

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**DONMUŞ EMBRİYO TRANSFERİ YAPILAN HASTALARDA SERUM 25-OH-  
VİTAMİN D DÜZEYLERİNİN GEBELİK SONUÇLARINA ETKİSİ**

**Dr. Merve ÇAKIR KÖLE**

**Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**KOCAELİ**

**2017**



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**DONMUŞ EMBRİYO TRANSFERİ YAPILAN HASTALARDA SERUM 25-OH-  
VİTAMİN D DÜZEYLERİNİN GEBELİK SONUÇLARINA ETKİSİ**

**Dr. Merve ÇAKIR KÖLE**

**Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Birol VURAL**

**KOCAELİ**

**2017**



## İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER .....	1
TEŞEKKÜR .....	2
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	3
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	5
TABLOLAR .....	7
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	10
2. GENEL BİLGİLER .....	12
2.1 İnsan embriyo dondurma işlemi.....	12
2.2 D vitamini .....	18
2.3 D vitamininin kadın fertilitesi üzerine etkileri .....	22
2.4 D vitamini ve ART ilişkisi.....	26
2.5 D vitamini ve Gebelik ilişkisi.....	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	29
4. BULGULAR.....	32
5. TARTIŞMA .....	38
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	42
7. ÖZET .....	43
8. ABSTRACT .....	44
9. KAYNAKLAR .....	46

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca cerrahi bilgilerini ve akademik birikimlerini benimle paylaşan değerli Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. İzzet YÜCESOY' a, Perinatoloji Bilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Gülseren YÜCESOY' a

Uzmanlık eğitimim süresince ve tez hazırlığım boyunca her zaman ve her konuda desteğini gördüğüm değerli tez danışmanı hocam Prof. Dr. Birol VURAL' a,

Mesleki tecrübeleri ve bilgilerini paylaşmanın yanında yakın ilgi ve desteğini her zaman hissettiğim, hakkını ödeyemeyeceğim, çok değerli hocam Prof. Dr. Aydın ÇORAKÇI 'ya sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunmayı borç bilirim.

Bilgi ve tecrübelerinden yararlandığımız ve bana her daim yanımda olan ve yardımlarının esirgemeyen, tez yazımında yardımlarını unutmayacağım Anabilim Dalımız değerli hocası ve ağabeyim Doç. Dr. Emek DOĞER' e

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimim boyunca her konuda desteklerini esirgemeyen, deneyim ve yardımlarıyla bu alanda yetişmemde büyük katkısı olan çok değerli hocalarım Prof. Dr. Sebiha ÖZKAN ve Doç. Dr. Ahmet Yiğit ÇAKIROĞLU 'na,

Asistanlık sürecini birlikte geçirdiğimiz beraber mesai harcadığımız ve çok şey paylaştığımız asistan arkadaşlarıma ve mesai arkadaşlarıma,

Beni büyütüp bugüne gelmemi sağlayan, bana ahlaki ve akademik değerler katan sevgili annem Sebahat ÇAKIR ve babam Yunus ÇAKIR' a, kardeşlerim Melike ÇAKIR ve Emre ÇAKIR' a,

Bana attığım her adımda destek olan, hayatıma sevgi, huzur ve renk katan sevgili eşim Dr. Emre KÖLE' ye, şükranlarımı sunmayı bir borç biliyorum.

Dr. Merve ÇAKIR KÖLE

## SİMGELER VE KISALTMALAR

ART:	Yardımlı Üreme Teknikleri
AMH:	Antimüllerian hormon
cm:	santimetre
cc:	cubsantimetre küp
°C:	Celsius
DET:	Donmuş embriyo transferi
dk:	Dakika
DMSO:	Dimethyl-sulphoxide
DNA:	Deoksiribo Nükleik asit
E2 :	Estradiol
FSH:	Folikül stimulan hormon
GnRH:	Gonadotropin releasing hormon
HCG:	İnsan koryonik gonadotropin
HPL:	İnsan plasental laktojen
IFN:	İnterferon
IL:	İnterlökin
IU:	Birim ünite
IVF :	İn vitro fertilizasyon
Kalsitriol:	1,25-dihidroksivitamin D
kg:	Kilogram
l:	Litre
LH:	Luteinizan hormon
mg:	Miligram
ml:	Mililitre
mm:	Milimetre
ng:	nanogram
NK:	Natural killer
OH:	Hidroksil

OHSS: Ovaryen hiperstimulasyon sendromu  
PKOS: Polikistik over sendromu  
pg: Pikogram  
RNA: Ribo nükleik asit  
SULT 2A1: Dihidroepiandrosteron slfotransferaz  
TGF: Tümör büyüme faktörü  
TNF: Tümör nekrozis faktör  
USG: Ultrasonografi  
VDR: Vitamin D reseptörü





## **ŒEKİLLER DİZİNİ**

### **ŒEKİL**

**Œekil 1: DonmuŒ embriyo iŒlemi sırasında buz oluŒumu ve DMSO kullanımı**

**Œekil 2: Dejenere embriyolar ile normal embriyoların görüntüsü**

**Œekil 3: Kolekalsiferol ve ergokalsiferol biyokimyasal yapısı**

**Œekil 4. Vücutta D vitamini metabolizması**



## **TABLO DİZİNİ**

**Tablo 1: Grupların önemli demografik özelliklerinin karşılaştırılması.**

**Tablo 2: Gruplar arasında DET siklusu özelliklerinin karşılaştırılması.**

**Tablo 3: Gruplar arasında gebelik, klinik gebelik, devam eden gebelik, canlı doğum, abortus ve ikiz gebelik oranlarının karşılaştırılması.**

**Tablo 4: Çalışmanın subgrup analizinde, A ve B grupları arasında gebelik, klinik gebelik, devam eden gebelik, canlı doğum, abortus ve ikiz gebelik oranlarının karşılaştırılması.**

**Tablo 5: Gebe kalan olgularda D vitamini ortalama seviyelerinin karşılaştırılması**

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Dünya Sağlık Örgütü'nün güncel verilerine göre infertilite, evli çiftlerin %10-15'ini etkilemektedir. Çoğu infertil çift için gebelik elde etmenin tek yolu yardımcı üreme teknikleridir. Doğal yollardan veya in-utero inseminasyon ile gebelik elde edemeyen çiftler ya da bu yöntemlere uygun olmayan infertil hastalar için in-vitro fertilizasyon (IVF) ideal tedavi yöntemidir.

Günümüzde IVF sikluslarında elde edilen embriyoları taze halde uterusu transfer etmek yaygın bir uygulama olmak ile beraber, transfere uygun yeterli sayıda embriyo elde edildiğinde transfer edilmeyen embriyolar dondurularak saklanabilmektedir. Ayrıca tıbbi nedenler ile embriyo transferi yapılamayan, endometriyal yapının uygun olmadığı, ek uterus patolojilere sahip, transfer sonrası ovarian hiperstimülasyon sendromu gelişme riski olan, preimplantasyon genetik tarama ve tanı uygulanacak olgularda ya da sadece hasta tercihi ile de embriyoların dondurulması ve takip eden aylarda transfer edilmesi giderek yaygınlaşmakta olan bir uygulamadır. Bununla beraber embriyo dondurma, çözme ve transfer etme aşamalarında uygulanması gerek prosedürler henüz net olarak ortaya konulmamıştır ve rehberler hazırlanmamıştır. Bu nedenler ile dondurma – çözme sikluslarında gebelik başarısı halen düşük seyretmekte ve başarının artırılması için yeni yöntemler denenmektedir. Bu değerlendirmelerden bir tanesi kadın hastada serum 25-OH-D vitamini düzeyinin donmuş embriyo transferi (DET) olgularında gebelik sonucuna etkisinin olup olmadığıdır.<sup>1</sup>

D vitamini steroid yapılı bir hormondur. Nükleer reseptörlere bağlanarak hücre çekirdeği üzerine etki gösterir. Reseptörleri uterus ve endometriyumda mevcuttur. Güncel araştırmalar D vitaminin üreme fonksiyonlarda düzenleyici rol oynadığını göstermektedir.<sup>2</sup> Tam olarak açıklanamamış olmak ile birlikte ovarian steroidogenez ve implantasyon için yeterli D vitamini etkisi gerektiği iddia edilmektedir.<sup>58</sup> Hem hayvan deneylerinde hem de D vitamini eksikliğine sahip infertil hastalarda üreme başarısının düşük olabileceği ve abortus oranlarının artabileceğine dair veriler sunulmuş olmak ile birlikte çalışmaların sonuçları açıklayıcı olmaktan uzaktır. Bunun ötesinde IVF sikluslarındaki gebelik başarısı ile serum D vitamini seviyelerinin ilişkisini araştıran yayınların sonuçları oldukça tartışmalıdır.<sup>3</sup> Literatürde IVF sikluslarında serum D vitamini seviyeleri ile pozitif yönde

korele gebelik oranları bildiren çalışmalar olduğu gibi, etkisi olmadığını bildiren çalışmalar ve aksine negatif korelasyon gösterdiğini ne süren çalışmalar da mevcuttur.<sup>4-3-57-92</sup>

Bu çalışmanın amacı donmuş embriyo siklusunun başında kadın hastadan elde edilen serum 25-OH-vitamin D seviyesi normal olan olguların ( $\geq 30$  ng/mL) gebelik başarısı ile yetersizlik/yetmezlik tespit edilen olguların ( $< 30$  ng/mL) gebelik başarısını karşılaştırmaktır. Ayrıca lkemizde vitamin D yetersizliğinin yaygın olması nedeniyle çalışmanın subgrup analizinde D vitamini seviyesi  $\geq 20$  ng/mL olan ve  $< 20$  ng/mL olan olguların gebelik elde etme başarısının karşılaştırılması da amaçlanmıştır. Bu şekilde serum D vitamini seviyesi ile endometriyal reseptivitenin ve implantasyon başarısının etkilenip etkilenmediğinin ortaya konulması hedeflenmiştir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 İnsan embriyo dondurma işlemi

Günümüzde yardımcı üreme tedavilerinde önemli bir parçası olarak donmuş embriyo transferi görülmektedir. IVF programlarında reproduktif kriyoprezervasyonun önemi son yıllarda artış göstermiş olup, önümüzde yıllarda da bu artışın yerini koruyacağı düşünülmektedir. Literatürde gebelik başarı oranları taze embriyo transferinle kıyaslandığında aynı hatta daha başarılı olarak görülmektedir. IVF ve diğer yardımcı yöntemlerde gebelik şansının artırılması amacıyla kontrollü ovarian hiperstimülasyon kullanılmaktadır. Bu yöntemle ortalama 10-12 civarında oosit elde edilmesi hedeflenmektedir. Embriyo transferi sonrasında çiftlerin yaklaşık yarısında dondurulabilecek embriyolar kalmaktadır. Donmuş embriyo programının başlıca avantajı, normal canlı embriyonun atılmaması ve yeniden embriyo elde etmek için ovarian hiperstimülasyona gerek duyulmamasıdır.<sup>5 6</sup>

Edwards ve Steptoe, IVF tedavisinin erken dönemlerinden itibaren fazla olan embriyoların dondurulmasının yararları üzerine dikkat çektiler ancak ilk denemelerinde başarılı olamadılar.<sup>7</sup> 1983 yılında ilk donmuş embriyo transferi ile gebelik başarısı elde edildi.<sup>8</sup> Günümüze kadar birçok yardımcı üreme ilgili merkez bu yöntemle gebelik elde etmiş olup, çoğu kliniğin ayrılmaz bir prosedürü olmuştur.<sup>5 6</sup>

Bazı ülkelerde 2 ila 3 embriyo transferine izin verilmektedir. Geride kalan embriyolar olası başarısızlık durumunda vakit kaybını ve israfı önlemek adına dondurulması önemlidir. Diğer bir DET uygulama alanı da hiperstimülasyon komplikasyonu olan ovarian hiperstimülasyon sendromundan (OHSS) kaçınmaktır. Eğer OHSS riski varsa mevcut oositler toplanır, döllenmesi gerçekleştirilir ve gelişen tüm embriyolar dondurulur. OHSS etkilerinin gebelik ile birlikte alevlendiği düşünülecek olursa, klinik bulgular gerilediğinde transfer sağlanmaktadır.<sup>9</sup>

Keza embriyo transferine engel veya başarısızlığına yol açabilecek bazı durumlarda da embriyo dondurulma işlemi yapılabilir. Bunlar tedavi esnasında görülen endometriumun normal gelişmemesi veya olası bir endometrial polipin olması transferi ertelemek adına, embriyolar dondurulabilir, veya ani gelişen bir hastalık veya bilinmeyen bir hastalığın

tedavisi için transfer ertelenmesi amacıyla embriyolar dondurulabilir. Bazı ülkelerde yasal olan embriyo bağışı da embriyo dondurulmasının başka bir endikasyonudur.<sup>56</sup>

Günümüzde kanser tedavisi için kemoterapi veya radyoterapi almak üzere olan, ve her geçen gün artan kadınlarda infertilite gelişebileceğinden; tedavi öncesi donmuş embriyo elde edilmesi önemlidir. Tabi partneri olmayanlarda ise over dokusu saklanması alternatif olarak öne çıkar.<sup>56</sup>

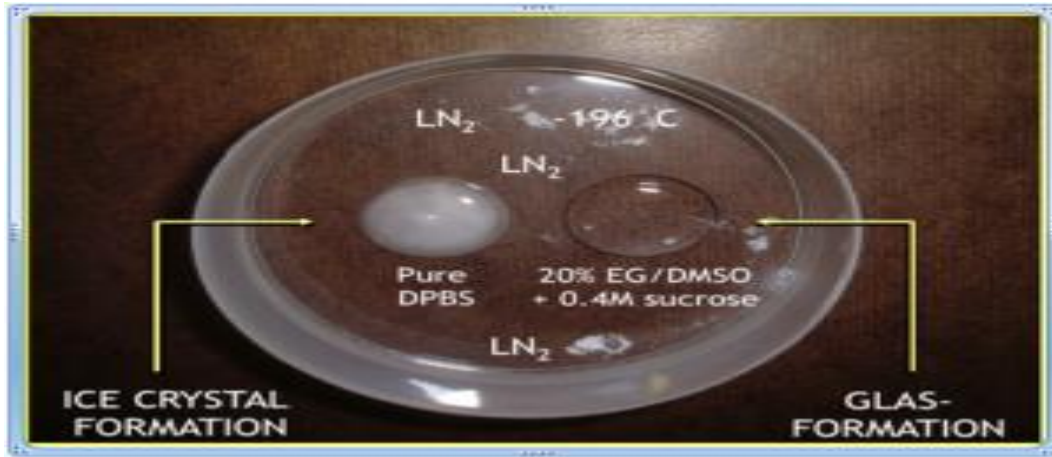
Embriyolar donmuş veya çözünmüş olarak, doğal veya kontrollü olarak hormon verilerek bir siklusla transfer işlemi yapılabilir. Bazı çalışmalarda taze embriyolarla aynı oranda gebelik elde etme şansı olduğu bildirilmiştir.<sup>10</sup> Dondurulmuş embriyoların transferi doğal sıklusta ve ya supresyonlu sıkluslarda yapılabilir. Doğal bir sıklusta tedavi genç ve normal menstrual siklusu olan infertil kadınlarda önerilmektedir. İnfertil bu hastalarda siklusun 10. günü başlanarakta devamlı olarak seri ultrasonografi ile folikül gelişim takibi, seri serum estradiol ve LH ölçümü vede progesteron ölçümü yapılır. LH piki spontan olarak görüldüğü zaman embriyoların transfer işlemi uygulanır.<sup>5</sup> Hormon replasmanı ile yapılan siklus tedavisi ise daha ileri yaş infertil kadınlarda ve düzensiz menstruasyon siklusu olan hastalarda genellikle tercih edilmektedir. Amaç siklusların gonadotropin releasing hormon agonistleri kullanılarak kontrol altına alınmaya çalışılır. Agonistler bir önceki siklusun 21. günü başlanır. Fakat amenoresi olan infertil kadınlarda agonistler siklusun herhangi bir zamanı başlanabilir. Menstruasyonun 2. gününde veya amenoreik kadınlarda 10 günlük supresyon tedavisinden sonra hipofizer baskılanma doğrulanmalıdır. Eğer LH < 5 IU/l, serum estradiol seviyesi < 100 pg/ml, progesteron < 0.5 ng/ml olması ve overler ultrasonografik incelemede sessiz ise antagonist tedavisi azaltılır ve de hormon replasman tedavisine başlanır.<sup>5</sup>

Embriyolar belli aşamalarda dondurulabilir, bunlar pronükleer, erken klivaj veya blastokist aşamalarıdır. Belli evrelerdeki bu dondurma işlemlerinin belli avantajları ve dezavantajları mevcuttur. Soğuğa oldukça duyarlı olan pronükleer evredeki myotik içciklerin hasarlanması söz konusu olmamakla beraber embriyolar kalitatif olarak morfolojilerine göre seçilmeleri olanaksızdır.<sup>11</sup> Erken klivaj evresinde embriyolar morfolojik temelde seçilebilmektedir. Ancak bölünen hücreler muhtemelen mitotik içciklerde hasara uğramalarına ve kromozomal organizasyon bozukluklarının meydana gelmesine neden olacaktır. Sonuç olarak dondurulan embriyoların sayısında azalma

meydana gelecektir.<sup>5</sup> Bir diğerevre olan blastokist evresinde ise embriyo işlemlerinin son aşaması olması nedeniyle invitro kültür sonrası bu aşamaya çok az embriyonun ulaşacağı söz konusudur.<sup>12</sup> Çözülme işlemi sonrası bu farklı evrelerdeki embriyoların yaşam şansları birbirine kıyaslandığında belirgin fark olmadığından, her üç aşamada dondurulma işleminin yapılabilmesine uygun olmalıdır.<sup>11</sup>

Dondurulma işleminde amaç hücre içerisindeki tüm kimyasal reaksiyonları geçici olarak durdurulması amaçlanır. İnsan embriyoları  $-190^{\circ}\text{C}$  de likit halde bulunan nitrojen altında saklanır. Bu derecede oluşabilecek hasarın başlıca nedeni iyonize radyasyon olmakla beraber bu etkisi yüzlerce yılda oluşabilmektedir.<sup>13</sup> Eğer bir embriyoda hasar meydana geliyorsa daha çok soğutulma veya çözülme işlemi sonucu olmaktadır. Soğutma işlemindeki hasar nedenlerine bakılacak olursa bunlardan birincisi buz kristal oluşumu, ikincisi ise su kaybına sekonder olarak ozmotik basınç değişimleridir. Bu hasarların önüne geçilebilmesi için yavaş soğutma (slow cooling) yöntemiyle veya kriyoprotektanlar olan propanediol, dimethyl-sulphoxide (DMSO) veya glycerol ile soğutma işlemi yapılmalıdır.<sup>5</sup>

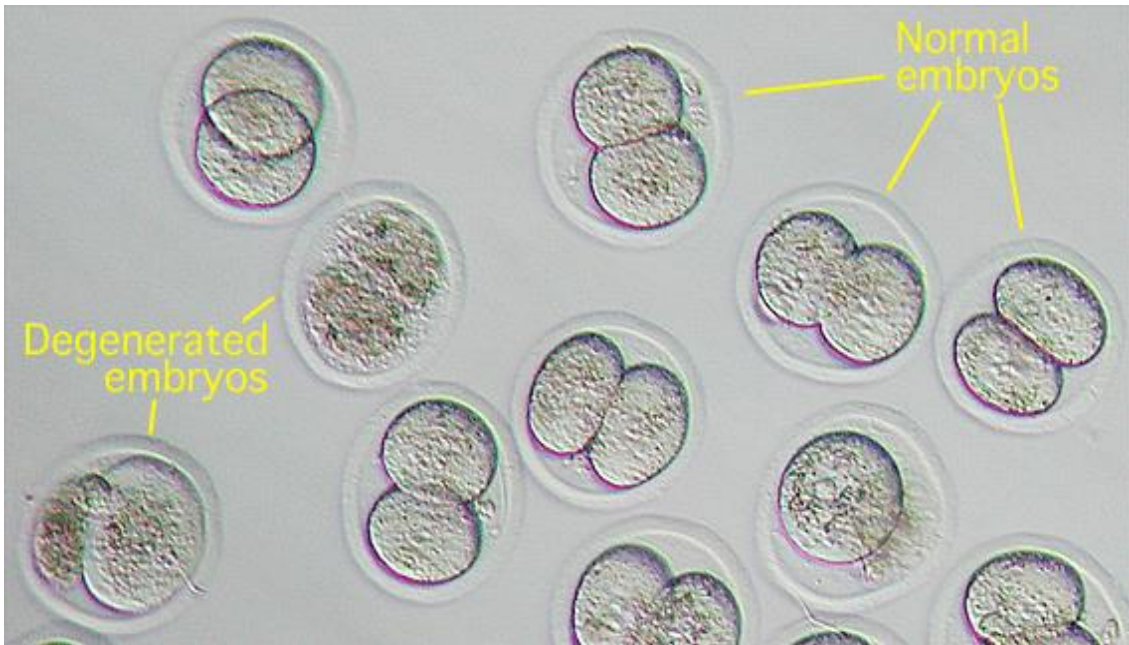
**Şekil 1: Donmuş embriyo işlemi sırasında buz oluşumu ve DMSO kullanımı**



Yavaş soğutma yöntemi ile hücre su kaybı oranı yavaşlatılır. Bu su kaybı aynı zamanda buz kristalleri oluşum riskini azaltmaktadır. Böylece hasar riski de azalmış olmaktadır. Propanediol gibi kriyoprotektanlar hücre içine girerek bu buz oluşumun azalmasına yardımcı olmaktadır.<sup>5</sup>

Günümüzde DMSO toksik bir madde olması ve daha uzun ve komplike bir yöntem gerektirmesi nedeniyle sonuçlarının da kötü olması sonucu farklı soğutma yöntemleri gerektirmiştir. Bunun için erken klivaj evresindeki embriyoların ve pronükleer evredeki embriyoların dondurularak saklanmasıdaki en popüler yöntem olarak propanediol ve sükrözün birlikte kombinasyonudur.<sup>14-15</sup> Blastokistler genellikle gliserol kullanımı ile dondurulurlar. Ancak yavaş dondurma işlemleri genellikle zaman alıcıdır.<sup>5</sup>

**Şekil 2: Dejenere embriyolar ile normal embriyoların görüntüsü**



Embriyo dondurma işlemi 1983 den beri süre gelmektedir ve güvenilir bir tekniktir. İngiltere gelen yayınlarda bu yöntemle gebelik elde edilmesi ve doğan çocuklarda herhangi bir anomali sıklığında artış gözlenmemiştir.<sup>16,17</sup> Embriyoların saklanma süreleri sonuca herhangi bir etkisi olmadığı gözlenmiştir.<sup>18</sup> Embriyo dondurma işlemi memelilerde ilk 1972 yılında uygulanmıştır.<sup>19</sup> İnsanlarda ise 1980 başlarında denenmiştir.<sup>7</sup> İnsanda donmuş embriyo yöntemi kullanılarak elde edilen ilk gebelik 1983 yılında bildirilmiştir.<sup>8</sup> İlk canlı doğum ise 1984 yılında bildirilmiştir.<sup>20</sup>

Embriyo dondurma işleminin en büyük dezavantajı klinik bağlantısı kalmayan infertil çiftlerden kalan embriyoların giderek artmasıdır. Bunun için sahihsiz embriyoların



belli bir yıldan sonra imha edilmesi üzerine çalışmalar olmuştur.<sup>21</sup> Diğer bir sorun ise çiftlerden biri ya da her ikisinin de ölmesi veya boşanması sonrası ortaya çıkan embriyoların etik olarak sorun yaratmasıdır. Aynı zamanda bu depolama ve saklama işlemlerinin maliyetlerinin yüksek olması da dezavantajlarından biridir.<sup>5</sup>

Dondurulma sırasında elde edilen embriyolara zararlı olabilecek riskli durumlar ise kültür ortamında biyokimyasal kontaminasyonların oluşması, embriyo içerisinde buz kristallerinin oluşması, kriyopektektanların toksik etkileri, çözülme işlemi sırasında oluşabilecek zararlar, embriyoların fiziksel olarak zarar görmesi ve de sıvı nitrojen içerisinde saklanan embriyolardaki olası DNA hasarları olarak özetlenebilir.<sup>22</sup> Bununla beraber dondurma işlemi mutajenik bir işlem olduğu söz edilemez.

Yapılan çalışmalarda dondurma işlemi sonrası elde edilen gebeliklerde düşük doğum ağırlığı ve erken fetal kayıplarla ilişkilendirilmekle beraber, IVF sonrası çoğul gebeliklerin artması ve hatta tekil gebeliklerin bile normal spontan gebeliklere göre zor prosedürler nedeniyle olduğu düşünülmektedir.<sup>22-23</sup> Trizomi 13, 18, ve 21 gibi major kromozomal anomali riskinin dondurulmuş embriyo transferinde artmış olarak tespit eden çalışmalar mevcuttur.<sup>24-25</sup> Ancak daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda yapılan retrospektif inceleme sonucunda herhangi bir fark gözlenmemiş, tam tersine normal IVF gebeliklerinde donmuş embriyo transferli gebelere göre daha fazla anomalili fetus gözlenmiştir.<sup>26</sup> Ancak her iki çalışmada da abortlar, kimyasal gebelikler hesaplanmaması önemli bir eksikliklerdir.

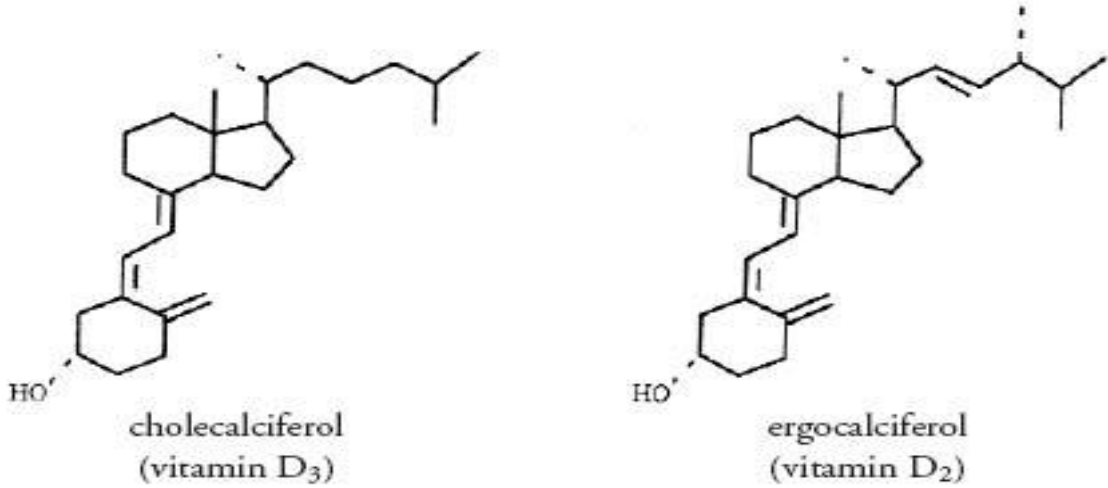
Sonuç olarak dondurma işleminin olası riskleri ve dezavantajlarının kanıtlayacak yeterli veri ve bulgular net olarak belirlenememiştir.<sup>6</sup>

Embriyoların çözme işlemi ise, dondurulmuş tüplerin 30° C lik su banyosunda 30 ila 90 saniye bekletildikten sonra oda sıcaklığında yaklaşık 5 dk bekletilir. Embriyolar azalan konsantrasyonlardaki dondurma çözelti sıvılarından geçirilir. En son olarak defalarca yıkama işlemi uygulanır ve transfere kadar inkübe edilir.<sup>27</sup>

## 2.2 D Vitamini:

Genel olarak bakıldığında çoğu vitaminler vücutta yapılmayıp dışarıdan alınır ve enzim tepkimelerinde koenzim gibi yardımcı bir rol oynayan bileşiklerdir. Hem ekzojen olarak alınabilir hem de endojen olarak üretilebilir.<sup>28</sup> Vücutta başlıca ciltte üretilmekte olan D vitamini steroid yapılı bir hormon olup yağda çözünmektedir. Ekzojen alımı temel olarak bitkilerde mevcut olan ergokalsiferol ve hayvansal gıdalarda bulunan kolekalsiferol yoluyla D vitamini alınmaktadır.<sup>29</sup> Hayvansal gıdalarda bakılacak olursa en fazla görüldüğü gıdalar yumurta sarısı, sığır karaciğeri, balık yağı, zenginleştirilmiş süt ve süt ürünlerinde bulunmaktadır.<sup>30</sup>

Şekil 3: Kolekalsiferol ve ergokalsiferol biyokimyasal yapısı

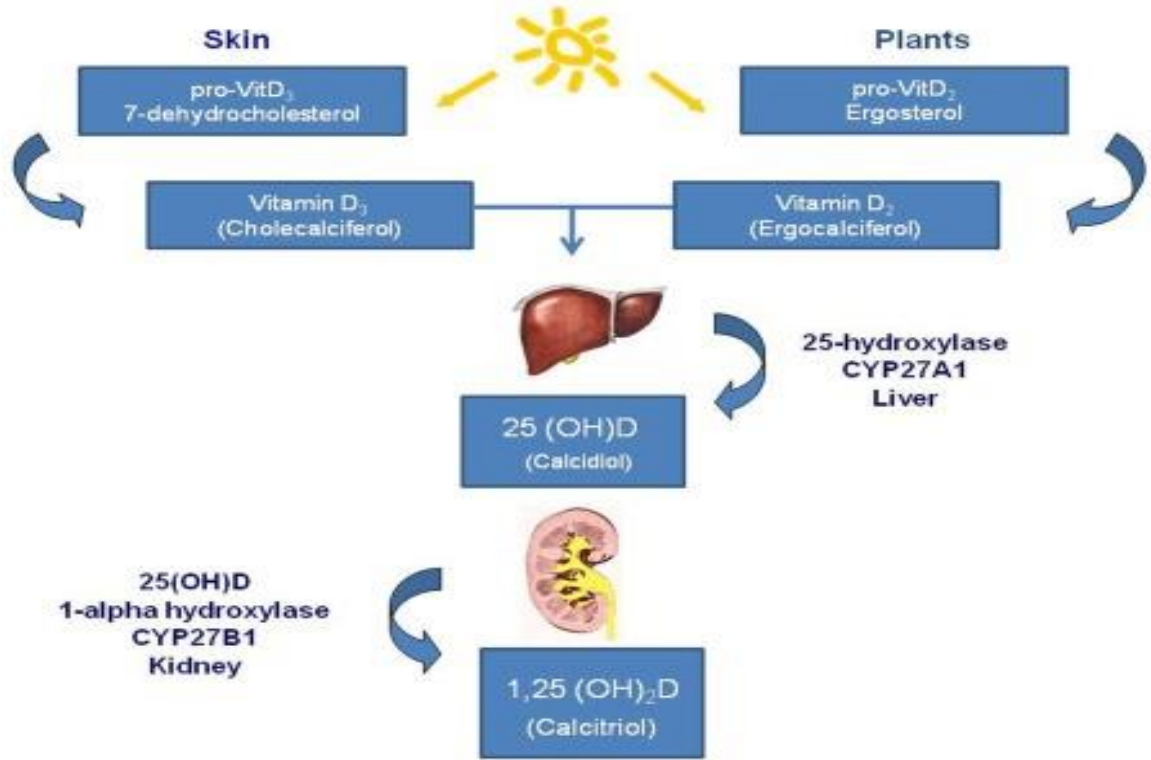


D vitamini insan vücudunda klasik bir vitamin gibi görev yapmasının yanı sıra daha birçok sistemde hormon olarak görev yapmaktadır. D vitamini vücutta birçok sistem üzerinde etkilerinin olması nedeniyle insanlar için en önemli vitaminlerden biridir.<sup>31</sup> D vitamini kemik metabolizması ve kalsiyum-fosfor dengesinde önemli rolü vardır. Bunun dışında immün sistem, kemik iliği, kas, kalp, sinir sistemi ve magnezyum metabolizması üzerinde de etkileri mevcuttur. D vitamininin aynı zamanda birçok kanser tipinin,

obezitenin, otoimmün, kardiyovasküler, enfeksiyöz hastalıkların ve infertilitenin önlenmesinde gerekli olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir.<sup>32</sup>

D vitamini vücutta iki temel şekilde bulunmaktadır. Bunlardan ilki Vitamin D<sub>3</sub> veya kolekalsiferoldür. Kolekalsiferol güneş ışığı veya ultraviyole ışını etkisiyle deride yapılmaktadır. Vitamin D<sub>3</sub> yaz aylarında ciltte yapılmakta veya besinsel kaynaklar ile alınmaktadır. İleri yaş, esmer tenli cilt, güneş koruyucuların kullanımı ya da kapalı giyim yapımını yetersiz olmaktadır. Diğer şekli ise vitamin D<sub>2</sub> veya ergokalsiferoldür. Ergokalsiferol güneşe maruz kalan bitkilerle veya içerikleri ve yiyeceklerle alınan şeklidir.<sup>33</sup> Kolekalsiferol karaciğerde 25 hidroksikolekalsiferole 25- hidroksilaz enzimi ile dönüşür. Daha sonra böbreklerde 1,25-dihidroksivitamin D (kalsitriol)'e hidroksillenir. Kalsitriol aktif bir metabolit olup, barsaktan kalsiyum emilimini artırışa neden olmaktadır. Kalsitriol yeterli düzeye eriştiğinde, bunun üzerine eklenen kısmı böbreklerde 24,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> şekline dönüştürülerek metabolize olur.<sup>33</sup>

Şekil 4: Vücutta D vitamini metabolizması



Sonuç olarak diyetle alınan ve endojen olarak ultraviyole maruziyeti sonrası 7 dehidrokolesterolden üretilen kolekalsiferol hidroksilasyon yoluyla aktif forma dönüşür.<sup>33</sup> D vitamini karaciğerde depo edilmektedir. D vitamini yapımı negatif feedback mekanizması ile kontrol edilmektedir. Kalsitriol D vitamini eksikliğinde etkisiz halde bulunan sitokrom P-450 enzimleri kalsitriol ile tetiklenir ve 24 hidroksilaz enzimi ile metabolize edilir. Dolaşımda uzun süre kalsitriol bulunduğunda kalsitriolü metabolize eden enzimlerin aktivitesi artar ve gelişen hipokalsemi sonucu parathormon yükselir.<sup>34</sup>

1,25-dihidroksivitamin D vitaminin yarı ömrü çok kısa olup yaklaşık olarak 4-5 saat kadardır. Bu yüzden ki D vitamini düzeyini belirlemek için uygun bir biyokimyasal belirteç değildir. 25 hidroksikolekalsiferolün yarı ömrü daha uzun olup yaklaşık olarak 2-3 hafta civarındadır. Bu nedenle 25 hidroksikolekalsiferol klinik kullanımda D vitamini düzeyini belirlemek için kullanılır.<sup>35 36</sup>

D vitamininin ana taşıyıcı proteini olan D vitamini bağlayıcı protein karaciğer tarafından üretilir. Dolaşımdaki total 25 hidroksikolekalsiferolün %85-90 oranında D vitamini bağlayıcı protein'e bağlanır. D vitamini bağlayıcı protein ile taşınmayan kısım %10-15 albümin ile, %1'den az olarak da serbest formda taşınır ve biyoaktif vitamin D olarak bilinir.<sup>36 37</sup> D vitamini bağlayıcı protein, D vitamininin bazı etkilerini inhibe eder, çünkü D vitamini bağlayıcı protein bağlı D vitamini hedef hücreler üzerine etkileri olmamaktadır. Bunun yanında D vitamini bağlayıcı protein, D vitamininin yarı ömrünün uzaması sağlar. D vitamini bağlayıcı protein aynı zamanda D vitaminin glomerüler filtrasyonunun azalmasını sağlar.<sup>38</sup>

D vitamini metabolitlerine, 24-hidroksilaz enzimi ile ayrılır. Kalsitriol aside dönüştürülür ve vücuttan uzaklaştırılır.<sup>39 40</sup> D vitamini vücuttaki etkilerini Vitamin D reseptörü (VDR) aracılığıyla gösterir. Retinoid X reseptörü ile vitamin D reseptörü heterodimer oluşturarak DNA-subunitine bağlanır. Bu bağlanma sonucunda çeşitli fizyolojik işlemlerden sonra gen ekspresyonu indüklenir.<sup>36 41</sup> D vitamini reseptörü vücutta bağışıklık hücreleri, keratinositler, pankreatik beta hücreleri, kardiyak miyositler, merkezi sinir sistemi, renal tübül ve bağırsak gibi birçok dokuda eksprese edilir.<sup>42 43</sup> 1,25-dihidroksivitamin D ince bağırsak epitelinde Vitamin D reseptörü (VDR) ile etkileşir. Etkileşim sonucunda barsaktan kalsiyum ve fosfor emilimini artırır.<sup>44</sup> Kemiklerdeki osteoblastlar üzerindeki vitamin D reseptörü ile etkileşim sonucu osteoblastlardan

osteoklasta dönüşüm artar.<sup>45</sup> Vücuttaki osteoklastların fonksiyonu ise kemik matriksinin çözünmesi ile açığa çıkan kalsiyum depolarının dolaşıma mobilizasyon meydana gelmektedir. Bunun sonucunda kalsiyum dolaşım ve vücutta hemostazının korunması sağlanmaktadır. Kemik matriksinin osteoklastlar tarafından çözünmesi kemik şekillenmesinin (remodelling) önemli bir parçasıdır ve bu nedenle D vitamini eksikliğinin hastalarda kemik mineralizasyon kusur oluşur. İyonize kalsiyumun serum düzeylerinde azalma sonucu sekonder hiperparatiroidizm gelişir. Parathormon, fosforun üriner sistemden atılımını artırarak mineralizasyon kusurunu daha da artırır.<sup>36 37</sup> D vitamini eksikliği olan hastalarda, kemik kollajen matriksin kusurlu mineralizasyonu sonucunda osteomalazi meydana gelir.<sup>35 36</sup>

D vitamininin immun sistem üzerindeki kompleks etkileri mevcuttur. Vitamin D reseptörü immun sistem hücrelerinden, özellikle aktif T lenfositler ve dendritik hücrelerden fazlaca eksprese edilir. Bunun dışında monosit, makrofaj, sitotoksik natural killer (NK) hücreleri ve B lenfosit gibi hücrelerden de eksprese edilir.<sup>43 46</sup> Proinflamatuvar sitokinlerin olan IL-2, IL-3, TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$  oluşmasını azaltır. Antiinflamatuvar sitokinlerin olan IL-4, IL-5, IL-10 ve TGF- $\beta$  oluşmasını ise artırır.<sup>43 46</sup> D vitamininin eksikliği ile immun ve otoimmün hastalıklar arasındaki bağlantıyı açıklayabilir.<sup>44 45</sup>

D vitaminin etkileri solunum sisteminde de etkilidir. Keza astım hastalığında, ileri düzey D vitamini yetersizliğinde astım ataklarının şiddetinde artış olduğunu destekleyen çalışmalar vardır.<sup>47</sup> 25 hidroksikolekalsiferol düzeylerinin kolorektal kanserler ile ilişkili olduğunu üzerinde durulan çalışmalar mevcuttur.<sup>48</sup> Obezite hastalarında Vitamin D eksikliği ya da yetmezliğinin olduğunu destekleyen veriler çalışmalarda gösterilmiştir. Erişkin obezitesinin 25 hidroksikolekalsiferol düzeyleri ile ters orantılı olduğu ve adipogenezin 1,25-dihidroksivitamin D ile inhibe olduğu ileri sürülmüştür.<sup>49</sup> D vitamini eksikliğinin az olduğu, güneş ışınları açısından bol olan ekvator bölgesindeki epidemiyolojik verilere göre koroner arter hastalığı, hipertansiyon, diyabet gibi hastalıkların sıklığı nispeten azdır.<sup>50</sup>

Bazı çalışmalarda, kandaki D vitamini düzeyleri ile polikistik over sendromunun semptomları olan insülin direnci, infertilite ve hirsutizm arasında bir ilişki olduğunu gösterilmiştir.<sup>51 52</sup> Çalışmalarda D vitamini düzeylerinin, polikistik over sendromu olan ve olmayan kadınlarda net bir veri yoktur. Bazı çalışmalarda herhangi bir farklılık

gösterilememiş<sup>53</sup>, bazı çalışmalarda polikistik overli kadınlarda düzeyleri daha düşük<sup>54</sup> ve bazılarında ise daha yüksek<sup>55</sup> düzeylerde olduğunu gösteren raporlar da vardır.

Günümüzde D vitamininin üreme fonksiyonunda önemli rol oynadığına dair çalışmalarda çoğalmaktadır. Vücutta overde, endometriyumda ve plasentada vitamin D reseptörü bulunmaktadır.<sup>56</sup> D vitamini eksikliği, PKOS' lu kadınlarda foliküler arrest gelişimine katkıda bulunan, adet ve fertilité ile ilgili fonksiyon bozukluklarına yol açan kalsiyum bozukluğu ile ilişkilendirilmektedir.<sup>57</sup> Vitamin D reseptörü olmayan mutant farelerde bozulmuş bir folikülogenez olduğu görülmüştür.<sup>58</sup>

### **2.3 D vitamininin kadın fertilitésini üzerine etkileri**

Dünyada yaklaşık 48 milyon çifti psikolojik, medikal, ekonomik yönden etkileyen infertilite; halk sağlığı alanında sıcak bir konudur. Polikistik over sendromu ve endometriozis kadın infertilitesinin ana nedenlerinden biridir ve invitro fertilizasyon bu probleme bir çözüm sunmaktadır. Kadın fertilitésinde vitamin D nin potansiyel rolü insan ve hayvan çalışmaları ile aydınlatılmaya çalışılmaktadır.<sup>59</sup>

İnvitro çalışmalar, hayvan deneylerinde vitamin D reseptörü fare östrojen siklusunda endometrium, overler ve fallop tüplerinde aynı zamanda gebe farelerin plasenta ve desidua tabakasından eksprese olmaktadır.<sup>30 60</sup> Vitamin D' nin ovarian steroidogenezi indüklediği hayvan modellerinde gösterilmiştir.<sup>61</sup> Vitamin D dihidroepiandrosteron sülfotransferaz (SULT 2A1) transkripsiyonunu artırır.<sup>62</sup> SULT2A1 endojen hidroksisteroidlerin sulfokonjugasyonuna aracılık eder. Ayrıca kalsitriolün granüloza hücre kültüründe antimüllerian hormon mesenger RNA ekspresyonunu önemli derecede azalttığı fakat FSH reseptör genini artırdığı saptanmıştır. Bu veriler ışığında vitamin D' nin foliküler gelişimde ve folikül seçiminde pozitif rolü olduğunu işaret eder.<sup>63</sup>

İnsan hücreesindeki invitro çalışmalarda vitamin D reseptörü over dokusu ve plasentada eksprese olmaktadır.<sup>64</sup> Kalsitriol varlığında insan ovarian hücrelerinde ovarian steroidogenezi yani progesteron, estradiol ve estron üretimi stimüle olmaktadır. Böylece vitamin D<sub>3</sub> ün insan granüloza hücre kültüründe 3B-HSD mesenger RNA seviyelerini artırarak progesteron salınmasını neden olduğu gösterilmiştir. Hayvan model çalışmaları ile paralel olarak invitro insan model çalışmaları vitamin D nin SULT2A1 enzimini artırdığını göstermiştir.<sup>62</sup> Vitamin D AMH ile birlikte over rezervi ile ilişkilidir. İlginç

olarak AMH promonter bölgesi vitamin D reseptör E içermektedir. <sup>65</sup> Sonuç olarak insan granüloza hücrelerinin vitamin D<sub>3</sub> ile tedavisini AMH R2 ve FSH reseptör mesenger RNA seviyelerine önemli derecede azaltmıştır. <sup>66</sup> AMH İnsan granüloza hücrelerinin gelişimine inhibitör olarak etkilidir. Vitamin D tedavisinin AMH ekspresyonunu azaltması bu hücrelerinin diferansiyasyonunda vitamin D nin yararlı etkisini yansıtmaktadır. <sup>65</sup>

İnvitro çalışmalarda endometriozis alanında elimizde sınırlı veriler bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada endometriotik stromal hücrelerin kalsitriol ile tedavisini IL-B1 ve TNF- $\alpha$  yı baskılayarak IL-8 mesenger RNA ekspresyonunu ve prostoglandin aktivitesini azaltarak inflamatuvar süreci indüklediği gösterilmiştir. Böylece endometriotik stromal hücrelerin sayısı azalmıştır. Bu sonuçlar endometriozisin inflamatuvar sürecinde vitamin D nin potansiyel immunmodülatör rolünü göstermektedir. <sup>67</sup>

IVF' da invitro çalışmalar tekrarlayan implantasyon başarısızlığı (3 yada daha fazla başarısız IVF siklusu) olan kadınların endometrial hücrelerinde sitokin (IL-6, IL-8, IL10 ve TGF $\beta$ ) üretiminde vitamin D nin rolü araştırılmıştır. Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan kadınlar ve normal fertil kadınların tüm endometrial hücreleri ve endometrial stromal hücreleri kalsitriol ile tedavi edilmiştir. <sup>68</sup> Kalsitriol tedavisinden sonra bu hücrelerdeki sitokin üretiminin özellikle IL-6 üretiminin azalarak, implantasyon sürecine olumlu etkisi gözlenmiştir. Bununla birlikte açıklanamayan tekrarlayan spontan düşükleri olan kadınlarda kalsitriol down regülasyonu interferon  $\gamma$  artmasını, buda TGF  $\beta$  nin artmasına neden olmaktadır. Keza stromal endometrial hücreler 1 $\alpha$  hidroksilazı eksprese ettiklerinden dolayı vitamin D nin aktif formunu üretebilmektedir. Bu veriler ışığında implantasyon sürecinde kalsitriolün rolü net olarak gösterilememiş olup anlaşılabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. <sup>69</sup>

Fetoplasental ünite de sinsityotrofoblastlardan HCG üretimine, <sup>70</sup> östrojen ve progesteron sentez ve stimülasyonuna kalsitriolün rolü gösterilmiştir. Ayrıca HPL ekspresyonunun kalsitriol tarafından regüle edildiği raporlanmıştır. <sup>71</sup> İnsan term plasental trofoblastlarda calbindin- D28k' nin ekspire edildiği bulunmuş; calbindin- D28k' nin kalsiyum transferi yada insan trofoblast hücrelerinin gelişimi ile ilgili olduğu düşünülmektedir. <sup>72</sup> Yakın zamanlı bir çalışmada da insan ekstravillöz trofoblastların invazyonunda vitamin D' nin direk olumlu etkisi olduğu gözlenmektedir. Vitamin D eksikliği yetersiz ekstravillöz trofoblastların invazyonuna bağlı olarak preeklamsi ve fetal



büyüme kısıtlılığı riskini artırdığı düşünülmektedir. Optimal vitamin D seviyesi bu komplikasyonları önlemektedir.<sup>73</sup> Kalsitriol ile kültüre edilen insan endometrial stromal hücreler HOXA 10 gen ekspresyonunu artırdığı gözlenmiştir. HOXA 10 geni embriyo implantasyon sürecinde önemli rol oynamaktadır.<sup>74</sup>

Hayvan çalışmalarından elde edilen veriler vitamin D nin kadın üreme sistemindeki rolü için direk yada dolaylı kanıtlar sunmaktadır. Diyet ile vitamin D eksikliği yapılan dişi sıçanlarda, vitamin D replasmanı yapılan dişi sıçanlara göre fertilité %75 oranla azalmıştır. Bununla birlikte vitamin D seviyesi eksik olan sıçanların yavruları küçük boyutta gözlenmiş ve neonatal süreçte gelişim geriliği ile karşılaşmakta olduğu rapor edilmiştir. Bozulan fertilité oranları azalan döllenme ve artan gebelik komplikasyonları ile ilişkilendirilmiştir.<sup>75</sup>

Vitamin D reseptör geni olmayan ( VDR -/ - mutant fareler) farelerde hasarlı kemik oluşumu ve büyüme geriliği dışında uterin hipoplazi ve hasarlı folikülogenez tespit edilmiştir. Östrojen replasmanı ile uterus ağırlığında artış, östrojen sentez mekanizmasında vitamin D reseptörünün potansiyel rolünü göstermektedir.<sup>58</sup> Bununla birlikte VDR -/ - mutant farelerde overlerde aromataz aktivitesi ve CYP 19 geni ekspresyonu azalma gösterilmiştir. Buda FSH ve LH seviyelerinin artmasına ve hipergonadotropik hipogonadizme neden olmaktadır. Bu veriler ışığında vitamin D nin normokalsemik düzeyin devamlılığında, östrojen biyosentezinde ve aromataz gen ekspresyonunda potansiyel rolü olduğu sonucuna varılmıştır.<sup>76</sup>

Hayvan çalışmalarında cerrahi olarak indüklenmiş endometriozisi olan sıçan modellerinde; vitamin D tedavisi ile endometrial implantların küçüldüğü saptanmıştır.<sup>77 78</sup> Fare modellerinde ise vitamin D reseptörü agonisti olan elokalsitriolün endometriozis gelişimini inhibe ettiği gösterilmiştir.<sup>79</sup>

Vitamin D ve polikistik over sendromu arasındaki ilişkiye bakıldığında bu sendromun patogenezinde vitamin D nin rolü hiperinsülinemi ve insülin direncine etkisi ile ilişkilendirilmiştir. Vitamin D ve insülin direnci arasındaki potansiyel mekanizma;

- 1) Vitamin D insülin reseptör ekspresyonu ve insülin cevabını artırarak etki gösterir.<sup>80</sup>
- 2) 1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> ; insan insülin genindeki vitamin D reseptör E transkripsiyonunu aktive eder.<sup>81</sup>



- 3) İnsülin aracılı olaylarda vitamin D intraselüler ve ekstraselüler kalsiyumu düzenler<sup>80</sup>
- 4) Antiinflamatuvar süreçte rol oynar.<sup>82</sup>

Bununla birlikte birçok polikistik over hastası aşırı kilolu ve obez hastalardır. Obezite düşük 25(OH) D seviyeleri ile ilişkilidir, yağ dokusundaki vitaminlerin sekestrasyonunun azalması ile de bağlantılıdır. Vitamin D eksikliği obeziteden bağımsız olarak insülin direnci riskini artırır.<sup>83</sup> Birçok gözlemsel çalışmada, 25(OH) vitamin D seviyesi ile metabolik ve endokrin parametreler arasındaki bağlantı araştırılmıştır. Polikistik over sendrom olan kadınlar ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında 25(OH) vitamin D seviyeleri düşük bulunmuştur.<sup>83</sup>

Endometriozis üreme çağındaki %5-10 kadını etkiler. Ana klinik özelliği pelvik ağrı, dismenore, disparoni ve infertilitedir. Endometriozisin patogenezi net anlaşılamamıştır, endometrial implantların surveyi immün ve inflamatuvar cevabın değişmesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.<sup>84</sup> Vitamin D ve endometriozis arasındaki ilişki;

- 1) İnsan endometriumu vitamin D reseptörü ve 1 $\alpha$  hidroksilaz eksprese olur.<sup>85</sup>
- 2) Vitamin D immün modülatuar etkiye sahiptir. Makrofaj, dentrik hücreler ve lenfosit hücreler vitamin D reseptör eksprese ederler. Mikrobial ajanların destruksiyonu, antijen prezentasyonunu ve dentritik hücrelerin matürasyonunu vitamin D nin aktif metaboliti olan 1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> yapar.

Bununla birlikte lenfositlerin antiproliferatif etkisinde rol oynar. T helper 1 hücrelerin T helper 2 fenotipine kaymasını aktive eder.<sup>30 82</sup> Son yayınlanan bir veride vitamin D seviyesi ve endometriozis arasında zıt bir ilişki olduğu saptanmıştır. Yüksek 25(OH) vitamin D seviyesine sahip olan kadınlar % 24 daha düşük endometriozis riskine sahiptir.<sup>86</sup> Geniş prospektif bir çalışmada vitamin D seviyesi yüksek günlük yiyecekler tüketiminde endometriozis ile düşük ilişkisi olduğunu göstermiştir. Benzer bir şekilde bir çalışmada ciddi endometriozis olan hastalarla orta endometriozisi olan hastalar karşılaştırıldığında ciddi endometriozisi olan hastalar düşük 25(OH) vitamin D seviyesine sahiptir.<sup>67</sup> Yakın zamanda yapılan bir çalışmada overde tek endometrioması olan 49 kadından 25(OH) vitamin D hipovitaminozis yüksek orana sahiptir. Bu verilerle endometriozisin patogenezinde vitamin D nin olası etkisi endometrial mikroçevrede

otokrin ve parakrin mekanizmalarla açıklanmaktadır. Vitamin D adjuvan terapisinin endometriozis tedavisinde rolü vardır yada sadece çelişkili bir faktördür.<sup>87</sup>

Sonuç olarak birçok in vitro insan ve hayvan çalışması vitamin D ve kadın fertilitesi arasında güçlü bir bağlantı olduğuna işaret eder. Çalışmaların sonucu endometriozisin patogenezinde ve önlenmesinde rolü olduğunu, IVF sonuçları ile ilişkisi olduğunu göstermiştir. Ayrıca vitamin D takviyesi, polikistik over sendromlu hastaların metabolik ve özellikle üreme sisteminde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir. Fakat bu veriler fertilitate ve vitamin D seviyeleri arasında neden sonuç ilişkisini kurmaya yeterli değildir.

Kadın üreme sağlığı ve fertilitesi için optimal vitamin D seviyesi ile ilgili herhangi bir ortak görüş yoktur. Ve IVF tedavisi alan hastaların vitamin D seviyesi rutin olarak ölçülmesinin gerekliliği konusu tartışmalıdır. Endometriozis ve PCOS ta vitamin D takviye tedavisi verilmesi halen cevap bekleyen bir sorudur.<sup>83</sup>

#### **2.4 D vitamini ve ART ilişkisi**

Vitamin D nin yardımcı üreme tedavisi sonuçlarına (klinik gebelik ve canlı doğum) olası etkisi birçok çalışma ile değerlendirilmiştir. Fakat veriler tutarsızdır ve vitamin D nin IVF başarısındaki rolünün tanımlanması zordur. İlk deneysel çalışmada vitamin D seviyeleri ve IVF sonuçları arasındaki bağlantı, vitamin D seviyesi yeterli olanlar ile eksik vitamin D si olanlar karşılaştırıldığında vitamin D seviyesi yeterli olanlar yüksek gebelik oranlarına sahiptir.<sup>57</sup> Yüksek vitamin D seviyelerinin IVF sonuçlarına olumlu etkisi endometriuma olan etkisi aracılığıyla olduğu düşünülmektedir. Çünkü vitamin D nin ovarian parametreler ile önemli bir ilişkisi yoktur.

Birçok çalışma yüksek vitamin D düzeyleri ile IVF sonuçları arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermiştir.<sup>88 89</sup> Yakın zamanlarda vitamin D eksikliği (20 ng/ml nin altındaki) siklusun 5. günündeki tek embriyo transferi yapılan kadınlardaki gebelik başarısını araştıran birçok çalışma, vitamin D eksikliğinin endometrial reseptörler üzerine zararlı etkileri ve düşük klinik gebelik oranları arasındaki ilişkisi gösterilmiştir.<sup>90</sup> Başka bir çalışmada foliküler sıvıdaki yüksek 25 hidroksi D vitamini seviyeleri, foliküler sıvıdaki düşük glukoz düzeyleri ile birlikte zayıf embriyo kalitesi ve negatif IVF sonuçlarına neden olduğu saptanmıştır.<sup>91</sup> Bu veri oosit seviyesinde D vitaminin negatif rolünü

göstermektedir.<sup>57-90-92</sup> Halbuki daha önceki çalışmalarda vitamin D eksikliğinin endometriyumun üzerine negatif etkileri raporlanmıştı. Ek olarak yapılan 2 çalışmada, serum ve folikuler sıvı vitamin D düzeylerini implantasyon ve gebelik oranları arasında önemli bir ilişki gösterilememiştir. Ayrıca öploid embriyo transferi, donmuş embriyo transferi sonrası klinik gebelik sonuçları, oosit alıcılarını klinik gebelik sonuçları ile vitamin D seviyesi arasında bir bağlantı kurulamamıştır.<sup>2 93 94</sup> Yeni yayınlanan bir metaanalizde de vitamin D ve IVF sonrası klinik gebelik sonuçları arasında bir bağ gösterilememiştir.<sup>95</sup> Şimdiye kadar yapılan çalışmaların heterojen olması, birbirleri ile farklı sonuçlara ulaşması vitamin D seviyesi ve IVF başarısı arasındaki ilişkiyi anlayabilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu göstermektedir.<sup>90</sup>

Yapılan başka bir çalışmada ihtimallerden biri de vitamin D eksikliği ve anöploidi arasındaki ilişkinin telomer biyolojisine dayanabileceğidir. Telomerler yüksek nükleoprotein yapısındadır ve kromozomların sonunda bulunur.<sup>96</sup> Genomun hasarlanmasını engellemekten istenmeyen rekombinasyonlardan ve kromozomal füzyonlardan koruyarak, kromozomal dengesizliklere, gen amplifikasyonlarına, resiprokal olmayan translokasyonlardan ve değişen gen ekspresyonların engellenmesinden sorumludur.<sup>97</sup> Üreme çağındaki kadınlarda telomer teorisi fetal oogenezden erişkin overe geçerken telomerlerin progresif kısalmasıdır. Ek olarak polar cisimcikteki kısa telomer uzunluğu ile IVF tedavisi alan hastalardaki anöploid embriyolar arasında direkt bağlantı vardır.<sup>98</sup> Telomer biyolojisi ve vitamin D arasındaki ilişki serum 25 hidroksi D vitamini ve lökosit telomerleri arasında pozitif bir ilişki olmasına dayanmaktadır.<sup>99</sup> Obez, afro Amerikan hastalara vitamin D tedavisi verildiğinde periferik mononükleer hücrelerde telomeraz aktivitesini arttığı gözlenmiştir.<sup>100</sup> Ayrıca en az 6 ay boyunca kalstriol tedavisi verilen hastalar ile tedavi almayan hastaların karşılaştırılması sonucunda, tedavi alan hastalarda daha uzun telomer gözlenmiştir.<sup>101</sup> Vitamin D seviyesinin overde telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesi ile bağlantılı olduğu, böylece IVF tedavi sonuçları ve anöploidi oranları ile ilişkisi olabileceği gösterilmiştir.<sup>100 101</sup>

## **2.5 D vitamini ve Gebelik ile ilişkisi**

Türkiye’ de yaygın olarak görülen D vitamini eksikliği gebelikleri de etkilemektedir. Son yapılan çalışmaların ışığında farklı bölgelerde % 80 ila % 85’e varan vitamin D yetmezliği gözlenmiştir.<sup>102-103</sup> İntrauterin dönemde fetusun ihtiyacı olan

kalsiyumun karşılanması için gebelikte 1 $\alpha$  hidroksilaz aktivitesinin artışıyla aktif D vitamini sentezi artmaktadır. Bu durum karşısında D vitamini depoları azalmaktadır. Bunun sonucunda gebelikte olan D vitamini eksikliği anneden çok bebeği etkiler. <sup>104</sup> Son yıllarda yapılan çalışmalarda gebelikte görünen düşük vitamin D düzeyi, preeklampsi için risk faktörü olduğunu gösterilmiştir. <sup>49</sup>

Bazı çalışmalarda gebelikte vitamin D eksikliğiyle artmış sezaryen oranları arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Bunun yanında başka çalışmalar bu sonucun maternal vitamin D düzeylerinden bağımsız olduğunu yönünde bilgi içermektedir. <sup>105</sup> Yapılan çalışmalarda gebelik döneminde 800-1600 IU/gün D vitamini replasmanı, serum 25(OH)D düzeylerinin normal olmasını sağlamadığı gösterilmiştir. Keza günde en az 2000 IU/gün D vitamini takviyesi yapılması antenatal bakımın önemli bir parçası haline gelmesi önerilmiştir. <sup>106</sup>

Ülkemizde olduğu gibi gebelikte D vitamini eksikliği rutin taraması önerilmemektedir. Ancak yüksek riskli olan toplumlarda taramanın faydalı olabileceği düşünülmektedir. Ülkemizde gebelere D Vitamini Destek Programı Uygulaması 2011 başlatılmıştır. Buna göre 12. gebelik haftasını geçmiş tüm gebelere, 1200 IU/gün D vitamini desteği yapılması ve laktasyon döneminde de 6 ay süre ile devam edilmesi önerilmektedir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Üremeye Yardımcı Teknikler Merkezinde donmuş embriyo transferi (DET) yapılması planlanan 92 infertil kadın olgu üzerinde prospektif kohort olarak yürütüldü. Tüm olguların aydınlatılmış onamının elde edilmesinin ardından çalışmaya kabul edildiler.

DET yapılması planlanan 24-42 yaş arasında, tek başına veya kombine halde açıklanamayan infertilite, erkek faktörü infertilitesi, anovülasyon, düşük over rezervi, bilateral tubal faktör ve endometriyozis tanılarına sahip, en az bir adet iyi kalite donmuş embriyoya sahip olgular çalışmaya kabul edildi. Çalışmaya katılmak istemeyen, endometriyal polipi olan, submüköz myomu olan, düzeltilmemiş uterin anomalisi olan, hidrosalpinkse sahip olan, kontrolsüz sistemik hastalıklara sahip olgular çalışma dışı bırakıldı.

Tüm olgulara bir önceki siklusun luteal fazında ovülasyonun gerçekleştiğinin teyit edilmesinin ardından hipofizer süpresyon amacı ile leuprolid asetat (Lucrin 5mg/ml/2.8ml flakon 14 Enjektör içeren kit SC /Abbot ) günlük 10 IU dozunda subkutan yolla başlanması suretiyle supresyonlu DET siklusu yapıldı. Hastalar bundan sonra adet siklusunun 3. gününde ultrasonografi ve kan tetkikleri için çağırıldılar. Adet siklusunun 3. Günde 3-5 cc kan almak sureti ile serum 25-OH vitamin D seviyesi, TSH, AMH, estradiol ve progesteron ölçümü için çağırıldılar. 25-OH vitamin D seviyesinin araştırmacı ve hasta tarafından bilinmesi engellenerek çalışma körleme usulü ile devam ettirildi. TSH seviyeleri 0.5-4.5 mIU/L arasında olmayan çalışmaya kabul edilmedi. Estradiol seviyesi > 50 ve progesteron seviyesi >1 ng/mL olan olgular tam supresyon sağlanana kadar lucrin 10 IU/gün dozunda kullanmaya devam ettiler. Bu olgularda üç günde bir kan alınması yolu ile supresyonun sağlandığı tespit edilene kadar estrogen tedavisi başlanmadı. Aynı zamanda yapılan ultrasonografik değerlendirmede endometriyal kalınlık ölçümü > 5 mm olan veya adneksial alanda > 14 mm'den büyük folikül kisti olan olgulara da estrogen tedavisi başlanmadı. Bu olgulara üç günde bir yapılan ultrasonografik takiplerde endometriyal kalınlığı  $\leq 5$  mm ve adneksial alanda kist görülmediğinde estrogen tedavisi başlandı.

Yapılan kan tetkikleri ve ultasonografik incelemede gerekli şartları sağlayan olgularda ( Estradiol < 50ng/mL Progesteron < 1ng/mL endometriyal kalınlık  $\leq 5$  mm, adneksial alanlarda kist olmayan) günlük üç eşit doza bölünmüş şekilde oral yoldan 6 mg

estradiol ng/mL (Estrofem tablet 2 mg 28 tablet /Novo Nordisk. ) tedavisi başlanırken leuprolid asetat ise günlük 5 IU dozunda devam edildi. Hastalar ilk ultrasonografik değerlendirmeye en erken adet siklusunun 10. estrojen tedavisinin 7. gününde çağırıldılar. Bu değerlendirmede endometriyal kalınlığı  $\geq 8$  mm ve kan progesteron seviyesi  $<1$  ng/mL olan olgulara estrojen tedavisi aynı dozda devam edilirken leuprolid asetat tedavisi kesilip progesteron tedavisi günde 2 defa vajinal yoldan (Crinone 90 mg jel %8 /Merck) başlandı. Endometriyal kalınlığı  $< 8$  mm olan olgular ise iki günde bir endometriyal kalınlık artışının takibi için kontrol edildiler. Endometriyal kalınlığı 2 ardışık takipte yeterli şekilde artmayan olgulara estrojen tedavisi 8 mg/gün dozunda uygulandı. Üçüncü gün embriyosuna sahip olgulara vajinal progesteronun 4. gününde, 5. Gün embriyosuna sahip olgulara vajinal progesteronun 6. Gününde, 6. Gün embriyosuna sahip olgulara ise vajinal progesteronun 7. gününde, eğer elde var ise iki adet yok ise bir adet çözdürülmüş embriyo transfer edildi.

Embriyo transferi, dolu mesane ile transabdominal ultrasonografi rehberliğinde gerçekleştirildi. Serviksin speculum ile görüntülenmesinin ardından serum fizyolojik ile ilaç kalıntılarından arındırılan serviks, mukus çekici katater ile aspire edilmesi yolu ile mukusundan arındırıldı. Öncelikle servikal kanal ve uterus pozisyonunun belirlenmesi için Mock transfer yapıldı. Ardından full echo yumuşak katateri (Prodimed ) ile sadece gerekli hastalarda stilet kullanılarak serviks geçildi ve uterin kavitenin orta porsiyonuna servikse 15 mm'den daha fazla yaklaşmadan ve fundal temas gerçekleştirilmeden, Hamilton enjektörüne mümkün olan en düşük basınç uygulanarak embriyo transferi gerçekleştirildi. Hiçbir hastada teneculum kullanılmadı ve servikal dilatasyon yapılmadı. Tüm olgularda hava balonunun pozisyonu net olarak görüldü. Embriyo transfer katateri yavaşça çekildi ve hastalara transfer sonrası yatak istirahati önerilmedi. Embriyo transferi sonrası günlük 6 mg oral estrojen ve 180 mg vajinal progesteron devam edildi. Herhangi bir vitamin tedavisi önerilmedi. Embriyo transferinin 12. gününde kan hCG düzeylerinin elde edilmesi ile gebelik olup olmadığı teyit edildi.

Çalışmanın ulaşmayı hedeflediği ana sonuçlar hCG pozitifliği ile ortaya konulan gebelik oranı, embriyo kalp atımının ultrasonografik olarak teyidi ile elde edilen klinik gebelik oranı ve gebeliğin 10. Haftasını aşması ile teyit edilen devam eden gebelik oranıdır. Ayrıca çoğul gebelik oranları ile abortus oranlarının elde edilmesi ise çalışmanın ikincil hedefleriydi. Çalışma ana hedeflerine ulaşılmasının ardından çalışmacının körlemesi

kaldırılarak kan 25-OH-D vitamini seviyelerinin normal olduğu ( $\geq 30$  ng/ml) olgular ile düşük olduğu olguların ( $< 30$  ng/ml) DET siklusu sonucundaki gebelik başarısı karşılaştırıldı. Ayrıca toplumda D vitamini eksikliğinin yaygın olması nedeniyle kan 25-OH-D vitamini seviyelerinin yetmezlik seviyesinin üstünde olduğu ( $\geq 20$  ng/ml) olgular ile yetmezlik seviyesinde düşük olduğu olgular ( $< 20$  ng/ml) çalışmanın subgrup analizinde değerlendirildi.

Verilerin analizi SPSS for Windows 20.0 paket programında yapıldı. Sürekli değişkenlerin dağılımının normal dağılıma uygun dağılıp dağılmadığı Kolmogorov Smirnov testiyle değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama  $\pm$  standart sapma veya medyan (minimum-maksimum) biçiminde, kategorik değişkenler ise olgu sayısı ve (%) şeklinde gösterildi. Gruplar arasında ortalamalar yönünden farkın önemliliği Student's t testiyle değerlendirildi. Kategorik değişkenler Pearson'un Ki-Kare testiyle değerlendirildi.  $p < 0,05$  için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Çalışma gruplarına ait önemli demografik özelliklerinin karşılaştırılması tablo 1’de sunulmuştur. Her iki grup benzer demografik özellikler ve infertilite tanılarına sahiptir. Grup 1’de 14, grup 2’de ise 4, toplam 18 olguda sürekli olarak ilaç kullanmasını gerektirecek kontrol altına alınmış kronik medikal hastalıklar olup bunlar; hipotiroidi (n=6), insülin direnci (n=5), diabetes mellitus (n=2), kronik hipertansiyon (n=1) ve asthma bronşialdir (n=1). Üç olguda ise hem hipotiroidi hem de insülin direncinin beraber olduğu tespit edildi. Çalışma grubumuzu oluşturan olguların 27’si uterusu ilgilendiren cerrahi müdahale geçirmişti. Bunlar laparotomi ile beş olguda myomektomi ve beş olguda uterus septum-subseptum, beş olguda endometriyal polip, iki olguda submüköz myom, iki olguda intrauterin sineşi nedenleri ile yapılan operatif histeroskopydi. Sekiz olguya ise diagnostik ofis histeroskopi yapılmıştı. Hem kronik medikal hastalığa sahip olguların hem de uterin cerrahi öyküsü olan olguların gruplar arasındaki dağılımı benzerdi (sırasıyla; p=.751, p=.704).

Gruplar arasında DET siklusu özelliklerinin karşılaştırılması tablo 2’de, gruplar arasında gebelik, klinik gebelik, devam eden gebelik, canlı doğum, abortus ve ikiz gebelik oranlarının karşılaştırılması tablo 3’de sunulmuştur. Gruplar arasında hem DET siklusunun özellikleri hem de gebelik, klinik gebelik, devam eden gebelik, canlı doğum, gebelik kaybı, ikiz gebelik oranları açısından anlamlı farklılık tespit edilmemiştir.

Çalışmanın subgrup analizinde 25-OH vitamin D seviyesi < 20 ng/mL olan olgular ile  $\geq 20$  ng/mL olan olgular karşılaştırıldı. Bu iki subgruba ait demografik özellikler, DET siklusu özellikleri benzer bulunmuştur (Tüm parametrelerde p >.05). Bu iki subgrup arasında gebelik, klinik gebelik, devam eden gebelik, canlı doğum, abortus ve ikiz gebelik oranlarının karşılaştırılması tablo 4’de sunulmuştur. İki subgrup arasında gebelik eldesi ve gebelik sonuçları bakımından anlamlı farklılık yoktur.

Gebe kalan, klinik gebeliğe ulaşan, devam eden ve canlı doğum ile sonuçlanan olgular, gebelik kaybı olguları ve çoğul gebelik olgularına ait 25-OH vitamin D sonuçlarının ortalamaları geriye dönük analiz edildiğinde, gruplar arasında D vitamini



düzeıı ortalamaları bakımından fark olmadığı tespit edilmiş ve bu veri tablo 5’de sunulmuştur.

**Tablo 1.** Grupların önemli demografik özelliklerinin karşılaştırılması.

Özellik	Grup 1 D vitamini düzeyi <30 ng/mL. (n= 74)	Grup 2 D vitamini düzeyi ≥30 ng/mL (n= 18)	P değeri
Yaş (yıl)*	30.87 ± 4.23	32.55 ± 4.80	.146
Eşinin yaşı (yıl)*	34.76 ± 4.93	43.12 ± 6.99	.669
Evlilik süresi (yıl)*	7.44 ± 4.77	4.61 ± 2.20	.093
Gravida (n)*	0.64 ± 1.26	1.11 ± 0.99	.170
Parite (n)*	0.13 ± 0.34	0.29 ± 0.46	.144
Abortus (n)*	0.44 ± 1.09	0.83 ± 0.98	.197
VKİ (kg/boy <sup>2</sup> )*	25.27 ± 4.51	25.66 ± 4.22	.767
Sigara kullanımı (n,%)	6 (% 13.3)	2 (% 11.1)	.869
Kronik medikal hastalık (n,%)	14 (% 18.9)	4 (% 22.2)	.751
Geçirilmiş uterin cerrahi (n,%)	21 (% 28.8)	6 (% 33.3)	.704
Önceki ICSI sayısı (n)*	1.69 ± 0.86	1.5 ± 0.89	.443
Önceki DET deneme sayısı (n)*	1.25 ± 0.61	1.31 ± 0.60	.728
Açıklanamayan infertilite (n,%)	9 (% 12.2)	3 (% 16.7)	.611
Anovülasyon/PCOS (n,%)	31 (% 41.9)	5 (% 27.8)	.271
Erkek faktörü infertilitesi (n,%)	18 (% 24.3)	4 (% 22.2)	.851
Tubal faktör infertilitesi (n,%)	5 (% 6.8)	3 (% 16.7)	.181
Düşük over rezervi (n,%)	4 (% 5.4)	2 (% 11.1)	.379
Endometriyozis (n,%)	3 (% 4.1)	2 (% 11.1)	.236

\*Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir

Kısaltmalar; VKİ: Vücut kitle endeksi, ICSI: İntrastoplazmik sperm enjeksiyonu, DET: Donmuş embriyo transferi, PCOS: Polikistik over sendromu.

**Tablo 2. Gruplar arasında DET siklusu özelliklerinin karşılaştırılması.**

<b>Özellik</b>	<b>Grup 1 D vitamini düzeyi &lt;30 ng/mL (n= 74)</b>	<b>Grup 2 D vitamini düzeyi ≥30 ng/mL (n= 18)</b>	<b>P değeri</b>
<b>D vitamini düzeyi (ng/mL)*</b>	17.04 ± 7.33	38.67 ± 8.8	<.0001**
<b>AMH düzeyi (ng/mL)*</b>	7.97 ± 7.28	4.61 ± 3.70	.187
<b>TSH düzeyi (mIU/L)*</b>	1.92 ± 1.10	1.81 ± 0.76	.713
<b>Estrojen kullanılan süre (gün)*</b>	9.79 ± 2.65	10.22 ± 2.83	.550
<b>Transfere kadar geçen süre (gün)*</b>	15.29 ± 2.93	15.33 ± 3	.963
<b>Endometriyal kalınlık (mm)*</b>	10 ± 1.73	9.95 ± 1.97	.918
<b>Proliferasyon fazı sonundaki progesteron düzeyi (ng/mL)*</b>	0.46 ± 0.29	0.48 ± 0.25	.852
<b>Transfer edilen embriyo sayısı (n)*</b>	1.81 ± 0.38	1.88 ± 0.32	.472
<b>3. gün embriyosu (n,%)</b>	24 ( % 32.4)	7 ( % 38.9)	.603
<b>5. gün embriyosu (n,%)</b>	37 ( % 50)	6 ( % 33.3)	.204
<b>6. gün embriyosu (n,%)</b>	13 ( % 17.6)	5 ( % 27.8)	.327

\*Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir

\*\*İstatiksel olarak anlamlıdır.

Kısaltmalar; AMH: Anti-müllerian hormon, TSH: Tiroid Stimulan Hormon.

**Tablo 3. Gruplar arasında gebelik, klinik gebelik, devam eden gebelik, canlı doğum, abortus ve ikiz gebelik oranlarının karşılaştırılması.**

<b>Özellik</b>	<b>Grup 1 D vitamini düzeyi &lt;30 ng/mL (n= 74 (%80,43))</b>	<b>Grup 2 D vitamini düzeyi ≥30 ng/mL (n= 18 (%19,56))</b>	<b>P değeri</b>
<b>Gebelik oranı</b>	29 (% 39.2)	5 (% 27.8)	.368
<b>Klinik gebelik oranı</b>	23 (% 31.1)	5 (% 27.8)	.785
<b>Devam eden gebelik oranı</b>	17 (% 23)	3 (% 16.7)	.561
<b>Canlı doğum oranı</b>	15 (% 20.3)	3 (% 16.7)	.730
<b>Gebelik kaybı oranı</b>	14 (% 18.9)	2 (% 11.1)	.433
<b>İkiz gebelik oranı</b>	4 (% 5.4)	2 (% 11.1)	.379
<b>İmplantasyon oranı</b>	%20.8	%16.7	.471

**Tablo 4. Çalışmanın subgrup analizinde, A ve B grupları arasında gebelik, klinik gebelik, devam eden gebelik, canlı doğum, abortus ve ikiz gebelik oranlarının karşılaştırılması.**

<b>Özellik</b>	<b>Grup A D vitamini düzeyi &lt;20 ng/mL. (n= 48 (%))</b>	<b>Grup B D vitamini düzeyi ≥20 ng/mL. (n= 44 (%))</b>	<b>P değeri</b>
<b>Gebelik oranı</b>	20 (% 41.7)	14 (% 31.8)	.328
<b>Klinik gebelik oranı</b>	17 (% 35.4)	11 (% 25)	.278
<b>Devam eden gebelik oranı</b>	12 (% 25)	8 (% 18.2)	.428
<b>Canlı doğum oranı</b>	10 (% 20.8)	8 (% 18.2)	.749
<b>Gebelik kaybı oranı</b>	10 (% 20.8)	6 (% 11.1)	.363
<b>İkiz gebelik oranı</b>	2 (% 4.2)	4 (% 9.1)	.339
<b>İmplantasyon oranı</b>	%22.3	%17.4	.381

**Tablo 5. Gebe kalan olgularda D vitamini ortalama seviyelerinin karşılaştırılması.**

<b>Parametre</b>	<b>D vitamini düzeyi (ng/mL)</b> <b>(Ortalama ± SS)</b>		<b>P değeri</b>
	<b>Gebelik Yok</b>	<b>Gebelik Var</b>	
<b>Gebelik</b>	21.68 ± 11.43	20.58 ± 11.71	.660
<b>Klinik gebelik</b>	21.35 ± 11.25	21.10 ± 12.22	.924
<b>Devam eden gebelik</b>	21.5 ± 11.33	20.46 ± 12.30	.721
<b>Canlı doğum</b>	21.27 ± 11.26	21.28 ± 12.72	.998
<b>Gebelik kaybı</b>	21.59 ± 11.67	19.8 ± 10.82	.574
<b>Çoğul gebelik</b>	20.84 ± 10.93	27.5 ± 17.87	.171

## 6. TARTIŞMA

Kadın fertilitesinde vitamin D nin potansiyel rolü insan ve hayvan çalışmaları ile aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Vitamin D' nin ovarian steroidogenezi indüklediği, foliküler gelişimde ve folikül seçiminde pozitif rolü olduğu hayvan modellerinde gösterilmiştir.<sup>107-107</sup> Ayrıca Vitamin D reseptör geni olmayan ( VDR -/ - mutant fareler) farelerde uterin hipoplazi ve hasarlı folikülogenez tespit edilmiştir.<sup>58</sup> İnsan çalışmalarında da vitamin D reseptörünün over'de eksprese olduğu tespit edilmiştir.<sup>108</sup> Kalsitriol varlığında insan ovarian hücrelerinde ovarian steroidogenez stimüle olmakta ve granüloza hücre fonksiyonlarında artış gözlemlenmektedir.

Ovarian fonksiyonlar üzerine olan olumlu etkisine karşın vitamin D'nin endometriyal reseptivite üzerine etkisinin olup olmadığı bilinmemektedir. İnsan endometriumunda vitamin D reseptörü ve 1 $\alpha$  hidroksilaz eksprese olur.<sup>109</sup> D vitamini çeşitli jinekolojik hastalıkların endometriyal çevre üzerine olumsuz etkilerinin iyileştirilmesinde rol oynayarak endometriyal reseptiviteye katkı yapıyor olabilir. Örneğin endometriyozis olgularında D vitamini tedavisi ile inflamatuvar sitokinlerin ve prostoglandin aktivitesinin azaltılabileceği ve inflamatuvar sürecin bloke edilmesi ile reseptiviteye katkı sağlanabileceği öne sürülmüştür.<sup>110</sup> Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı (  $\geq 3$  başarısız IVF siklusu) olan kadınların endometrial hücrelerinde sitokin (IL-6, IL-8, IL10 ve TGF $\beta$ ) üretiminde vitamin D'nin rolü araştırıldığında kalsitriol tedavisinin bu hücrelerdeki sitokin üretiminin özellikle IL-6 üretiminin azalarak, implantasyon sürecine olumlu etkisi gözlenmiştir. Güncel bir çalışmada da insan ekstravillöz trofoblastların invazyonunda vitamin D' nin direk olumlu etkisi olduğu gözlenmiştir. Vitamin D eksikliği yetersiz ekstravillöz trofoblastların invazyonuna bağlı olarak preeklemsi ve fetal büyüme kısıtlılığı riskini artırdığı ve optimal vitamin D seviyesi bu komplikasyonları önlediği bildirilmiştir.<sup>111</sup> Ayrıca kalsitriol ile kültüre edilen insan endometrial stromal hücrelerde HOXA 10 gen ekspresyonunu artar. HOXA 10 geni embriyo implantasyon sürecinde önemli rol oynamaktadır.<sup>112</sup> Bu veriler ışığında implantasyon sürecinde kalsitriolün rolü olduğu öne sürülmüş olsa da net olarak gösterilememiştir.<sup>113</sup>

Günümüzde kadın üreme sağlığı ve fertilitesi için optimal vitamin D seviyesi ile ilgili herhangi bir ortak görüş yoktur. Vitamin D'nin yardımcı üreme tedavisi sonuçlarına

(klinik gebelik ve canlı doğum) olası etkisi kısıtlı sayıda çalışma ile değerlendirilmiştir ancak veriler tutarsızdır.

Serum D vitamini düzeyi ile IVF sikluslarında gebelik başarısını değerlendiren öncü çalışmalardan Rudick ve ark. 188 olguyu değerlendirdikleri retrospektif dizayn ettikleri çalışmada; D vitamini yeterli olgularda, yetersiz olgulara kıyasla gebelik elde etme oranı dört kat yüksek olarak bulunmuştu. Olgu grupları arasında ovarian stimülasyon parametreleri ve embriyo kalitesi açısından fark bulunmamıştı. Benzer bir çalışmada Polyzos ve ark. tek blastokist transferi yaptıkları 274 olguda vitamin D seviyesi yetmezlik grubu ( $< 20$  ng/mL) ile yetmezlik olmayan  $\geq 20$  ng/mL olan grubu karşılaştırdıklarında klinik gebelik oranını D vitamini seviyesi yetmezlikte olan grupta anlamlı olarak düşük buldular (sırasıyla; %41 vs %54). Bu çalışmada D vitamini yetmezliği gebelik oranı için bağımsız risk faktörü olarak bulundu (OR=0.56 %95 CI: 0.33-0.93  $p=0.024$ ). 25-OH vitamin D seviyesini serumda ölçmek yerine folikül sıvısında ölçen Özkan ve ark. da çalışmalarında yüksek vitamin D seviyelerinin anlamlı olarak yüksek klinik gebelik ve implantasyon oranı ile ilişkili olduğunu ve folikül sıvısı vitamin D seviyelerinin IVF siklusu başarısının bağımsız bir prediktörü olduğunu bildirdiler. IVF sikluslarında vitamin D statüsünün klinik gebelik oranına etkisini değerlendirdikleri prospektif çalışmalarında Garbedian ve ark. oosit toplama gününden bir hafta önce ölçtükleri vitamin D seviyesi yeterli ise bu olguların klinik gebelik oranını vitamin D seviyesi yetersiz olgulara kıyasla anlamlı olarak yüksek olduğunu bildirdiler (sırasıyla; %52.5 vs %34.7,  $p<0.001$ ). Bu çalışmada multivariable logistik regresyon analizi serum D vitamini seviyesinin klinik gebelik için anlamlı bir prediktör olabileceğini gösteriyordu (OR=1.01, %95 CI:1-1.03). Rudick ve ark. donör alıcı sikluslarında D vitamini seviyelerinin gebelik sonucuna etkisini değerlendirdikleri retrospektif dizayn edilmiş, 99 olguluk çalışmalarında; D vitamini seviyesi yeterli olgularda klinik gebelik oranının %78 ve yetersiz olgularda ise %37 olarak tespit etmişlerdi. Bu çalışmanın sonuçları ile yazarlar her ne kadar donörlerin vitamin D seviyesi bilinmese bile alıcı olguların D vitamin seviyesi ile gebelik eldesi arasındaki ilişkinin, D vitamininin üreme üzerindeki fonksiyonlarını endometriyum ve reseptivite üzerinden gösterdiğini öne sürdüler.

D vitamini seviyeleri ile taze embriyo transfer edilen IVF sikluslarının başarısı arasında anlamlı korelasyon tespit eden bu çalışmalara karşı Anifandis ve ark. ise foliküler sıvı 25-OH D vitamini seviyesi ile embriyo kalitesi arasında ve klinik gebelik hızı

arasından negatif korelasyon bulduklarını bildirdiler. Bu çalışmada olgular D vitamini seviyelerinde göre  $\leq 20$  ng/mL (grup A), 20.1-30 ng/mL (grup B) ve  $>30$  ng/ml (grup C) olmak üzere 3 grupta değerlendirildiğinde klinik gebelik oranları sırasıyla %32.2, %32.7 ve C grubunda ise %14.5 olarak bulundu.

Biz ovarian faktörleri bertaraf etmek ve D vitaminin endometriyal reseptivite ve implantasyon süreci üzerinde etkisinin olup olmadığını ortaya koymak için daha önceki siklusta iyi ve çok iyi kalite embriyo dondurulmuş hastaların DET sikluslarından elde edeceğimiz verileri değerlendirmeyi amaçladık. DET çalışmalarının standartizasyonunu sağlamak daha kolaydır zaten hali hazırda iyi kalite embriyolar dondurulmuştur. Böylece taze sikluslardaki hasta ve eşi ile ilgili pek çok kon-komitan değişken elimine edilmiş olur ve reseptivite üzerine gerçek etkisi değerlendirilebilir. Prospektif olarak dizayn ettiğimiz çift kör çalışmamızda DET siklusu başlangıcında ölçülen serum 25-OH D vitamini düzeyi ile gebelik başarısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını gördük. Biz çalışmamızda hem 20 ng/mL altında ve üstünde D vitamini seviyelerine sahip olgu gruplarını hem de 30 ng/mL seviyesinin altında ve üstündeki olgu gruplarını ayrı ayrı değerlendirdik. Ayrıca çalışmamızda tüm örnekler diğer pek çok çalışmanın aksine dondurulmadan hemen çalışıldı ancak çalışmacılar ve hastalar D vitamini seviyelerinden haberdar olmadılar. Bu da bias'ın en aza indirgenmesinde çalışmamızın güçlü yanını yansıtmaktadır. Çalışmamıza benzer şekilde Van de Vijver ve ark. DET siklusu planlanan 280 infertil olguyu embriyo transfer gününde elde ettikleri 25-OH D vitamini seviyelerine 20 ng/mL altında ve üstünde olan olgular şeklinde iki ayrı grupta değerlendirdikleri prospektif kohort çalışmalarında D vitamini yetersiz olan grupta gebelik oranı D vitamini yeterli olan grup ile kıyaslandığında benzer olarak bulunmuştu (sırasıyla; %40.9 vs %48.3,  $p=.2$ ). Benzer şekilde klinik gebelik oranları arasında da fark yoktu (sırasıyla; %32.2 vs %37.9,  $p=.3$ ). Bu çalışmada D vitamini seviyesi yetmezlikte, yetersizlikte ve normal olan olgularda klinik gebelik oranları benzerdi ve multivariete lojistik regresyon analizinde D vitamini statüsünün gebelik sonucu ile ilişkili olmadığı görüldü. Bunun ötesinde Aflatonian ve ark. 25-OH D vitamini seviyesi  $<30$  ng/L olan 114 infertil olguyu D vitamini replasmanı yapılan ve yapılmayan iki gruba randomize ettiği çalışmasında, iki grubun takip eden DET siklusu gebelik ve klinik gebelik sonuçlarının benzer olduğunu bildirdiler. Bu bulgular ve çalışmamızın bulguları beraber değerlendirildiğinde D vitaminin üreme



fonksiyonları üzerindeki etkisinin endometriyal reseptivite ve implantasyon üzerinden gösterdiğine dair bir veri olmadığını düşünürüz.

Çalışmamızın eksik yönleri ise; D vitamini seviyesinin doku düzeyindeki etkilerini ortaya koyacak şekilde dizayn edilmemiş olmasıdır. Örneğin kan D vitamini seviyesi normal olan bir kişide endometriyal doku düzeyinde reseptör aktivitesi bilinmediğinden D vitaminin etkilerini tam olarak ortaya koyup koymadığı da bilinemez. D vitamini seviyesi düşük bir kişide doku düzeyindeki etki yeterli olabilir. Ancak çalışma güncel pratikte ihtiyaç duyulan klinik sonuçlara odaklanmıştır ve bu konuda açıklayıcı bilgi sağlamıştır. Ayrıca inflamatuvar belirteçler ve oksidatif – reoksidatif süreçler ile ilgili bir ölçüm de yapılmamıştır.



## 7. SONUÇLAR

Günümüzde Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre %10-15 çift infertil olarak tanımlanmaktadır. İnfertilite yaklaşık olarak dünya üzerindeki 80 milyon kişiyi etkilemektedir. Donmuş embriyo transferi yardımcı üreme tekniklerinin önemli bir parçasıdır. Çalışmamızda donmuş embriyo transferinin başarısını etkilediği öne sürülmüş olan D vitamini yetersizlikli hastaların gebelik elde edilmesindeki başarı şansını değerlendirmeyi hedefledik. Çalışmamızda serum D vitamini seviyeleri ile DET siklusunda gebelik elde etme hedefi arasında bir ilişki bulmadık. Bununla beraber çalışmamızın eksik yönleri de değerlendirildiğinde optimum 25(OH) D vitamini seviyesi ve fertilité üzerine vitamin D takviyesinin etkisini değerlendirebilmek için yüksek kalite geniş örnekleme sahip olan randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır.

## 8.ÖZET

**Amaç:** Donmuş embriyo transferi yapılan infertil hastalarda 25-OH vitamin D'nin gebelik sonuçlarına etkisini değerlendirmek.

**Gereç ve Yöntem:** Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Üremeye Yardımcı Teknikler Merkezinde prospektif -çift kör olarak yürütülen bu çalışmada donmuş embriyo transferi (DET) yapılması planlanan 92 infertil olgunun serum 25-OH vitamin D düzeyleri tedavi başlangıcında elde edildi. Serum 25-OH-D vitamini seviyelerinin düşük olduğu (<30 ng/ml) olgular (grup 1, n=74) ile normal olduğu ( $\geq$ 30 ng/ml) olgular (grup 2, n=18) DET siklusu sonucundaki gebelik, klinik gebelik, devam eden gebelik, canlı doğum, implantasyon, gebelik kaybı ve çoğul gebelik oranları karşılaştırıldı. Subgrup analizinde 25-OH-D vitamini seviyelerinin yetmezlik seviyesinde düşük olduğu olgular (<20 ng/ml, grup A, n=48) ve yetmezlik seviyesinin üstünde olduğu ( $\geq$ 20 ng/ml, grup B, n=44) olgular da aynı gebelik sonuçları açısından karşılaştırıldı.

**Bulgular:** Grup 1 ve grup 2 olguların demografik özellikleri ve siklus takip parametreleri benzerdi. Gruplar arasında gebelik (%39.2 vs %27.8), klinik gebelik (%31.1 vs %27.8), devam eden gebelik (%23 vs %16.7), canlı doğum (%20.3 vs %16.7), gebelik kaybı (%18.9 vs %11.1), ikiz gebelik (%5.4 vs %11.1) ve implantasyon oranları (%20.8 vs %16.7) benzerdi (sırasıyla; p=.368, p=.785, p=.561, p=.730, p=.433, p=.379, p=.471). Çalışmanın subgrup analizinde grup A ve grup B arasında gebelik (%41.7 vs % 31.8), klinik gebelik (%35.4 vs %25), devam eden gebelik (%25 vs %18.2), canlı doğum (%20.8 vs %18.2), gebelik kaybı (%20.8 vs %11.1), ikiz gebelik (%4.2 vs %9.1) ve implantasyon oranları (%22.3 vs %17.4) benzerdi (sırasıyla; p=.328, p=.278, p=.428, p=.749, p=.363, p=.339, p=.381) .

**Tartışma:** Donmuş embriyo transferinden elde edilen gebelik sonuçları ile tedavi başlangıcında elde edilen serum 25-OH vitamin D seviyeleri arasında ilişki tespit edilmemiştir. Vitamin D seviyesinin fertilité üzerindeki etkilerini endometriyal reseptivite ve implantasyon süreci üzerinden gösterdiğine dair dolaylı kanıt elde edilmemiştir.

**Anahtar Kelimeler** Donmuş Embriyo Transferi, Gebelik Sonucu, 25-OH Vitamin D

## 9.ABSTRACT

**Objective:** The influence of 25-(OH) Vitamin D on pregnancy rates among infertile patients undergoing Frozen-thawed procedure is evaluated by this study.

**Materials and Methods:** The prospective cohort clinical study included 92 infertile women undergoing frozen-thawed procedure in ART center of Kocaeli University Medical School and the levels of 25-(OH) Vitamin D were obtained in the beginning of the treatment. We classified patients as having Insufficient serum vitamin D (less than 30 ng/mL; group 1, n=74) levels and Sufficient serum vitamin D ( $\geq 30$  ng/ml ; group 2, n=18) levels. Pregnancy ,clinical pregnancy , ongoing pregnancy ,implantation , pregnancy loss and multifetal gestations parameters compared between two groups undergoing Frozen-thawed embryo procedure. 25-(OH) Vitamin D levels; lower than 20 ng/mL (group A, n=48), referred as ‘‘ deficient’’and 25-(OH) Vitamin D levels higher than deficiency level ( $\geq 20$  ng/mL, group B, n=44) were two subgroups which analyzed in same pregnancy results.

**Results:** In this study; Demographics fetatures and cycle parameters of Group 1 and Group 2 observed any significant difference. Pregnancy (%39.2 vs %27.8), Clinical Pregnancy (%31.1 vs %27.8), Ongoing Pregnancy (%23 vs %16.7), Live Birth (%20.3 vs %16.7), Pregnancy Loss (%18.9 vs %11.1), Multifetal gestations (%5.4 vs %11.1) and implantation rates (%20.8 vs %16.7) between two these groups didn't demonstrate purposal difference. (respectively ; p=.368, p=.785, p=.561, p=.730, p=.433, p=.379, p=.471). The analyses of the subgroups (Group A and Group B) showed similarity; That were pregnancy (%41.7 vs %31.8), clinical pregnancy (%35.4 vs %25), ongoing pregnancy (%25 vs %18.2), live birth (%20.8 vs %18.2), pregnancy loss (%20.8 vs %11.1), multifetal gestations (%4.2 vs %9.1) and implantation rates (%22.3 vs %17.4) (respectively; p=.328, p=.278, p=.428, p=.749, p=.363, p=.339, p=.381) .

**Discussion:** In conclusion, the pregnancy rates after frozen-thawed embryo transfer were determined any association with Serum 25-(OH) Vitamin D levels of the patients. No indirect evidence has been obtained that the level of vitamin D is indicative of the effects of fertility on the endometrial receptivity and implantation process.

**Keywords:** Frozen-thawed embryo , Pregnancy outcomes, 25-(OH) Vitamin D



---

## 9. KAYNAKLAR

- <sup>1</sup>Abbas Aflatoonian M.D, Farideh Arabjahvani M.D, Maryam Eftekhari M.D, Mozhgan Sayidi M.D, Effect of vitamin D insufficiency treatment on fertility outcomes in frozen-thawed embryo transfer cycles: A randomized clinical trial; Iran J Reprod, Vol.2 No.9, pp:595-600, 2014
- <sup>2</sup> Arne van de Vijver, Panagiotis Drakopoulos, Lisbet Van Landuyt, Alberto Vaiarelli, Christophe Blockeel, Samuel Santos- Ribeiro, Herman Tournaye and Nikolaos P. Polyzos, Vitamin D deficiency and pregnancy rates following frozen-thawed embryo transfer: a prospective cohort study; Human Reproduction, Vol.31 No.8, pp. 1749-1754,2016
- <sup>3</sup> Nikolaos P. Polyzos, Ellen Anckaert, Luis Guzman, Jahan Schiettecatte, Lisbet Van Landuyt, Michel Camus, Johan Smitz and Herman Tournaye; Vitamin D deficiency and pregnancy rates in women undergoing single embryo, blastocyst stage, transfer (SET) for IVF/ICSI; Human Reproduction, Vol.29 No.9, pp. 2032-2040, 2014
- <sup>4</sup> Panagiotis Drakopoulos, Arne van de Vijver, Valerie Schutyser, Stevan Milatovic, Ellen Anckaert, Johan Schiettecatte, Christophe Blockeel, Michel Camus, Herman Tournaye, and Nikolaos P. Polyzos, Human Reproduction, Vol. 32 No. 1, pp. 208-214, 2017
- <sup>5</sup> Üreme Tıbbına Pratik Yaklaşımlar, ATLAS kitapevi, 1998, Ankara
- <sup>6</sup> İnfertilite ve yardımla üreme teknikleri, Güneş TIP kitapevleri, 2012, Ankara
- <sup>7</sup> Edwards, R.G. and Steptoe, P.C(1980). A Matter of life, pp. 135-7, London. Hutchinson
- <sup>8</sup> Trounson, A.O. and Mohr, L. (1983) Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. Nature, London, 305, 707-9
- <sup>9</sup> Amso, N. N., Ahuja, K. K., Morris, N. And Shaw, R. W(1990). The management of predicted ovarian hyperstimulation involving gonadotrophin releasing hormone analog with elective cryopreservation of all pre-embryos. Fertil. Steril., 53, 1087-90
- <sup>10</sup> Roy, S.K. and Treacy, B.J. (1993). Isolation and long term culture of human pre-antral follicles. Fertil. Steril, 59, 783-90
- <sup>11</sup> Sathanandan, A. H., Trounson, A., Freemann, L. And Brandy, T (1988). The effects of cooling human oocytes. Hum. Reor., 3, 968-77
- <sup>12</sup> Winston, N. J., Braude, P R., Pickering, S. J., George, M.A., Cant, A., Currie, J. And Johnson, M.A. (1991). The incidence of abnormal morphology and nucleocytoplasmic ratios in 2-, 3- and 5- day human preembryos. Hum. Reprod., 6, 17-24

- 
- <sup>13</sup> Whittingham, D.G. (1980). Principles of embryo preservation. In Ashwood-Smith, M. J. And Farrant , J. (eds) *Low temperature Preservation in Medicine and Biology*, pp. 65-84. (Tunbridge Wells, Kent : Pitman Medical)
- <sup>14</sup> Lassalle, B. , Testart, J. And Renard, J. P (1985). Human embryo features that influence the success of cryopreservation with the use of 1,2- propanediol. *Fertil. Steril.* , 44 , 645-51
- <sup>15</sup> Freemann, L. , Trounson, A. And Kirby, C. (1986). Cryopreservation of human embryos: progress on the clinical use of the technique in human in vitro fertilisation and embryo transfer. *J. In Vitro Fert. Embryo Transfer*, 3, 53-9
- <sup>16</sup> Wada, I., Macnamee, M.C., Wick, K., Bradfield, J. And Brinsden, P R. (1994) Birth characteristics and perinatal outcome of babies conceived from cryopreserved embryos. *Hum. Reprod.* 9, 543-6
- <sup>17</sup> Sutcliffe, A. G., Douza, S. W., Cadman, J., Richards, B., Mckinlay, I. A. And Lieberman, B. (1995). Outcome in children from cryopreserved embryos. *Arch. Dis. Child.*, 72, 290-3
- <sup>18</sup> Avery, S., Marcus, S., Spilliane, S., Macnamee, M. And Brinsden, P.(1995). Does the length of storage time affect the outcome of frozen embryo replacement? *J. Assist. Reprod. Genet.*, 12 (suppl.) 67S
- <sup>19</sup> Whittingham D.G., Leibo S.P., Mazur P. Survival of Mouse embryos frozen to -196 and - 269°C. *Science* 1972; 178: 411-14
- <sup>20</sup> Zeilmaker G.H. , Aberta A.T., Gent Van, I. Et al. Two pregnancies following transfer of intact frozen-thawed embryos. *Fertil. Steril.* 1984; 42: 293-6
- <sup>21</sup> Saunders, D.M., Bowman, M.C., Grierson A. and Garner, F. (1985). Frozen embryos the dilemma ten years on. *Human Reprod.*, 10, 3081-3082
- <sup>22</sup> Sutcliffe, A. G., Douza, S. W., Cadman, J., Richards, B., Mckinlay, I. A. And Lieberman, B. (1995). Minor congenital anomalies, major congenital malformations and development in children conceived from cryopreserved embryos. *Human reprod.* 10: 3332-7
- <sup>23</sup> Shaw J.M., Trounson A. Effect of dimethylsulfoxide and protein concentration on the viability of two-cell Mouse embryos frozen with a rapid freezing technique. *Cryobiology* 1989 ; 26: 413-21
- <sup>24</sup> Rizk B., Edwards R.G., Nicolini U., et al. Edward's syndrome after the replacement of cryopreserved-thawed embryos. *Fertil. Steril.* 1991; 55: 208-210

- 
- <sup>25</sup> Deffontaines D., Logerot-lebrun H., Sele B., et al. Comparaison des grossesses issues de transferts d'embryons congeles aux grossesses issues de transferts d'embryons frais en fecondation in vitro. *Contracept. Fertil. Sex.* 1994; 22: 287-91
- <sup>26</sup> Wada I., Macnamee M.C., Wick K., Bradfield J.M.i Brinsden P.R. Birth characteristics and perinatal outcome of babies conceived from cryopreserved embryos. *Human Reprod.* 1994,; 9; 543-6
- <sup>27</sup> Yardımla Üreme Teknikleri Temel Kitabı. Nobel TIP Kitapevleri, 2010, İstanbul
- <sup>28</sup> McCarty MF, Thomas CA. PTH excess may promote weight gain by impeding catecholamine-induced lipolysis-implications for the impact of calcium, vitamin D, and alcohol on body weight. *Med Hypotheses* 2003;61:535-42.
- <sup>29</sup> Bringhurst FR, Demay MB, Krane SM, Kronenberg HM, Kemik ve mineral metabolizması bozuklukları. (Çeviri Akçay T, Çeviri editörü: Biberöglü K.) *Harrison İç - Hastalıkları Prensipleri* (17. Edi, syon). İstanbul: Nobel Matbaacılık; 2013. S.2365-77
- <sup>30</sup> Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357: 266–81
- <sup>31</sup> Özsoylu S. Hormonal effect of cholecalciferol. *New Medical Journal* 1986;2:3-6.
- <sup>32</sup> Yetgin S, Özsoylu Ş, Ruacan Ş, Tekinalp G, Sarialiolu F. Vitamin Ddeficiency rickets and myelofibrosis. *The Journal of pediatrics* 1989;114(2),213-217.
- <sup>33</sup> Lips P. Vitamin D physiology. *Prog Biophys Mol Biol* 2006;92:4-8.
- <sup>34</sup> Javorsky BR, Maybee N, Padia SH, Dalkin AC. Vitamin D deficiency in gastrointestinal disease. *Pract Gastroenterol* 2006;36:52-72.
- <sup>35</sup> Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. *Metabolik Kemik Hastalıkları Tanı ve Tedavi Klavuzu* 2015; sayfa 19-22
- <sup>36</sup> Bringhurst FR, Demay MB, Krane SM, Kronenberg HM, Kemik ve mineral metabolizması bozuklukları. (Çeviri Akçay T, Çeviri editörü: Biberöglü K.) *Harrison İç Hastalıkları Prensipleri* (17. Edisyon). İstanbul: Nobel Matbaacılık; 2013. S.2365-77
- <sup>37</sup> Powe CE, Evans MK, Wenger J, Zonderman AB, Berg AH, Nalls M, Tamez H, Zhang D, Bhan I, Karumanchi SA, Powe NR, Thadhani R. Vitamin D–Binding Protein and Vitamin D Status of Black Americans and White Americans. *N Engl J Med* 2013;369:1991-2000.
- <sup>38</sup> Safadi FF, Thornton P, Magiera H, Hollis BW, Gentile M, Haddad JG, Liebhaber SA, Cooke NE. Osteopathy and resistance to vitamin D toxicity in mice null for vitamin D binding protein. *J Clin Invest* 1999;103:239- 51



- 
- <sup>39</sup> Powe, C.E. , et al. , First trimester vitamin D, vitamin D binding protein, and subsequent preeclampsia. *Hypertension*, 2010. 56(4): p. 758-63.
- <sup>40</sup> Merewood, A., et al., Association between vitamin D deficiency and primary cesarean section. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009. 94(3): p. 940-5.
- <sup>41</sup> Kim S, Shevde NK, Pike JW. 1,25- Dihydroxyvitamin D3 stimulates cyclic vitamin D receptor/retinoid X receptor DNA-binding, co-activator recruitment, and histone acetylation in intact osteoblasts. *J Bone Miner Res* 2005; 20: 305–17.
- <sup>42</sup> Zehnder D, Bland R, Williams MC, McNinch RW, Howie AJ, Stewart PM, Hewison M. Extrarenal expression of 25- hydroxyvitamin d(3)-1 alphahydroxylase. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86: 888–94.
- <sup>43</sup> Mouli V.P, Ananthkrishnan A.N. Review article: vitamin D and inflammatory bowel diseases. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 39: 125–136
- <sup>44</sup> Christakos S. Recent advances in our understanding of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) regulation of intestinal calcium absorption. *Arch Biochem Biophys* 2011; 523: 73–6.
- <sup>45</sup> Takeda S, Yoshizawa T, Nagai Y, Yamato H, Fukumoto S, Sekine K, Kato S, Matsumoto T, Fujita T. Stimulation of osteoclast formation by 1,25dihydroxyvitamin D requires its binding to vitamin D receptor (VDR) in osteoblastic cells: studies using VDR knockout mice. *Endocrinology* 1999; 140: 1005–8.
- <sup>46</sup> Kamen DL, Tangpricha V. Vitamin D and molecular actions on the immune system: modulation of innate and autoimmunity. *J Mol Med (Berl)* 2010;88:441– 50.
- <sup>47</sup> Brehm JM, Schuemann B, Fuhlbrigge AL, Hollis BW, Strunk RC, Zeiger RS, Weiss ST, Litonjua AA. Serum vitamin D levels and severe asthma exacerbations in the Child hood Asthma Management Program study. *J. Allergy Clin. Immunol.* 126, 52–58.  
doi:10.1016/j.jaci.2010.03.043
- <sup>48</sup> Wu K, Feskanich D, Fuchs CS, Willett WC, Hollis BW, Giovannucci EL. A nested case control study of plasma 25 hydroxyvitamin D concentrations an risk of colorectal cancer. *J Natl Cancer Ins* 2007; 99:1120-9.
- <sup>49</sup> Parikh SJ, Edlman M, Uwaifo GI, Freedman R, Semega-Janneh M, Reynolds J, Yanovsji JA. The relationship between obesity and serum 1,25 dihydroxy vitamin D concentrations in healty adults. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:1196-9

- 
- <sup>50</sup> Martins D, Wolf M, Pan D, Zadshir A, Tareen N, Thadhani R, Felsenfeld A, Levine B, Mehrotra R, Norris K. Prevalence of cardiovascular risk factors and the serum levels of 25-hydroxyvitamin D in the United States: Data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med* 2007; 167:1159-65.
- <sup>51</sup> Hahn, S., Haselhorst, U., Tan, S. et al. (2006) Low serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with insulin resistance and obesity in women with polycystic ovary syndrome. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 114, 577– 583.
- <sup>52</sup> Yildizhan, R., Kurdoglu, M., Adali, E. et al. (2009) Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in obese and non-obese women with polycystic ovary syndrome. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 280, 559–563.
- <sup>53</sup> Li, H.W.R., Brereton, R.E., Anderson, R.A. et al. (2011) Vitamin D deficiency is common and associated with metabolic risk factors in patients with polycystic ovary syndrome. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 60, 1475–1481.
- <sup>54</sup> Mazloomi, S., Sharifi, F., Hajhosseini, R. et al. (2012) Association between hypoadiponectinemia and low serum concentrations of calcium and vitamin D in women with polycystic ovary syndrome. *ISRN Endocrinol*, 2012, 949427.
- <sup>55</sup> Mahmoudi, T., Gourabi, H., Ashrafi, M. et al. (2010) Calcitropic hormones, insulin resistance, and the polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility*, 93, 1208–1214.
- <sup>56</sup> Stumpf, W.E. & Denny, M.E. (1989) Vitamin D (solatriol), light, and reproduction. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 161, 1375–1384.
- <sup>57</sup> Ozkan, S., Jindal, S., Greenseid, K. et al. (2010) Replete vitamin D stores predict reproductive success following in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*, 94, 1314–1319.
- <sup>58</sup> Yoshizawa, T., Handa, Y., Uematsu, Y. et al. (1997) Mice lacking the vitamin D receptor exhibit impaired bone formation, uterine hypoplasia and growth retardation after weaning. *Nature Genetics*, 16, 391–396.
- <sup>59</sup> Anagnostis P, Karras S, Goulis DG, Vitamin D in human reproduction: a narrative review. 2013, *Int. J Clin Pract* 67: 225-35
- <sup>60</sup> Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, et al. Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. 2008. *Endocrin Rev* 29: 726-776
- <sup>61</sup> Zarnani AH, Shahbazi M, Salek-Moghaddam A, et al. Vitamin D3 receptor is expressed in the endometrium of cycling mice throughout the estrous cycle. 2010. *Fertil Steril* 93; 2738-2743

- 
- <sup>62</sup> Echchgadda I, Song CS, Roy AK, Chatterjee B. Dehydroepiandrosterone sulfotransferase is a target for transcriptional induction by the vitamin D receptor. 2004, *Mol Pharmacol* 65; 720-729
- <sup>63</sup> Wojtusik J, Johnson PA. Vitamin D regulates anti-Mullerian hormone expression in granulosa cells of the hen. 2012. *Biol Reprod* 86:91.
- <sup>64</sup> Avila E, Diaz L, Halhali A, Larrea F. Regulation of 25-hydroxyvitamin D3 1 alpha-hydroxylase, 1,25-dihydroxyvitamin D3 24-hydroxylase and vitamin D receptor gene expression by 8-bromo cyclic AMP in cultured human syncytiotrophoblast cells. 2004 *J Steroid Biochem Mol Biol* 89-90: 115-119
- <sup>65</sup> Malloy 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. 2009: *Endocrinology* 150: 1580-1587
- <sup>66</sup> Merhi Z, Doswell A, Krebs K, Cipolla M. Vitamin D alters genes involved in follicular development and steroidogenesis in human cumulus granulosa cells. 2014: *J Clin Endocrinol Metab* 99; E1137-1145
- <sup>67</sup> Miyashita M, Koga K, Izumi G, et al. Effect of 1,25-Dihydroxy Vitamin D3 on Endometriosis. 2016; *J Clin Endocrinol Metab* 101:22371-2379
- <sup>68</sup> Levi Setti PE, Colombo GV, Savasi V, Bulletti C, Albani E, Ferrazzi E. Implantation failure in as-sisted reproduction technology and a critical approach to treatment. 2004: *Ann N Y Acad Sci* 1034: 184-199
- <sup>69</sup> Rajaei S, Mirahmadian M, Jeddi-Tehrani M, et al. Effect of 1, 25(OH)<sub>2</sub> vitamin D3 on cytokine production by endometrial cells of women with repeated implantation failure. 2012: *Gynecol Endocrinol* 28: 906-911
- <sup>70</sup> Barrera D, Avila E, Hernandez G, et al. Estradiol and progesterone synthesis in human placenta is stimulated by calcitriol. 2007: *J Steroid Biochem Mol Biol* 103: 529-532
- <sup>71</sup> Tuan RS, Moore CJ, Brittingham JW, Kirwin JJ, Akins RE, Wong M. In vitro study of placental trophoblast calcium uptake using JEG-3 human choriocarcinoma cells. 1991: *J Cell Sci* 98: 333-342
- <sup>72</sup> Belkacemi L, Garipey G, Mounier C, Simoneau L, Lafond J. Expression of calbindin-D28k (CaBP258k) in trophoblasts from human term placenta. 2003: *Biol Reprod* 68: 1943-1950

- 
- <sup>73</sup> Chan SY, Susarla R, Canovas D, et al. Vitamin D promotes human extravillous trophoblast invasion in vitro. 2015: *Placenta* 36: 403-409
- <sup>74</sup> Du H, Daftary GS, Lalwani SI, Taylor HS. Direct regulation of HOXA10 by 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> in human myelomonocytic cells and human endometrial stromal cells. 2005 : *Mol Endocrinol* 19: 2222-2233
- <sup>75</sup> Halloran BP, DeLuca HF. Effect of vitamin D deficiency on fertility and reproductive capacity in the female rat. 1980: *J Nutr* 110: 1573-1580
- <sup>76</sup> Kinuta K, Tanaka H, Moriwake T, Aya K, Kato S, Seino Y. Vitamin D is an important factor in estrpgen biosynthesis of both female and male gonads. 2000: *endocrinology* 141: 1317-1324
- <sup>77</sup> Abbas MA, Taha MO, Disi AM, Shomaf M. Regression of endometrial implants treated with vitamin D<sub>3</sub> in a rat model of endometriosis. 2013: *Eur J Pharmacol* 715 : 72-75
- <sup>78</sup> Yildirim B, Guler T, Akbulut M, Oztekin O, Sariiz G. 1-alpha, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> regresses endometriotic implants in rats by inhibiting neovascularization and altering regulation of matrix metalloproteinase.2014: *Postgrad Med* 126: 104-110
- <sup>79</sup> Mariani M, Vigano P, Gentilini D, et al. The selective vitamin D receptor agonist, elocalcitol, reduces endometriosis development in a Mouse model by inhibiting peritoneal inflammation. 2012. *Hum Reprod* 27: 2010-2019
- <sup>80</sup> Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B, 2007 The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 92: 2017-2029.
- <sup>81</sup> Maestro B, Molero S, Bajo S, Davila N, Calle C. Transcriptional activation of the human insulin receptor gene by 1,25-dihydroxyvitamin D(3). 2002: *Cell Biochem Funct* 20: 227-232.
- <sup>82</sup> Dasgupta S, Dutta J, Annamaneni S, Kudugunti N, Battini MR, 2015 Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with polycystic ovary syndrome among Indian women. *Indian J Med Res* 142: 276-285.
- <sup>83</sup> Nick Voulgaris, Labrini Papanastasiou, George Piaditis, Anna Angelousi, Gregory Kaltsas, George Mastorakos, Eva Kassi. Vitamin D and aspects of female fertility. 2017: *Hormones*: 16(1):5-21
- <sup>84</sup> Bulun SE, 2009 Endometriosis. *N Engl J Med* 360: 268-279.

- 
- <sup>85</sup> Vigano P, Lattuada D, Mangioni S, et al, 2006 Cycling and early pregnant endometrium as a site of regulated expression of the vitamin D system. *J Mol Endocrinol* 36: 415-424.
- <sup>86</sup> Harris HR, Chavarro JE, Malspeis S, Willett WC, Missmer SA, 2013 Dairy-food, calcium, magnesium, and vitamin D intake and endometriosis: a prospective cohort study. *Am J Epidemiol* 177: 420-430.
- <sup>87</sup> Ciavattini A, Serri M, Delli Carpini G, Morini S, Clemente N, 2017 Ovarian endometriosis and vitamin D serum levels. *Gynecol Endocrinol* 33: 164-167.
- <sup>88</sup> Garbedian K, Boggild M, Moody J, Liu KE, 2013 Effect of vitamin D status on clinical pregnancy rates following in vitro fertilization. *CMAJ open* 1: E77-82.
- <sup>89</sup> Farzadi L, Khayatzadeh Bidgoli H, Chojazadeh et al, 2015 Correlation between follicular fluid 25-OH vitamin D and assisted reproductive outcomes. *Iran J Reprod Med* 13: 361-366.
- <sup>90</sup> Polyzos NP, Anckaert E, Guzman L, et al, 2014 Vitamin D deficiency and pregnancy rates in women undergoing single embryo, blastocyst stage, transfer (SET) for IVF/ICSI. *Hum Reprod* 29: 2032-2040.
- <sup>91</sup> Anifandis GM, Dafopoulos K, Messini CI, et al, 2010 Prognostic value of follicular fluid 25-OH vitamin D and glucose levels in the IVF outcome. *Reprod Biol Endocrinol* 8: 91.
- <sup>92</sup> Rudick BJ, Ingles SA, Chung K, Stanczyk FZ, Paulson RJ, Bendikson KA, 2014 Influence of vitamin D levels on in vitro fertilization outcomes in donor-recipient cycles. *Fertil Steril* 101: 447-452.
- <sup>93</sup> Franasiak JM, Molinaro TA, Dubell EK, et al, 2015 Vitamin D levels do not affect IVF outcomes following the transfer of euploid blastocysts. *Am J Obstet Gynecol* 212: 315.e1-6.
- <sup>94</sup> Fabris A, Pacheco A, Cruz M, Puente JM, Fatemi H, Garcia-Velasco JA, 2014 Impact of circulating levels of total and bioavailable serum vitamin D on pregnancy rate in egg donation recipients. *Fertil Steril* 102: 1608-1612.
- <sup>95</sup> Lv SS, Wang JY, Wang XQ, Wang Y, Xu Y, 2016 Serum vitamin D status and in vitro fertilization outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet* 293: 1339-1345.
- <sup>96</sup> Varela E, Biasco MA. Nobel prize in physiology or medicine: telomeres and telomerase. 2009; *Oncogene* 2010: 29: 1561-1565

- 
- <sup>97</sup> Raynaud CM, Sabatier L, Philipot O, et al. Telomere length, telomeric proteins and genomic instability during the multistep carcinogenic process. 2008. *Oncol Hematol* 66: 99-117
- <sup>98</sup> Treff NR, Su J, Taylor D, Scott RT Jr. Telomere DNA deficiency is associated with development of human embryonic aneuploidy. 2011. *PLoS Genet* 7:e1002161
- <sup>99</sup> Liu JJ, Prescott J, Giovannucci E, et al. Plasma vitamin D biomarkers and leukocyte telomere length. 2013. *Am J Epidemiol* : 177: 1411-1417
- <sup>100</sup> Zhu H, Guo D, Li K, et al. Increased telomerase activity and vitamin D supplementation in overweight African Americans. 2012. *Int J Obes*: 36 : 805-809
- <sup>101</sup> Borrás M, Panizo S, Sarro F, et al. Assessment of the potential role of active vitamin D treatment in telomere length: a case-control study in hemodialysis patients. 2012. *Clin Ther*: 34: 846-856
- <sup>102</sup> Ergur, A.T., et al., Vitamin D deficiency in Turkish mothers and their neonates and in women of reproductive age. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*, 2009. 1(6): p. 266-9.
- <sup>103</sup> Gur, G., et al., Incidence of maternal vitamin D deficiency in a region of Ankara, Turkey: a preliminary study. *Turk J Med Sci*, 2014. 44(4): p. 61623.
- <sup>104</sup> Thandrayen K, Pettifor J. Maternal vitamin D status: implications for the development of infantile nutritional rickets. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2010;38:303–320.
- <sup>105</sup> Wei, S.Q., et al., Longitudinal vitamin D status in pregnancy and the risk of pre-eclampsia. *BJOG*, 2012. 119(7): p. 832-9.
- <sup>106</sup> American Academy of Pediatrics. Clinical Report: Prevention of Rickets and Vitamin D Deficiency: New Guidelines for Vitamin D. *Pediatrics*. 2003;111:908–911
- <sup>107</sup> Zarnani AH, Shahbazi M, Salek-Moghaddam A, et al. Vitamin D3 receptor is expressed in the endometrium of cycling mice throughout the estrous cycle. 2010. *Fertil Steril* 93; 2738-2743
- <sup>108</sup> Avila E, Diaz L, Halhali A, Larrea F. Regulation of 25-hydroxyvitamin D3 1 alpha-hydroxylase, 1,25-dihydroxyvitamin D3 24-hydroxylase and vitamin D receptor gene expression by 8-bromo cyclic AMP in cultured human syncytiotrophoblast cells. 2004 *J Steroid Biochem Mol Biol* 89-90: 115-119
- <sup>109</sup> Vigano P, Lattuada D, Mangioni S, et al, 2006 Cycling and early pregnant endometrium as a site of regulated expression of the vitamin D system. *J Mol Endocrinol* 36: 415-424.

---

<sup>110</sup> Miyashita M, Koga K, Izumi G, et al. Effect of 1,25-Dihydroxy Vitamin D3 on Endometriosis. 2016; J Clin Endocrinol Metab 101:22371-2379

<sup>111</sup> Chan SY, Susarla R, Canovas D, et al. Vitamin D promotes human extravillous trophoblast invasion in vitro. 2015; Placenta 36: 403-409

<sup>112</sup> Du H, Daftary GS, Lalwani SI, Taylor HS. Direct regulation of HOXA10 by 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> in human myelomonocytic cells and human endometrial stromal cells. 2005 : Mol Endocrinol 19: 2222-2233

<sup>113</sup> Rajaei S, Mirahmadian M, Jeddi-Tehrani M, et al. Effect of 1, 25(OH)<sub>2</sub> vitamin D<sub>3</sub> on cytokine production by endometrial cells of women with repeated implantation failure. 2012: Gynecol Endocrinol 28: 906-911