
18. Christakos S, Ajibade DV, Dhawan P, Fechner AJ, Mady LJ. Vitamin D: metabolism. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010;39(2):243-53.

19. Jones G, Strugnelli SA, DeLuca HF. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiological Reviews* 1998;78(4):1193–231.
20. Obi Y, Hamano T, Isaka Y. Prevalence and prognostic implications of vitamin D deficiency in chronic kidney disease. *Disease Markers* 2015;1-9.
21. Yang S, Li A, Wang J, et al. Vitamin D Receptor: A novel therapeutic target for kidney diseases. *Curr Med Chem* 2018;25(27):3256-3271.
22. Amano Y, Komiyama K, Makishima M. Vitamin D and Periodontal Disease. *Journal of Oral Science* 2009;51(1):11-20.
23. Emilia Pauline Liao. *Extraskeletal Effects of Vitamin D: A Clinical Guide*. 1st edition. New York: Humana Press; 2018.
24. Gil A, Plaza-Diaz J, Mesa MD. Vitamin D: Classic and Novel Actions. *Ann Nutr Metab* 2018;72:87-95.
25. Antico A, Tozzoli R, Giavarina D, Tonutti E, Bizzaro N. Hypovitaminosis D as Predisposing Factor for Atrophic Type A Gastritis: a Case–Control Study and Review of the Literature on the Interaction of Vitamin D with the Immune System. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology* 2012;42(3):355-64.
26. Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Heather B. *Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium*. Washington DC: National Academies Press; 2011.
27. Holick MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease and osteoporosis. *Am J Clin Nutr* 2004;79(3):362-71.
28. Zhang W, Wang J, Cao R, et al. Vitamin D Assay in Human Serum Samples: A Review of Analysis Methods. *Int J Curr Res Biosci Plant Biol* 2017;4(2):1-6.
29. Whyte M, Thakker RV. Rickets and osteomalacia. *Medicine* 2009;37:483-8.
30. Houston DK, Cesari M, Ferrucci L, et al. Association between vitamin D status and physical performance: the InCHIANTI study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2007;62(4):440-6.
31. Bouillon R. Vitamin D and extraskeletal health. https://www.uptodate.com/contents/vitamin-d-and-extraskeletal-health?search=vitamin%20d&source=search_result&selectedTitle=6~145&usage_type=default&display_rank=5. Erişim tarihi: 14.01.2019.
32. Duman İ, Ün İ. Sekosteroid bir hormon olarak D vitamini ve kanser ilişkisi. *Lokman Hekim Dergisi* 2019;9(1):19-29.
33. Yavuz D, Mete T, Yavuz R, Altunoğlu A. D Vitamini, Kalsiyum & Mineral Metabolizması, D Vitaminin İskelet Dışı Etkileri ve Kronik Böbrek Yetmezliğinde Nutrisyonel D Vitaminini Kullanımı. *Ankara Med J* 2014;14(4):162-71.
34. Takiishi T, Gysemans C, Bouillon R, Mathieu C. Vitamin D and diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010;39:419-46.
35. Mathieu C, Gysemans C, Giulietti A, Bouillon R. Vitamin D and diabetes. *Diabetologia* 2005;48:1247-57.

36. Dong JY, Zhang WG, Chen JJ, Zhang ZL, Han SF, Qin LQ. Vitamin D intake and risk of type 1 diabetes: a meta-analysis of observational studies. *Nutrients* 2013;5:3551-62.
37. Zipitis CS, Akobeng AK. Vitamin D supplementation in early childhood and risk of type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child* 2008;93:512-7.
38. Ozfirat Z, Chowdhury TA. Vitamin D deficiency and type 2 diabetes. *Postgrad Med J* 2010;86:18-25.
39. Chiu KC, Chu A, Go VL, Saad MF. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *The American journal of clinical nutrition* 2004;79(5):820-5.
40. Danik JS, Manson JE. Vitamin D and cardiovascular disease. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2012;14(4):414-24.
41. Sugden JA, Davies JI, Witham MD, Morris AD, Struthers AD. Vitamin D improves endothelial function in patients with Type 2 diabetes mellitus and low vitamin D levels. *Diabet Med* 2008;25(3):320-5.
42. Banker M, Sorathiya D, Shah S. Vitamin D Deficiency Does Not Influence Reproductive Outcomes of IVF-ICSI: A Study of Oocyte Donors and Recipients. *J Hum Reprod Sci* 2017;10(2):79-85.
43. Vanni VS, Vigano P, Somigliana E, et al. Vitamin D and assisted reproduction technologies: current concepts. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2014;12:47-57.
44. Parikh G, Varadinova M, Suwandhi P, et al. Vitamin D regulates steroidogenesis and insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) production in human ovarian cells. *Horm Metab Res* 2010;42:754-7.
45. Nandi A, Sinha N, Ong E, Sonmez H, Poretsky L. Is there a role for vitamin D in human reproduction? *Horm Mol Biol Clin Invest* 2016;25(1):15-28.
46. Molly PJ, Peng L, Wang J, Feldman D. Interaction of the vitamin D receptor with a vitamin D response element in the Mullerian-inhibiting substance (MIS) promoter: regulation of MIS expression by calcitriol in prostate cancer cells. *Endocrinol* 2009;150:1580-7.
47. Yoshida M, Kawano N, Yoshida K. Control of sperm motility and fertility: diverse factors and common mechanisms. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2008;65(21):3446-57.
48. Corbett ST, Hill O, Nangia AK. Vitamin D receptor found in human sperm. *Urology* 2006;68:1345-9.
49. Blomberg Jensen M, Bjerrum PJ, Jessen TE, et al. Vitamin D is positively associated with sperm motility and increases intracellular calcium in human spermatozoa. *Hum Reprod* 2011;26:1307-17.
50. Hammoud AO, Meikle AW, Peterson CM, Stanford J, Gibson M, Carrell DT. Association of 25-hydroxyvitamin D levels with semen and hormonal parameters. *Asian J Androl* 2012;14:855-9.
51. Bouillon R. Vitamin D: from photosynthesis, metabolism, and action to clinical applications. In: DeGroot LJ, Jameson JL (eds.) *Endocrinology*. Philadelphia: W.B. Saunders; 2001. 1009-28.
52. Holick MF. Vitamin D deficiency. *New Engl J Med* 2007;357:266-81.

53. Chapuy MC, Schott AM, Garnero P, Hans D, Delmas PD, Meunier PJ. Healthy elderly French women living at home have secondary hyperparathyroidism and high bone turnover in winter. EDIPOS Study Group. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:1129–33.
54. Malabanan A, Veronikis IE, Holick MF. Redefining vitamin D insufficiency. *Lancet* 1998;351:805–6.
55. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(7):1911–30.
56. Osteoporoz ve Metabolik Kemik Hastalıkları Tanı ve Tedavi Kılavuzu. http://temd.org.tr/admin/uploads/tbl_kilavuz/METABOLIK_KH_BOOK_web_.pdf. Erişim tarihi: 20.01.2019.
57. Bordelon P, Ghetu MV, Langan RC. Recognition and management of vitamin D deficiency. *American family physician* 2009;80(8):841-6.
58. Marcinowska Suchowierska E, Kupisz Urbanska M, Lukaszkiwicz J, Pludowski P, Jones G. Vitamin D Toxicity- A Clinical Perspective. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2018;9:550-6.
59. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de Mouzon J, et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology. *Fertil Steril* 2009;92:1520-4.
60. Rutstein SO, Iqbal HS. Infecundity, Infertility and Childlessness in Developing Countries. DHS Comparative Reports No. 9. Calverton, Maryland, USA: ORC Macro and the World Health Organization; 2004.
61. Brazdova A, Senechal H, Peltre G, Poncet P. Immune Aspects of Female Infertility. *Int J Fertil Steril* 2016;10(1):1–10.
62. World Health Organization towards more objectivity in diagnosis and management of male infertility. *Int J Androl (Suppl.)* 1987;7:1–53.
63. Çolgar U. Reprodüktif Endokrinoloji ve İnfertilite. 1. baskı. İstanbul, Türkiye: İstanbul Tıp Kitabevi; 2006. S:167.
64. Moghissi KS, Wallach EE. Unexplained infertility. *Fertil Steril* 1983;39:5-21.
65. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2008;90:60.
66. Kuohung W, Hornstein MD. Evaluation of female infertility. https://www.uptodate.com/contents/evaluation-of-female-infertility?topicRef=7410&source=see_link. Erişim tarihi:20.01.2019.
67. Topçu HO, Evliyaoğlu Ö, Şahin Y. Temel İnfertilite Araştırmaları Nasıl Olmalıdır? *TJRMS* 2017;1(2):104-11.
68. Wathen NC, Perry L, Lilford RJ, 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;288:7-9.
69. Ecochard R, Boehringer H, Rabilloud M, Marret H. Chronological aspects of ultrasonic, hormonal, and other indirect indices of ovulation. *BJOG* 2001;108:822-9.

70. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. *Fertil Steril* 2015;103:9-17.
71. Dewailly D, Andersen CY, Balen A, et al. The physiology and clinical utility of anti-Müllerian hormone in women. *Hum Reprod Update* 2014;20:370-85.
72. Seifer DB, Baker VL, Leader B. Age-specific serum anti-Müllerian hormone values for 17,120 women presenting to fertility centers within the United States. *Fertil Steril* 2011;95:747-50.
73. de Vet A, Laven JS, de Jong FH, Themmen AP, Fauser BC. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril* 2002;77:357-62.
74. Lutchman Singh K, Muttukrishna S, Stein RC, et al. Predictors of ovarian reserve in young women with breast cancer. *Br J Cancer* 2007;96:1808-16.
75. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update* 2006;12:685-718.
76. Nardo LG, Gelbaya TA, Wilkinson H, et al. Circulating basal anti-Müllerian hormone levels as predictor of ovarian response in women undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2009;92:1586-93.
77. Anckaert E, Smitz J, Schiettecatte J, Klein BM, Arce JC. The value of anti-Müllerian hormone measurement in the long GnRH agonist protocol: association with ovarian response and gonadotrophin-dose adjustments. *Hum Reprod* 2012;27:1829-39.
78. Broer SL, Dolleman M, Opmeer BC, Fauser BC, Mol BW, Broekmans FJ. AMH and AFC as predictors of excessive response in controlled ovarian hyperstimulation: a meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2011;17:46-54.
79. Abdalla H, Thum MY. An elevated basal FSH reflects a quantitative rather than qualitative decline of the ovarian reserve. *Hum Reprod* 2004;19:893-8.
80. Broekmans FJ, de Ziegler D, Howles CM, Gougeon A, Trew G, Olivennes F. The antral follicle count: practical recommendations for better standardization. *Fertil Steril* 2010;94(3):1044-51.
81. Soares SR, Barbosa dos Reis MM, Camargos AF. Diagnostic accuracy of sonohysterography, transvaginal sonography, and hysterosalpingography in patients with uterine cavity diseases. *Fertil Steril* 2000;73(2):406-11.
82. Salle B, Gaucherand P, de Saint Hilaire P, Rudigoz RC. Transvaginal sonohysterographic evaluation of intrauterine adhesions. *J Clin Ultrasound* 1999;27(3):131-4.
83. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Optimal evaluation of the infertile female. *Fertil Steril* 2006;86(5 Suppl 1):264-7.

84. Cooper TG, Noonan E, von Eckardstein S, et al. World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Hum Reprod Update* 2010;16:231-45.
85. Hull MG. Effectiveness of infertility treatments: choice and comparative analysis. *Int J Gynaecol Obstet* 1994;47:99-108.
86. Sağlık Uygulama Tebliği.
http://www.sgk.gov.tr/wps/portal/sgk/tr/kurumsal/merkez-teskilati/ana_hizmet_birimleri/gss_genel_mudurlugu/anasayfa_duyuru/ar/18062016_guncel_sut. Erişim tarihi: 20.01.2019.
87. Seli E, Arici A. Ovulation induction with clomiphene citrate. <https://www.uptodate.com/contents/ovulation-induction-with-clomiphene-citrate>. Erişim tarihi: 20.01.2019.
88. Dor J, Itzkowic DH, Mashlach S, Lunefeld B, Serr DM. Cumulative conception rates following gonadotropin therapy. *Am J Obstet Gynecol* 1980;136:102-5.
89. Ginsburg ES. Procedure for intrauterine insemination (IUI) using processed sperm. <https://www.uptodate.com/contents/procedure-for-intrauterine-insemination-iui-using-processed-sperm>. Erişim tarihi: 20.01.2019
90. Karamahmutoğlu H, Erdem A, Erdem M, et al. The gradient technique improves success rates in intrauterine insemination cycles of unexplained subfertile couples when compared to swim up technique; a prospective randomized study. *J Assist Reprod Genet* 2014;31(9):1139-45.
91. Cissen M, Wely MV, Scholten I, et al. Measuring Sperm DNA Fragmentation and Clinical Outcomes of Medically Assisted Reproduction: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 2016;10(11):e0165125.
92. Palermo GD, Neri QV, Takeuchi T, Rosenwaks Z. ICSI: where we have been and where we are going. *Semin Reprod Med* 2009;27(2):191-201.
93. Hamada A, Esteves SC, Nizza M, Agarwal A. Unexplained male infertility: diagnosis and management. *Int Braz J Urol* 2012;38:576-94.
94. Halloran BP, DeLuca HF. Effect of vitamin D deficiency on fertility and reproductive capacity in the female rat. *J Nutr* 1980;110(8):1573-80.
95. Kwiecinski GG, Petrie GI, DeLuca HF. Vitamin D is necessary for reproductive functions of the male rat. *J Nutr* 1989;119(5):741-4.
96. Erben RG, Soegiorto DW, Weber K, et al. Deletion of deoxyribonucleic acid binding domain of the vitamin D receptor abrogates genomic and nongenomic functions of vitamin D. *Mol Endocrinol* 2002;16:1524–37.
97. Di Rosa M, Malaguarnera G, De Gregorio C, Palumbo M, Nunnari G, Malaguarnera L. Immuno-modulatory effects of vitamin D3 in human monocyte and macrophages. *Cell Immunol* 2012;280:36–43.
98. Van Etten E, Decallonne B, Verlinden L, Verstuyf A, Bouillon R, Mathieu C. Analogs of 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3 as pluripotent immunomodulators. *J Cell Biochem* 2003;88:223–6.
99. Patel P, Poretsky L, Liao E. Lack of effect of subtherapeutic vitamin D treatment on glycemic and lipid parameters in type 2 diabetes: a pilot prospective randomized trial. *J Diabetes* 2010;2:36–40.

100. Pittas AG, Dawson-Hughes B, Sheehan PR, et al. Rationale and design of the vitamin D and Type 2 Diabetes (D2d) study: a diabetes prevention trial. *Diabetes Care* 2014;37:3227–34.
101. Anagnostis P, Karras S, Goulis DG. Vitamin D in human reproduction: a narrative view. *Int J Clin Pract* 2013;67:225–35.
102. Kinuta K, Tanaka H, Moriwake T, Aya K, Kato S, Seino Y. Vitamin D is an important factor in estrogen biosynthesis of both female and male gonads. *Endocrinology* 2000;141:1317–24.
103. Hochberg Z, Borochowitz Z, Benderli A, et al. Does 1,25 dihydroxyvitamin D participate in the regulation of hormone release from endocrine glands? *J Clin Endocrin Metab* 1985;60:57–61.
104. Thompson RL, Spedding S, Buckley JD. Vitamin D in the aetiology and management of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol* 2012;77:343–50.
105. Zadeh-Vakili A, Ramezani TF, Daneshpour MS, Zarkesh M, Saadat N, Azizi F. Genetic polymorphism of vitamin D receptor gene affects the phenotype of PCOS. *Gene* 2013;515:193–6.
106. Moini A, Shirzad N, Ahmadzadeh M, Hosseini R, Hosseini L, Sadatmahalleh SJ. Comparison of 25-hydroxyvitamin D and calcium levels between polycystic ovarian syndrome and normal women. *Int J Fertil Steril* 2015;9:1–8.
107. Ozkan S, Jindal S, Greenseid K, et al. Replete vitamin D stores predict reproductive success following in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2010;94(4):1314-9.
108. Farzadi L, Khayatzaeh Bidgoli H, Ghojazadeh M, et al. Correlation between follicular fluid 25-OH vitamin D and assisted reproductive outcomes. *Iran J Reprod Med* 2015;13(6):361-6.
109. Aleyasin A, Hosseini MA, Mahdavi A, et al. Predictive value of the level of vitamin D in follicular fluid on the outcome of assisted reproductive technology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011;159(1):132-7.
110. Rudick BJ, Ingles S, Chung K, Stanczyk F, Paulson R, Bendikson K. Characterizing the influence of vitamin D levels on IVF outcomes. *Hum Reprod* 2012;27(11):3321-7.
111. Butts SF, Seifer DB, Koelper N, et al. Vitamin D Deficiency Is Associated With Poor Ovarian Stimulation Outcome in PCOS but Not Unexplained Infertility. *J Clin Endocrinol Metab* 2019;104(2):369-78.
112. ELISA: Direct and Indirect “Sandwich” ELISA General Protocols. www.eiaab.com/info/detail/456. Erişim tarihi: 21.01.2019.
113. Vayena E, Rowe P, Griffin P. Current Practices and Controversies in Assisted Reproduction. Report of a meeting on Medical, Ethical and Social Aspects of Assisted Reproduction held at WHO Headquarters In; 2002 17-21 September 2001; Geneva, Switzerland; 2002.
114. Zhao J, Huang X, Xu B, Yan Y, Zhang Q, Li Y. Whether vitamin D was associated with clinical outcome after IVF/ICSI: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol* 2018;16:13-9.

115. Rudick, BJ, Ingles SA, Chung K, Stanczyk FZ, Paulson RJ, Bendikson KA. Influence of vitamin D levels on in vitro fertilization outcomes in donor-recipient cycles. *Fertil Steril* 2014;101:447-52.
116. Paffoni A, Ferrari S, Vigano P, et al. Vitamin D deficiency and infertility: Insights from in vitro fertilization cycles. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:E2372-6.
117. Garbedian K, Boggild M, Moody J, Liu KE. Effect of vitamin D status on clinical pregnancy rates following in vitro fertilization. *CMAJ Open* 2013;1:E77-82.
118. Polyzos NP, Anckaert E, Guzman L, et al. Vitamin D deficiency and pregnancy rates in women undergoing single embryo, blastocyst stage, transfer (SET) for IVF/ ICSI. *Hum Reprod* 2014;29(9):2032-40.
119. Abedi S, Taebi M, Nasr Esfahani MH. Effect of Vitamin D Supplementation on Intracytoplasmic Sperm Injection Outcomes: A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Trial. *Int J Fertil Steril* 2019;13(1):18-23.
120. Fabris A, Pacheco A, Cruz M, Puente JM, Fatemi H, Garcia-Velasco JA. Impact of circulating levels of total and bioavailable serum vitamin D on pregnancy rate in egg donation recipients. *Fertil Steril* 2014;102(6):1608-12.
121. Franasiak JM, Molinaro TA, Dubell EK, et al. Vitamin D levels do not affect IVF outcomes following the transfer of euploid blastocysts. *Am J Obstet Gynecol* 2015;212(3):315.e1-6.
122. Aflatoonian A, Arabjahvani F, Eftekhari M, Sayadi M. Effect of vitamin D insufficiency treatment on fertility outcomes in frozen-thawed embryo transfer cycles: A randomized clinical trial. *Iran J Reprod Med* 2014;12(9):595-600.
123. Yilmaz N, Ersoy E, Tokmak A, et al. Do Serum Vitamin D Levels Have Any Effect on Intrauterine Insemination Success? *Int J Fertil Steril* 2018;12(2):164-8.
124. Satman I, Ozbey N, Boztepe H, et al. Prevalence and of vitamin D deficiency and associated factors in Turkey. *Diabetes* 2012;1(9):6-9.
125. Anifandis GM, Dafopoulos K, Messini CI, et al. Prognostic value of follicular fluid 25-OH vitamin D and glucose levels in the IVF outcome. *Reprod Biol Endocrinol* 2010;8:91-5.
126. Ciepiela P, Duleba AJ, Kowaleczko E, Chelstowski K, Kurzawa R. Vitamin D as a follicular marker of human oocyte quality and a serum marker of in vitro fertilization outcome. *J Assist Reprod Genet* 2018;35(7):1265-76.
127. Esmaeilzadeh S, Aliasgharpour M, Mirabi P, Ghanbarpour A, Fasihian M. Serum and follicular fluid vitamin D and follicular response among infertile women undergoing ICSI. *World Family Medicine/Middle East Journal of Family Medicine* 2017;15(7):13-20.
128. Firouzabadi RD, Rahmani E, Rahsepar M, Firouzabadi MM. Value of follicular fluid vitamin D in predicting the pregnancy rate in an IVF program. *Arch Gynecol Obstet* 2014;289:201-6.
129. Merhi Z, Doswell AD, Krebs K, Cipolla M. Vitamin D alters genes

- involved in follicular development and steroidogenesis in human cumulus granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:1137–45.
130. Krishnan AV, Moreno J, Nonn L, et al. Novel pathways that contribute to the antiproliferative and chemopreventive activities of calcitriol in prostate cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007;103:694–702.
 131. Dennis NA, Houghton LA, Jones GT, Van rij AM, Morgan K, McLennan IS. The level of serum anti-Mullerian hormone correlates with vitamin D status in men and women but not in boys. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:2450–5.
 132. Lie Fong S, Visser JA, Welt CK, et al. Serum anti-müllerian hormone levels in healthy females: a nomogram ranging from infancy to adulthood. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(12):4650-5.
 133. Siddamalla S, Reddy TV, Govatati S, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and risk of polycystic ovary syndrome in South Indian women. *Gynecological Endocrinology* 2018;34(2):161-5.
 134. Dasgupta S, Dutta J, Annamaneni S, Kudugunti N, Battini MR. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with polycystic ovary syndrome among Indian women. *Indian J Med Res* 2015;142:276–85.
 135. Jedrzejuk D, Laczanski L, Milewicz A, et al. Classic PCOS phenotype is not associated with deficiency of endogenous vitamin D and VDR gene polymorphisms rs731236 (TaqI), rs7975232 (ApaI), rs1544410 (BsmI), rs10735810 (FokI): a case-control study of lower Silesian women. *Gynecol Endocrinol* 2015;31(12):976–9.
 136. Bagheri M, Abdi Rad I, Hosseini Jazani N, Nanbakhsh F. Vitamin D receptor taqi gene variant in exon 9 and polycystic ovary syndrome risk. *Int J Fertil Steril* 2013;7(2):116–21.
 137. Lin MW, Tsai SJ, Chou PY, Huang MF, Sun HS, Wu MH. Vitamin D receptor 1a promotor -1521 G/C and -1012 A/G polymorphisms in polycystic ovary syndrome. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2012;51(4):565–71.
 138. Wehr E, Trummer O, Giuliani A, Gruber HJ, Pieber TR, Obermayer-Pietsch B. Vitamin D-associated polymorphisms are related to insulin resistance and vitamin D deficiency in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2011;164(5):741–9.
 139. Djurovic J, Stamenkovic G, Todorovic J, Aleksic N, Stojkovic O. Polymorphisms and haplotypes in VDR gene are associated with female idiopathic infertility. *Hum Fer (Camb)* 2018;17:1-10.
 140. Blomberg Jensen M, Nielsen JE, Jorgensen A, et al. Vitamin D receptor and vitamin D metabolizing enzymes are expressed in the human male reproductive tract. *Hum Reprod* 2010;25(5):1303-11.
 141. Aquila S, Guido C, Middea E, et al. Human male gamete endocrinology: 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 (1,25(OH)2D3) regulates different aspects of human sperm biology and metabolism. *Reprod Biol Endocrinol* 2009;7:140-152.

142. Arslan S, Akdevelioğlu Y. Erkek Reprodüktif Fonksiyonlarda D Vitamininin Rolü. *Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2018;3(2):1-7.
143. Lee DM, Tajar A, Pye SR, et al. Association of hypogonadism with vitamin D status: the European Male Ageing Study. *Eur J Endocrinol* 2012;166(1):77-85.
144. Pilz S, Frisch S, Koertke H, et al. Effect of vitamin D supplementation on testosterone levels in men. *Horm Metab Res* 2011;43(3):223-5.
145. Jorde R, Grimnes G, Hutchinson MS, Kjærgaard M, Kamycheva E, Svartberg J. Supplementation with vitamin D does not increase serum testosterone levels in healthy males. *Horm Metab Res* 2013;45(9):675-81.
146. Yang B, Sun H, Wan Y, et al. Associations between testosterone, bone mineral density, vitamin D and semen quality in fertile and infertile Chinese men. *Int J Androl* 2012;35(6):783-92.
147. Alzoubi A, Mahdi H, Al Bashir S, et al. Normalization of Serum Vitamin D Improves Semen Motility Parameters in Patients with Idiopathic Male Infertility. *Acta Endocrinologica* 2017;13(2):180-7.
148. Ramlau-Hansen CH, Moeller UK, Bonde JP, Olsen J, Thulstrup AM. Are serum levels of vitamin D associated with semen quality? Results from a cross-sectional study in young healthy men. *Fertil Steril* 2011;95(3):1000-4.
149. Blomberg Jensen M, Lawaetz JG, Petersen JH, Juul A, Jorgensen N. Effects of Vitamin D Supplementation on Semen Quality, Reproductive Hormones, and Live Birth Rate: A Randomized Clinical Trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2018;103(3):870–81.
150. Jozkow P, Slowinska-Lisowska M, Zagrodna A, Medras M, Lwow F. Vitamin D and Semen Quality in Urban, Young, Healthy Men (Androls). *J Mens Health Vol* 2018;14(2):1-7.
151. Abbasihormozi S, Kouhkan A, Alizadeh AR, et al. Association of vitamin D status with semen quality and reproductive hormones in Iranian subfertile men. *Andrology* 2017;5(1):113-8.
152. Neville G, Martyn F, Kilbane M, et al. Vitamin D status and fertility outcomes during winter among couples undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Int J Gynaecol Obstet* 2016;135:172–6.
153. Jiang L, Ji L, Song J, Qian K. The effect of serum vitamin D levels in couples on embryo development and clinical outcomes. *Reprod Biomed Online* 2018; Online Available 26 December 2018.
154. Corbett ST, Stern JE, Sundaram S, Nangia AK. Vitamin D: Is there a role in male infertility? *Fertil Steril* 2004;82:41-4.
155. Breitbart H. Intracellular calcium regulation in sperm capacitation and acrosomal reaction. *Mol Cell Endocrinol* 2002;187(1-2):139-44.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini hiçbir zaman esirgemeyen, tezimin hazırlanmasında en zor durumlarda bile ilgi, anlayış ve duyarlılıkla yaklaşan, değerli hocam ve tez danışmanım Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Esmâ GÜR'e, katkılarından dolayı şükranlarımı ve saygılarımı sunarım.

Değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Melahat DİRİCAN, Sayın Prof. Dr. Yeşim ÖZARDA, Sayın Prof. Dr. Emre SARANDÖL, Sayın Prof. Dr. Zehra SERDAR ve Sayın Doç. Dr. Arzu YILMAZTEPE ORAL'a eğitimime sağladıkları katkılarından ve üzerimdeki emeklerinden dolayı çok teşekkür ederim ve saygılarımı sunarım.

Berber görev yaptığım için çok şanslı olduğumu düşündüğüm her konuda bana yol gösteren ve abilik yapan Dr. Cengiz BOZYİĞİT'e, çok güzel anılar biriktirdiğim Dr. Sena DURMAZPINAR ODABAŞI'na, kısa süreliğine birlikte çalışma imkanı bulsak da tanımaktan memnun olduğum Dr. Aylin BEYAZ'a, Dr. Ayşe İrem BOZKURT'a ve diğer asistan arkadaşlarıma, tüm Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı personeline, Biyokimya Merkez ve Acil Laboratuvarı teknisyenlerine ve elemanlarına yardımları ve destekleri için teşekkür ederim.

Tezimi hazırlamamdaki destekleri için Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Dr. Işıl KASAPOĞLU'na, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Berrin AVCI'ya, Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Güven ÖZKAYA'ya, tüp bebek ünitesinde görev yapan biyolog Elçin TEZCAN'a, Dr. Cihan ÇAKIR'a ve diğer tüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Rotasyon yaptığım tüm anabilim dallarında beraber çalıştığım öğretim üyesi, asistan, teknisyen ve tüm personele teşekkür ederim.

Hayattaki en büyük şanslarımdan, iyi ve kötü günde her zaman yanımda olan, uzakta olsalar da desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen can

dostlarım Buket ALTINTAŞ AKARSU'ya ve Başak ULUSOY'a teşekkür ederim. Bana Bursa'yı sevdiren, her zaman destek olan ve moral veren, çok güzel anılar biriktirdiğim Erkan YILDIRIM'a teşekkür ederim.

Sevgi, güven, ilgi ve destekleri ile bugünlere gelmemde en çok emeği geçen anneme, babama, Bursa'daki en büyük dayanağım, moral kaynağım ablam Bilge'ye, biricik yeğenim Mert'e ve enişteme sevgilerimi sunar teşekkür ederim.

Son olarak bu çalışmaya katılmayı kabul eden tüm kişilere teşekkür ederim.



ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında İvrindi/Balıkesir’de doğdum. İlköğretimi 7 Eylül İlköğretim Okulu’nda ve liseyi Balıkesir Ziraat Bankası Fen Lisesi’nde tamamladım.

2008 yılında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi’ne başladım ve 2014 yılında mezun oldum. 2014 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı’nda başladığım uzmanlık eğitimime halen devam etmekteyim.

