



**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**TAZE BLASTOKİST TRANSFERİ YAPILAN TÜP BEBEK  
SİKLUSLARINDA ERKEN VE ORTA LUTEAL DÖNEM KAN  
PROGESTERON SEVİYELERİNİN DEVAM EDEN GEBELİK  
ORANLARI ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Esra UYANIK**

**UZMANLIK TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA**

**2020**





**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**TAZE BLASTOKİST TRANSFERİ YAPILAN TÜP BEBEK  
SİKLUSLARINDA ERKEN VE ORTA LUTEAL DÖNEM KAN  
PROGESTERON SEVİYELERİNİN DEVAM EDEN GEBELİK  
ORANLARI ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Esra UYANIK  
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Hakan YARALI**

**ANKARA  
2020**

## TEŞEKKÜR

Tez öğrencisi olabilme şansına erişerek, gerek tezimin hazırlık süreci boyunca gerekse uzmanlık eğitimim süresince değerli bilgi ve tecrübelerinden faydalanabildiğim ve pratik uygulamaları beraber yapabilme fırsatını yakaladığım, tezimin her aşamasında en ufak detaylarla bile titizlikle ilgilenerek emeklerini esirgemeyen ve sayesinde akademik bir çalışmanın ve vizyonun bir parçası olabildiğim, kıymetli hocam ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. Hakan Yaralı'ya;

Uzmanlık eğitimim boyunca yetişmemde emekleri olan, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım başta Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. G. Serdar Günalp olmak üzere tüm değerli hocalarıma;

Tezimin birçok aşamasında tecrübelerinden ve fikirlerinden faydalandığım sayın hocam Prof. Dr. Gürkan Bozdağ ve analiz kısmı başta olmak üzere her aşamasında desteğini ve yardımını esirgemeyen Doç. Dr. Sezcan Mümüüşoğlu'na;

Doç. Dr. Mehtap Polat ve Uzm. Dr. Esra Nuhođlu Bilgin başta olmak üzere tüm Anatolia Tüp Bebek Merkezi ailesine;

Asistanlık hayatım boyunca doğumhane, poliklinik, ameliyathane, servisler, perinatoloji ve tüp bebek ünitelerinde birlikte çalıştığım tüm uzman doktor, asistan, hemşire ve sağlık personeli arkadaşlarıma;

Hayatımın her alanında olduğu gibi uzmanlık eğitimim boyunca da her türlü zorlukta desteklerini arkamda hissettiğim ve her zaman yanımda olan sevgili annem ve babam Aynur ve Sırrı Uyanık'a ve canım kardeşlerim Şeküre ve Ecenur Uyanık'a;

Teşekkürlerimi sunarım.

**Dr. Esra UYANIK**

## ÖZET

**Uyanık E., Taze blastokist transferi yapılan tüp bebek sikluslarında erken ve orta luteal dönem kan progesteron seviyelerinin devam eden gebelik oranları üzerine etkisinin araştırılması, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Uzmanlık Tezi, Ankara 2020.** Taze embriyo transfer sikluslarında, luteal fazda serum progesteron (P<sub>4</sub>) düzeylerinde bireyler arasında anlamlı farklılıklar vardır. Taze sikluslarda luteal faz serum P<sub>4</sub> düzeylerinin, reproduktif sonuçlar üzerine etkisini araştıran çalışmalar yetersizdir. Bu çalışmada, taze blastokist transferi yapılan, rhCG tetiklemesi ve standart luteal faz desteği (LFD) kullanan sikluslarda, erken/orta luteal faz P<sub>4</sub> düzeylerinin devam eden gebelik oranlarına etkisinin araştırılması amaçlandı. Çalışmaya dahil edilme ve dışlama kriterlerini karşılayan 126 hasta prospektif olarak dahil edildi. Ovaryan stimülasyonda GnRH agonist (n=31) veya GnRH antagonist (n=95) protokolleri ve ovulasyon tetiklemesi için rhCG kullanıldı. LFD için günde 1 defa 90 mg vajinal progesteron jel kullanıldı. Serum P<sub>4</sub> düzeyleri trigger günü, OPU günü, OPU+3 günü, OPU+5 günü ve OPU+14 günü olmak üzere beş durumda ölçüldü. Primer çıktı, devam eden gebelik ( $\geq 12$ . gebelik haftası) olarak alındı. Trigger günü, OPU günü ve OPU+3 günü P<sub>4</sub> düzeyleri devam eden gebeliği olan (n=57) ve olmayan (n=69) hastalarda benzer iken, OPU+5 gününde devam eden gebeliği olan hastalarda anlamlı olarak daha yüksek P<sub>4</sub> düzeyleri izlendi (104.4 $\pm$ 35.1 ve 84.8 $\pm$ 34.8 ng/ml, p<0.001). Hastaların  $\approx 1/3$ 'ünde OPU+3 ile OPU+5 günü arasında P<sub>4</sub> düzeylerinde düşme olduğu (negatif- $\Delta P_4$ ) ve bu durumun pozitif  $\Delta P_4$  olan hastalara göre devam eden gebelik oranlarında anlamlı olarak azalma ile ilişkili olduğu izlendi (31.1% vs 53.1%, p=0.03). Negatif- $\Delta P_4$  olan hastalar için, negatif- $\Delta P_4$  büyüklüğü devam eden gebeliğin anlamlı bir prediktörüdür. Vücut kitle indeksi ve FSH tüketimi negatif- $\Delta P_4$ 'un anlamlı prediktörleri olarak bulundu. Lojistik regresyon analizi yapıldığında, sadece  $\Delta P_4$  devam eden gebeliğin bağımsız prediktörü olarak izlendi. Yapılacak iki adet serum P<sub>4</sub> ölçümü ile P<sub>4</sub> düzeylerinde düşme olan, yani devam eden gebelik oranlarında 2,5 kat azalma olan hastalar tespit edilerek bu siklusların ek P<sub>4</sub> desteği ile veya donma-çözme politikası ile kurtarılabilceği ileri randomize kontrollü çalışmalar ile test edilmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** İVF, hCG trigger, luteal faz, progesteron, devam eden gebelik

## ABSTRACT

**Uyank E., A drop-in serum progesterone from day-3 to day-5 of fresh blastocyst transfer, using hCG-trigger and standard luteal support is associated with lower ongoing pregnancy rates, Department of Obstetrics and Gynecology, Dissertation, Ankara 2020.** In fresh embryo transfer cycles, significant inter-personal variation occurs in serum progesterone (P<sub>4</sub>) levels during the luteal phase. There is paucity of data exploring the possible impact of luteal phase serum P<sub>4</sub> levels on reproductive outcomes. We aimed to investigate the effect of early/mid-luteal serum P<sub>4</sub> levels on ongoing pregnancy rate (OPR) in fresh blastocyst transfer cycles employing rhCG trigger and standard luteal phase support (LPS). Using a prospective cohort study design, 126 patients were included in the analysis. A GnRH agonist (n=31) or GnRH antagonist (n=95) protocol was used for ovarian stimulation and rhCG was employed for trigger. 90 mg of vaginal progesterone gel once daily was used for LPS. Serum P<sub>4</sub> levels were measured on five occasions; on the day of ovulation trigger, OPU, OPU+3, OPU+5 and OPU+14 day. The primary outcome was ongoing pregnancy (OP), as defined by pregnancy  $\geq$ 12 weeks of gestational age. While mean P<sub>4</sub> levels on the day of trigger, OPU, and OPU+3 were comparable among patients with (n=57) or without (n=69) OP, a significantly higher P<sub>4</sub> levels on OPU+5 day (104.4 $\pm$ 35.1 vs 84.8 $\pm$ 34.8 ng/ml, p<0.001) was seen in patients with OP. A drop in P<sub>4</sub> level from OPU+3 to OPU+5 day (negative- $\Delta$ P<sub>4</sub>) was seen in  $\approx$ 1/3 of patients, and was associated with a significantly lower OPR when compared with positive- $\Delta$ P<sub>4</sub> counterparts (31.1% vs 53.1%, p=0.03). For negative- $\Delta$ P<sub>4</sub> patients, the magnitude of negative- $\Delta$ P<sub>4</sub> was a significant predictor of OP. Body mass index and FSH consumption for OS were significant predictors of negative- $\Delta$ P<sub>4</sub>. When logistic regression analysis was performed, only  $\Delta$ P<sub>4</sub> was noted to be an independent predictor of OP. Two measurements of serum P<sub>4</sub> levels may delineate those patients with a drop in P<sub>4</sub> levels and associated with 2.5-fold lower OPRs. Rescuing these IVF cycles with additional P<sub>4</sub> supplementation or adopting a blastocyst freeze-all policy should be tested in future randomized controlled trials.

**Keywords:** IVF, hCG trigger, luteal phase, progesterone, ongoing pregnancy

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
TABLOLAR DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Luteal Faz Fizyolojisi.....	3
2.2 İVF Sikluslarında Luteal Faz.....	7
2.3 Luteal Faz Desteği.....	8
2.4 Luteal Faz Monitarizasyonu.....	10
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
3.1 Hasta Seçimi.....	17
3.2 Ovaryan Stimülasyon Protokolleri, Ovulasyon Tetiklemesi ve Embriyo Transferi.....	17
3.3 Luteal Faz Desteği.....	18
3.4 Kan Örnekleme ve P <sub>4</sub> Ölçümleri.....	18
3.5 Reprodüktif Sonuçlar ve Tanımlar.....	19
3.6 Örneklem Büyüklüğü Analizi.....	19
3.7 İstatistiksel Analiz.....	21
3.8 Etik Kurul Onayı.....	21
4. BULGULAR.....	22
4.1 Reprodüktif Sonuçlar.....	24
4.2 Serum P <sub>4</sub> Düzeyleri.....	24
4.3 Devam Eden Gebeliği Olan ve Olmayan Hastaların Karşılaştırılması.....	25
4.4 Delta P <sub>4</sub> ( $\Delta P_4$ ) ng/ml = OPU+5 günü – OPU+3 günü.....	28
5. TARTIŞMA.....	32
6. SONUÇ.....	37
7. KAYNAKLAR.....	38

**KISALTMALAR**

AUC	:	Eğri Altında Kalan Alan
DET	:	Donmuş Embryo Transferi
E <sub>2</sub>	:	Estradiol
ESHRE:		Avrupa İnsan Üreme ve Embriyoloji Derneđi
ET	:	Embriyo Transferi
FSH	:	Folikül Stimüle Edici Hormon
GnRH	:	Gonadotropin Sekrete Edici Faktör
hCG	:	İnsan Koryonik Gonadotropin
HRT	:	Hormon Replasman Tedavisi
IVF	:	İn Vitro Fertilizasyon
LFD	:	Luteal Faz Desteği
LH	:	Luteinizan Hormon
OHSS	:	Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu
OPU	:	Oosit Pick-Up
OR	:	Olasılık Oranı
OS	:	Ovaryan Stimülasyon
P <sub>4</sub>	:	Progesteron
PGF <sub>2<math>\alpha</math></sub>	:	Prostaglandin F <sub>2<math>\alpha</math></sub>
ROC	:	Receiver Operating Characteristic
SE	:	Standart Hata
SD	:	Standart Sapma
VKİ	:	Vücut Kitle İndeksi
YÜT	:	Yardımcı Üreme Teknikleri



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
<b>Şekil 2.1.</b> Korpus luteumda LH bağımsız intra-luteal P <sub>4</sub> üretimi döngüsünün şematik gösterimi.....	5
<b>Şekil 2.2.</b> Uyarılmış İVF sikluslarında luteal faz uzunluğu ve progesteron düzeyinin şematik gösterimi.....	7
<b>Şekil 4.1.</b> Hasta katılımını gösteren diyagram.....	22
<b>Şekil 4.2.</b> Trigger günü, OPU günü, OPU+3 günü ve OPU+5 günü tüm hasta popülasyonunun serum P <sub>4</sub> düzeyleri, ng/ml: <b>a)</b> Ortalama ± SE (%95 CI); <b>b)</b> Dağılım grafiği.....	24
<b>Şekil 4.3.</b> Trigger günü, OPU günü, OPU+3 günü ve OPU+5 günü tüm devam eden gebeliği olan ve olmayan hasta gruplarında serum P <sub>4</sub> düzeyleri, ng/ml: <b>a)</b> Ortalama ± SE (%95 CI); <b>b)</b> Dağılım grafiği.....	27
<b>Şekil 4.4.</b> Devam eden gebeliği olan ve olmayan hasta gruplarında ΔP <sub>4</sub> ng/ml (OPU+5 günü – OPU+3 günü): <b>a)</b> Ortalama ± SD (minimum-maksimum); <b>b)</b> Dağılım grafiği ortalama ± SE (%95 CI).....	28
<b>Şekil 4.5.</b> Pozitif -ΔP <sub>4</sub> ve negatif-ΔP <sub>4</sub> olan hasta gruplarında reproduktif sonuçların oranı.....	29

**TABLULAR DİZİNİ**

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 2.1.</b> HRT ve DET sikluslarında P <sub>4</sub> düzeyleri ile ilgili yapılan çalışmalar.....	12
<b>Tablo 3.1.</b> OPU+3 günü serum P <sub>4</sub> düzeyi persentillerine göre düzeltilmiş reprodüktif sonuçlar.....	20
<b>Tablo 3.2.</b> OPU+5 günü serum P <sub>4</sub> düzeyi persentillerine göre düzeltilmiş reprodüktif sonuçlar .....	20
<b>Tablo 4.1.</b> Hastaların demografik özellikleri ve OS parametreleri.....	23
<b>Tablo 4.2.</b> Devam eden gebeliği olan ve olmayan hastaların demografik özellikleri ve siklus karakteristiklerinin karşılaştırılması.....	26
<b>Tablo 4.3.</b> Devam eden gebeliğin bağımsız prediktörlerinin tespiti için lojistik regresyon analizi.....	30

## 1.GİRİŞ

Progesteron (P<sub>4</sub>), hem spontan menstrual siklularda hem de in vitro fertilizasyon (İVF) siklulalarında normal intrauterin gebeliğin implantasyonu ve idame ettirilmesi için luteal fazda varlığı esas olan bir hormondur (1). Bu hormonun gebelik üzerine etkileri, maternal immün yanıtın düzenlenmesi ve inflamatuvar yanıtın baskılanması, uterin kontraktilitenin azaltılması, utero-plasental sirkülasyonun iyileştirilmesi ve luteal fazın desteklenmesi gibi farklı mekanizmalara dayanmaktadır (2).

Spontan menstrual siklularda, kan P<sub>4</sub> düzeyi luteinizan hormon (LH) uyarısı ile korpus luteumdan salgılanarak ovulasyon sonrası 6-8. günlerde pik yapmaktadır ve bu da embriyo implantasyonu ile aynı zamana denk gelmektedir (3). Fakat, uyarılmış İVF siklulalarında ekzojen gonadotropinler ile ovaryan stimülasyon (OS) sonrası fizyolojik seviyenin üzerinde olan seks steroidlerine bağlı baskılanmış LH nedeniyle luteal faz defektiftir. Oosit maturasyonu için insan koryonik gonadotropin (hCG) ile tetikleme yapılması da P<sub>4</sub> düzeyini luteal dönemin erken fazında yükselterek implantasyonun gerçekleşeceği zaman embriyo ve endometriyum arasında asenkronizasyona sebep olmakta ve bu da implantasyon başarısızlığı ile sonuçlanabilmektedir (4). Bu asenkronizasyonu gidermek için taze embriyo transferi planlanan tüm uyarılmış İVF siklulalarında luteal faz desteği (LFD) uygulanması gerekmektedir.

Taze embriyo transfer siklulalarının luteal fazında dolaşımdaki P<sub>4</sub> düzeylerinin kaynağı, OS sonrası gelişen çok sayıda korpus luteum ve LFD için ekzojen verilen P<sub>4</sub>'tür. Daha önce yapılan çalışmalarda oosit maturasyonu için tetiklemede ve LFD'inde aynı ilaçlar kullanılmasına rağmen luteal fazda dolaşımdaki P<sub>4</sub> düzeylerinde kişiler arasında belirgin farklılıklar izlendiği ve P<sub>4</sub> düzeyi belirli bir aralıkta olduğunda gebelik elde edebilme şansının optimal olduğu, bu aralığın üstünde ve altındaki P<sub>4</sub> düzeylerinde gebelik şansının düştüğü gösterilmiştir (5). Yine İVF tedavisi almakta olan hastalar üzerinde yapılan seri kan ölçümlerinde dolaşımdaki P<sub>4</sub> düzeylerinin gün içinde aynı hastada varyasyon gösterdiği ve düşük P<sub>4</sub> düzeyleri olan hastalarda yapılacak tek ölçüm ile optimal olmayan düzeylerde endometriyal P<sub>4</sub> maruziyeti olan İVF hastalarının doğrulukla tespit edilebileceği gösterilmiştir (6).

Günümüzde İVF tedavisinin birçok basamağı bireyselleştirilmiştir fakat LFD uygulanırken etki eden faktörlerin yeterince bilinmemesi nedeniyle genellikle bireysel ve bireyler arası farklılıklar göz önünde bulundurulmadan her hastaya aynı protokol uygulanmaktadır. LFD'nin bireyselleştirilmesine yönelik, taze transfer yapılan İVF sikluslarında luteal faz kan P<sub>4</sub> düzeylerinin reproduktif sonuçlar üzerine etkisini gösteren çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada taze blastokist transferi yapılan İVF sikluslarında erken ve orta luteal faz P<sub>4</sub> düzeylerinin devam eden gebelik oranları üzerine etkisinin olup olmadığının araştırılması ve eğer etkisi varsa etki eden faktörlerin belirlenerek LFD'nin bireyselleştirilmesi ile literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Luteal Faz Fizyolojisi

Luteal faz, ovulasyona neden olan LH pikininin olduğu gün ile bir sonraki menstruasyonun başlangıcına veya gebeliğin tespitine kadar geçen süredir ve yaklaşık 12-16 gün sürer. Normal bir luteal faz fonksiyonu için optimal bir preovulatuvar foliküler gelişim gereklidir. Korpus luteum, menstrual siklusun luteal fazında ve erken gebeliğin ilk 8 haftasında aktif olan geçici bir ovaryan endokrin bezdir ve granüloza ve teka hücrelerinin luteinizasyonu ile oluşur. Luteal faz sırasında korpus luteum P<sub>4</sub>, östradiol (E<sub>2</sub>), androjenler ve büyüme hormonları üretir. Luteinize granüloza ve teka hücrelerinden steroidogenezisin gerçekleşebilmesi ve korpus luteumun fonksiyonunun devamı için düzenli hipofizer LH ve hCG uyarımı gereklidir. İmplantasyonun ve erken gebeliğin idamesini sağlayan endometriyumun desidualizasyonu ve sekretuvar faza geçişi için korpus luteumdan yeterli miktarda P<sub>4</sub> üretimi şarttır (7).

Granüloza hücrelerinin, ovulatuvar LH pikine yanıt verebilmesi ve başarılı bir korpus luteum oluşturabilmesi için LH reseptörleri kazanmış olması gerekmektedir. Folikül stimüle edici hormon (FSH), foliküler fazda büyük antral foliküllerin granüloza hücrelerinde LH reseptörlerinin oluşmasını sağlar. Foliküler fazda artan östrojen konsantrasyonları da LH reseptör oluşumu için gereklidir. LH reseptörlerinin birikimi, luteinizasyonun süresinin ve korpus luteumun fonksiyonel kapasitesinin belirleyicisidir (8). Bu dönemde FSH supresyonu yapılması, düşük preovulatuvar östrojen düzeyleri, azalmış orta luteal faz P<sub>4</sub> üretimi ve azalmış luteal hücre kitlesi ile ilişkilidir (9).

Korpus luteumun ömrü ve steroidogenez kapasitesi, devamlı ve tonik bir LH sekresyonunun varlığına bağlıdır. Hipofizektomize hastalarda yapılan çalışmalarda, normal bir korpus luteum fonksiyonu için küçük miktarlarda ve devamlı bir LH sekresyonunun gerekli olduğu gösterilmiştir (10).

Korpus luteum kompleks ve heterojen bir yapıdır. Luteal hücreler dışında, endotelial hücreler, lökositler ve fibroblastlar da içerir. Kompleks yapısının aksine bir harmoni içinde çalışır ve insan vücudunda iletişimin en güzel örneklerinden biridir. Luteal hücreler de homojen değildir ve birbirlerinden yapısal ve fonksiyonel olarak farklı olan iki hücre grubundan oluşur; i) küçük luteal hücreler ii) büyük luteal hücreler (11). Küçük luteal hücrelerin foliküler teka hücrelerinden, büyük luteal hücrelerin ise

foliküler granüloza hücrelerinden geliştiği kabul edilir. Küçük hücreler sayıca daha fazladır ve her iki hücre tipi de bol miktarda P<sub>4</sub> üretme kapasitesine sahiptir. Her iki hücrenin de steroidogenez aktivitesi kendisine özgüdür ve korpus luteumda preovulatuvar folikül analogu olarak E<sub>2</sub> sentezindeki “iki hücre” mekanizmasının devam ettiğini düşündürmektedir (12). Yani büyük luteal hücreler E<sub>2</sub> sentezi için gereken P450-aromataz enzimini içerirken, küçük luteal hücreler androjen üretimi için gereken P450c17 enzimini içerir (13, 14). Her iki luteal hücre tipi de E<sub>2</sub> reseptörünü eksprese eder (15) ve E<sub>2</sub> uyarısı bu hücrelerden P<sub>4</sub> salınması için güçlü bir uyarandır (16).

Büyük ve küçük luteal hücrelerin izolasyonu ile yapılan çalışmalar sonrası, LH piki sonrası bazal P<sub>4</sub> üretiminin büyük çoğunluğunun büyük luteal hücreler tarafından sağlandığı (17) ve bu üretimin LH uyarımı ile daha da artmadığı anlaşılmıştır (18). Steroidogenezisin büyük bir kısmı büyük luteal hücreler tarafından gerçekleştirilmesine rağmen LH ve hCG reseptörleri yalnızca küçük hücreler tarafından eksprese edilmektedir (19). Büyük luteal hücrelerin, hücreler arası iletişimi sağlayan gap junctionlar sayesinde direkt gonadotropin uyarısına ihtiyaç duymadan, gonadotropinler tarafından uyarılan küçük luteal hücrelerdeki düzenleyici mekanizmaların etkisi altında fonksiyon gördüğü düşünülmektedir. Ek olarak, korpus luteum fonksiyonu genel olarak endotelial ve immun hücrelerin otokrin ve parakrin sinyallerinin etkisi altındadır (20).

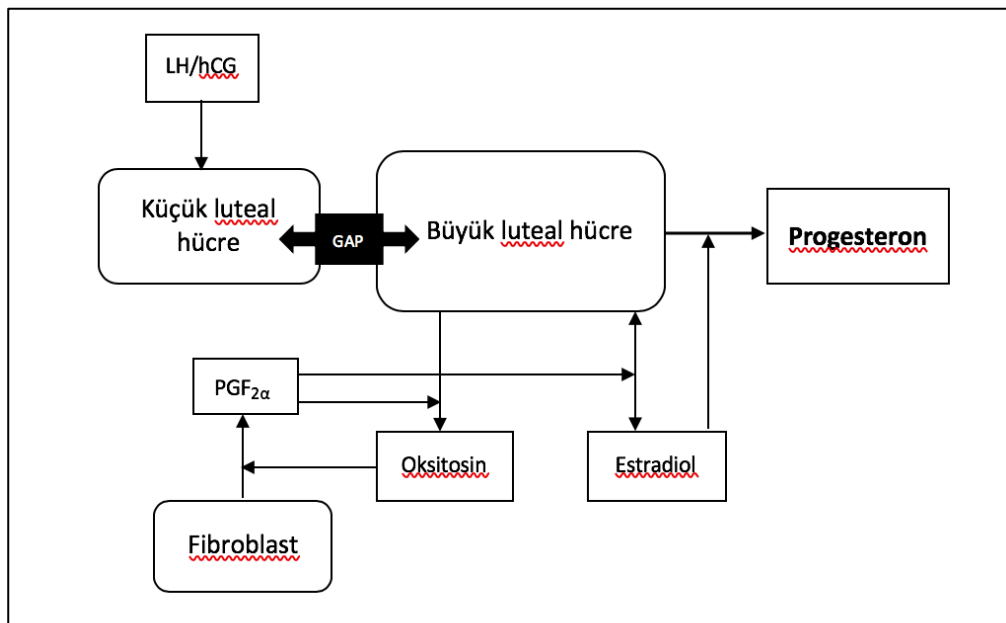
Erken luteal fazda P<sub>4</sub> üretiminin dominant kaynağı olan büyük luteal hücreler P<sub>4</sub>'u sabit bir oranda üretir ve non-pulsatildir (21). Küçük luteal hücrelerin LH ve hCG'ye yanıt vermesi, P<sub>4</sub> üretiminin LH pulsasyonlarına cevap olarak arttığı erken - orta luteal fazda oluşur. Küçük luteal hücreler kaynaklı P<sub>4</sub> üretimi, P<sub>4</sub> üretiminin giderek daha da pulsatil olduğu orta - geç luteal fazda artar (22).

Yani, endojen orta luteal faz P<sub>4</sub> düzeyleri üç temel kaynaktan oluşur;

- i) büyük luteal hücrelerden bazal P<sub>4</sub> üretimi,
- ii) küçük luteal hücrelerden hipofizer LH etkisi ile salınan P<sub>4</sub> pulsasyonları,
- iii) luteotrofik uyarıdan bağımsız olan otonom P<sub>4</sub> dalgalanmaları.

Daha önce, Wuettke ve ark., orta luteal faz P<sub>4</sub> düzeylerindeki LH uyarısından bağımsız dalgalanmaların luteal dokudaki otokrin ve parakrin mekanizmalar kaynaklı

olduğunu açıklayan bir model öne sürmüşlerdir (20). Orta luteal fazda LH uyarısını takiben, küçük luteal hücreler  $P_4$  ile birlikte androstenedion üretmeye başlar ve bu daha sonra büyük luteal hücrelerde P450-aromataz enzimi ile  $E_2$ 'ye dönüştürülür. Artan  $E_2$  konsantrasyonları büyük luteal hücrelerde otokrin etki yaparak, hem  $P_4$  hem de oksitosin salınmasını artırır. Oksitosin, fibroblastlardan  $PGF_{2\alpha}$  salınmasını uyarır ve bu da yanıt olarak luteal hücrelerden daha fazla oksitosin ve  $E_2$  sekresyonuna sebep olur. Oksitosin ve  $PGF_{2\alpha}$ 'nın luteal hücreler üzerindeki izole etkisi  $P_4$  salınımında azalmaz fakat bu etki beraberinde tetiklenen ve belirgin  $P_4$  salınımına yol açan  $E_2$  artışının etkisinin gölgesinde kalır. Bu yolak ile LH pulsasyonu,  $E_2$ , oksitosin,  $PGF_{2\alpha}$  ve muhtemelen başka düzenleyici peptidlerin (P maddesi vb.) otokrin ve parakrin etkilerini içeren ve net etkisi  $P_4$  pulsasyonu olan bir intra-luteal sirkulasyonu uyarır. Bu sirkulasyon ek bir gonadotropin desteği olmaksızın, bir sonraki LH pulsasyonu yeniden intra-luteal  $E_2/P_4$  döngüsünü başlatana kadar, salınımı gittikçe azalan  $P_4$  pulsasyonları ile sonuçlanarak saatlerce fonksiyonuna devam eder. Bu bağımsız intra-luteal  $P_4$  pulsasyon oluşturma mekanizması, LH pulsasyonları arasında  $P_4$  seviyelerinin düşmesini engelleyerek ek bir biyolojik güvenlik mekanizması olarak da işlev görür ve insanlarda luteal fazda önemli miktarlarda  $E_2$  üretiminin fonksiyonunu açıklar (20) (Şekil 2.1).



**Şekil 2.1.** Korpus luteumda LH bağımsız intra-luteal  $P_4$  üretimi döngüsünün şematik gösterimi

Ovulasyon sonrası P<sub>4</sub>, 1-2 ng/mL düzeylerinden artmaya başlayarak LH pikinden yaklaşık 8 gün sonra pik düzeylerine ulaşır. Ovulasyon sonrası luteal fazda kan P<sub>4</sub> düzeyleri 3-15 ng/mL arasında değişir (21). Luteal fazda yeni foliküler gelişimin önlenmesi, östrojen, P<sub>4</sub> ve inhibin A'nın negatif feed-back etkisi ile düşük olan gonadotropin düzeyleri ile sağlanmaktadır. Foliküler fazda inhibin B düzeyleri yüksek iken, luteal fazda ovulatuvar folikülün korpus luteuma dönüşmesi ile inhibin ekspresyonu LH kontrolüne geçer ve inhibin B yerine inhibin A ekspresyonu başlar (23). İnhibin A düzeyleri geç foliküler fazda artmaya başlayarak orta luteal fazda pik düzeylerine ulaşır (24). İnhibin A, FSH'ın luteal fazda baskılanarak düşük düzeylerde kalmasına ve luteo-foliküler geçişteki değişikliklere katkıda bulunur.

Normal bir siklusta LH pikinden menstrasyonun başlangıcına kadar geçen süre ortalama 14 gündür ve luteal fazın 11 ila 17 gün arasında olması normal kabul edilir. Menstrual siklus süresindeki varyasyonlar, foliküler fazdaki foliküler gelişim ve maturasyon için gereken gün sayısı arasındaki farklılıklara bağlıdır (25). Korpus luteum ovulasyondan 9-11 gün sonra mekanizması tam olarak bilinmeyen bir şekilde kendiliğinden geriler.

Korpus luteumun luteolizisten kurtarılması için yeni bir uyarana ihtiyaç vardır ve bu da, eğer implantasyon gerçekleşirse, implante olmuş blastokistten salgılanacak olan hCG'dir. İmplantasyon genellikle ovulasyondan sonra 5-6. günlerde gerçekleşir ve korpus luteumu kurtarmak için hCG'nin ovulasyondan sonra 10. güne kadar ortaya çıkması gerekir ki bu da blastokistin bu dar zaman aralığında başarılı bir şekilde implante olmasını gerektirir (26). İmplantasyon gerçekleşirse trofoblastlardan salgılanan hCG ile korpus luteum luteolizisten kurtarılarak fonksiyonunu devam ettirir ve plasentanın yaklaşık 7. haftada bu görevi devralmasına kadar P<sub>4</sub> üretiminin kaynağını oluşturur (27). Erken dönemde yapılan çalışmalarda bu haftadan önce luteektomi uygulanan hastalarda kan P<sub>4</sub> seviyelerinin anlamlı bir şekilde düştüğü ve düşüklerin olduğu izlenmiştir. Luteektomi yapılan hastalara dışarıdan P<sub>4</sub> takviyesi verildiğinde ise gebeliğin devam ettiği izlenmiştir (28).

Gestasyonun 7-10. haftaları arasında luteo-plasental geçiş gerçekleşerek P<sub>4</sub> sentezinin çoğunluğu plasentaya geçer ve maternal P<sub>4</sub> düzeyleri progresif olarak artar. Termde P<sub>4</sub> düzeyleri 100-200 ng/mL arasında değişir ve plasenta günlük 250 mg P<sub>4</sub> üretir (29, 30).

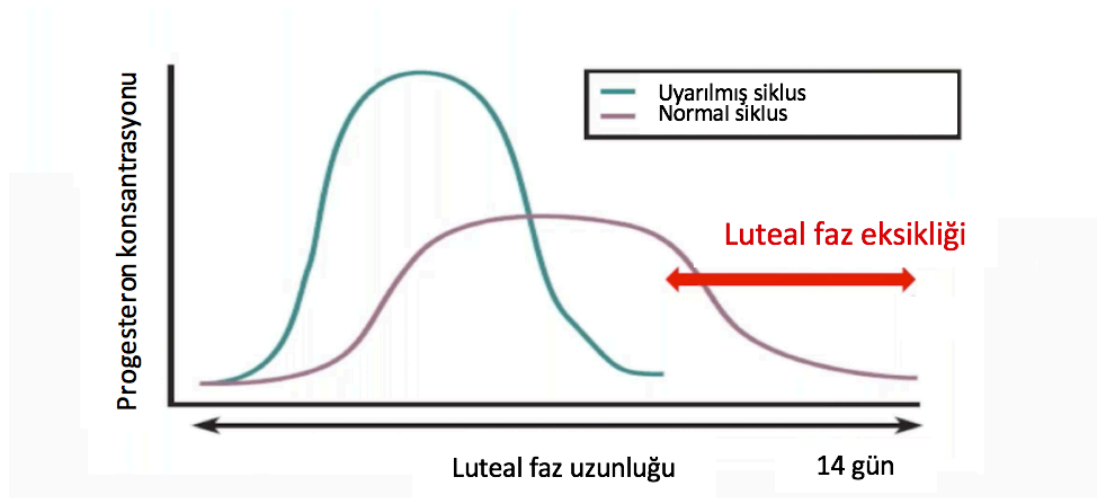


Başarılı bir implantasyonun gerçekleşebilmesi için P<sub>4</sub> aktivitesinin varlığı gerekmektedir. P<sub>4</sub>, implantasyonu hem maternal uterusu hem de gelişen blastokisti etkileyerek hızlandırır. Zona pellusidanın lizisi için gereken enzimlerin salgılanmasını uyarır. Endometriumun sekretuar fazda P<sub>4</sub> reseptörleri üzerinden desidualizasyonunu destekleyerek endometriumu implantasyona hazırlar (31, 32).

Maternal immün sistem için fetus semi-allograft özelliktedir. Maternal immün yanıt hem implantasyon sürecinde hem de gebeliğin devamında anahtar rol oynamaktadır. P<sub>4</sub>'un, fetomaternal arayüzde T-helper 2 yanıtını artırarak fetal antijenlere karşı gelişen maternal immünolojik yanıtı baskıladığı ve trofoblastların maternal rejeksiyonunu önlediği gösterilmiştir (33).

P<sub>4</sub>, gebelik sırasında intraselüler kalsiyum konsantrasyonları, prostaglandinler, relaksin ve oksitosin üzerinden myometriyal kontraktileti de baskılayarak gebelik boyunca uterin sessizliğin sağlanmasında önemli rol oynar (34).

## 2.2. İVF Sikluslarında Luteal Faz



**Şekil 2.2.** Uyarılmış İVF sikluslarında luteal faz uzunluğu ve progesteron profilinin şematik gösterimi (35)

Yardımcı üreme teknikleri (YÜT) kullanıldığı zaman spontan menstrual sıklustan farklı olarak luteal faz disfonksiyonu yaygın olarak görülmektedir. OS sonrasında oluşan çok sayıda folikülden salgılanan yüksek doz steroid seviyeleri LH üzerine negatif feedback etki yaparak LH sekresyonunda azalmaya yol açar. Azalan LH düzeyleri korpus luteumu yeterince uyaramaz ve dolayısıyla prematür luteolizise yol açarak luteal fazın kısalmasına neden olur (36) (Şekil 2.2). İVF sikluslarında bu

eksikliğin üstesinden gelebilmek için dışarıdan P<sub>4</sub> takviyesi uygulanmaktadır ve LFD için P<sub>4</sub> verilmediği durumlarda gebelik oranlarının %0-18 olduğu görülmüştür (37).

Luteal fazın defektif olduğu ve desteklenmesi gerektiği ilk olarak 1980 yılında Edwards tarafından tanımlanmış fakat altta yatan mekanizması aydınlatılamamıştır (38). 1992'de Smitz ve ark. tarafından YÜT'te GnRH agonistleri kullanımına bağlı uzamış hipofizer baskılanma nedeniyle LH'nin azaldığı ve korpus luteumu yeterince destekleyemediği gösterilmiştir (39). Ardından yapılan metaanalizlerle GnRH agonist sikluslarında bu veriler desteklenmiş ve 2015 yılında Linden ve ark. tarafından yapılan Cochrane metaanalizinde luteal fazda P<sub>4</sub> desteği verilen sikluslarda verilmeyenlere göre gebelik oranlarının anlamlı olarak daha yüksek olduğu gösterilmiştir (40). GnRH agonist sikluslarında olduğu gibi, GnRH antagonist sikluslarında da luteal faz desteği verilmediği zaman gebelik oranlarının düştüğü ve oosit maturasyonunu tetikleme protokolünden bağımsız olarak luteal fazın desteklenmesi gerektiği gösterilmiştir (37).

LFD verilmemiş YÜT sikluslarında luteal fazda endometriyumun histolojik özellikleri spontan sikluslarla karşılaştırıldığında oosit toplama gününde ve orta luteal fazda ileri endometriyum gelişimi olduğu gözlenmiştir (41). Bu da implantasyon için kritik olan embriyo-endometriyum senkronizasyonunun bozulmasına yol açmaktadır.

Günümüzde YÜT sikluslarında luteal fazın daha kısa olmasının temel sebebi, GnRH agonist veya antagonist kullanımından bağımsız olarak, OS sonrasında oluşan çok sayıda korpus luteumdan salgılanan yüksek steroid seviyelerinin LH üzerine negatif etki yaparak prematür luteolize yol açmasıdır (36).

### 2.3. Luteal Faz Desteği

Luteal faz desteğinde kullanılan yöntemler arasında en yaygın P<sub>4</sub> uygulaması olsa da hCG, GnRH agonistleri veya progesteron ile kombine östradiol da tedavide tanımlanmıştır.

P<sub>4</sub> preparatları doğal (mikronize) ve sentetik olarak ikiye ayrılır. P<sub>4</sub>'un yaygın kullanım şekilleri aşağıda sıralanmıştır:

- i) Vajinal; jel, tablet, kapsül veya ring olarak kullanılabilir. En yaygın kullanılan formdur.
- ii) İntramusküler (im)
- iii) Oral
- iv) Subkutan

Günümüzde hasta konforu ve etkinliği nedeniyle LFD için en yaygın tercih edilen yöntem vajinal P<sub>4</sub> kullanımınıdır. Vajinal kullanım ile P<sub>4</sub>, ilk uterin geçiş etkisi ile lokal olarak direkt uterusu ulaştığı için serum konsantrasyonları daha düşük izlenirken endometriyumda konsantrasyonları daha fazladır (42). Oral uygulamaya göre avantajları; biyoyararlanımının daha yüksek olması, hızlı absorbe edilmesi, karaciğerden ilk geçiş etkisi olmaması ve daha yüksek serum ve endometriyal konsantrasyonları sağlayabilmesidir (42, 43). İntramusküler kullanıma göre avantajları ise daha hasta yanlısı olması ve enjeksiyon yerinde ağrı ve enfeksiyon riskinin olmamasıdır. Fakat vajinal kullanım, vajinal irritasyon, akıntı ve kanamaya yol açabilmektedir (40).

Oral mikronize formun karaciğerden ilk geçiş etkisi nedeniyle yalnızca %10'luk biyoyararlanımı vardır ve yüksek oranda oluşan metabolitler nedeniyle yan etkisi daha fazladır. İntramusküler form, kanda en yüksek P<sub>4</sub> düzeylerinin elde edilmesini sağlar fakat uygulaması zor ve ağırlıdır (44).

LFD olarak P<sub>4</sub>'un belirlenmiş optimal bir uygulama yöntemi tanımlanmamıştır. 2004 yılında yapılan Cochrane metaanalizinde, klinik gebelik oranları açısından bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da vajinal ve im uygulama yöntemleri, mikronize oral P<sub>4</sub>'a üstün bulunmuştur (45). 2015 yılında Linden ve ark. tarafından yapılan Cochrane metaanalizinde vajinal ve oral uygulama yöntemleri (4 RCT, OR 1.19, %95 CI 0.83-1.69, 857 kadın) ile vajinal ve im uygulama yöntemleri (7 RCT, OR 1.37, %95 CI 0.94-1.99, 2039 kadın) birbirleri ile karşılaştırıldığında canlı doğum ve devam eden gebelik oranları açısından aralarında anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür (40). Tek bir küçük randomize kontrollü çalışmada im ve oral uygulama yöntemleri birbiri ile karşılaştırılmış ve yine canlı doğum açısından anlamlı farklılık bildirilmemiştir (46). Mevcut literatür bilgisi ışığında LFD için P<sub>4</sub> uygulama yöntemleri arasında etkinlik açısından diğerlerine üstünlüğü olan bir uygulama yöntemi tanımlanmamıştır.

2017'de Tournaye ve ark. tarafından yapılan Lotus I çalışmasında ve 2018'de Griesinger ve ark. tarafından yapılan Lotus II çalışmasında, sentetik bir progesteron olan oral didrogesteron vajinal mikronize P<sub>4</sub> ile karşılaştırıldığında 12. haftada gebelik oranlarına göre, etkinliğinin daha az olmadığı ve daha hasta yanlısı olarak tedaviye alternatif olabileceği belirtilmiştir (47, 48). 2020 yılında Yang ve ark. tarafından Lotus

II çalışmasındaki Çin subpopülasyonunda oral didrogesteron ile vajinal mikronize P<sub>4</sub> jel karşılaştırıldığında yine etkinlik ve güvenilirlik açısından aralarında anlamlı farklılık olmadığı bildirilmiştir (49).

LFD'nin başlanma ve sonlanma zamanının sınırları net olarak belirlenmemiştir. 2019 ESHRE (European Society of Human Reproduction and Embryology) rehberine göre, LFD'nin oosit toplandığı gün akşamından itibaren 3 gün içinde başlanması önerilmektedir. 2001 yılında yapılan 126 kadını içeren bir randomize kontrollü çalışmada LFD'nin oosit toplama gününden sonra 3. gün başlanması ile 6. gün başlanması karşılaştırılmış ve 6. gün başlananlarda klinik gebelik oranlarının daha düşük olduğu görülmüştür (%61.0 ve %44.8) (50, 51).

LFD'ni gebelik tespit edildikten sonra sonlandırmanın klinik sonuçlar üzerine olumsuz etkileri olmadığı gösterilse de (52), günlük pratik uygulamada klinisyenler çoğunlukla LFD için P<sub>4</sub> tedavisini gebeliğin 8-10. haftasına kadar devam ettirmektedir (53). 2012 yılında Liu ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada luteal faz desteğinde P<sub>4</sub> tedavisinin gebelik testi yapıldığı gün kesilmesi ile gebeliğin 6/7. haftasına kadar devam edilmesi arasında canlı doğum ve devam eden gebelik oranları açısından farklılık olmadığını bildirmiştir (54). 2019 ESHRE rehberine göre, bu bilgiler ışığında luteal faz P<sub>4</sub> desteğinin gebelik testi gününe kadar kesilmemesi önerilmektedir.

#### **2.4. Luteal Faz Monitarizasyonu**

YÜT tedavilerinde LFD'nin gerekli olduğu konusu net olsa da P<sub>4</sub> tedavisinin optimal dozu, zamanlaması ve uygulama yöntemi ile ilgili tartışmalar halen devam etmektedir. Luteal faz, OS gibi rutinde monitarize edilmediğinden kimin hangi tedaviden fayda göreceği belirlenemediği için LFD herkese standart ve ampirik olarak uygulanmaktadır ("One size fits all"). Fakat yapılan çalışmalarda, LFD için aynı ilaçlar kullanılmasına rağmen luteal faz serum P<sub>4</sub> düzeylerinde bireysel ve bireyler arası varyasyonların yaygın olarak görüldüğü izlenmiştir (6). LFD bireyselleştirilebilmesi ve tedavi başarısının artırılması için luteal faz monitarizasyonuna yönelik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Dolaşımdaki P<sub>4</sub> düzeyleri, uygulama yönteminden etkilenebilse de, endometriyal dokuda P<sub>4</sub> konsantrasyonlarının iyi bir göstergesi olarak kabul edilir. Miles ve ark. 1994 yılında yaptığı bir çalışmada, vajinal ve intramusküler P<sub>4</sub> uygulamasının farmakokinetikleri ve endometriyal dokudaki düzeyleri karşılaştırılmış

ve serum P<sub>4</sub> düzeylerinin intramusküler P<sub>4</sub> uygulanan hastalarda daha yüksek olmasına rağmen, endometriyal dokuda P<sub>4</sub> düzeylerinin vajinal P<sub>4</sub> uygulanan hastalarda daha yüksek olduğu görülmüştür (55). Young ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptığı bir çalışmada serum P<sub>4</sub> düzeylerinin endometriyum yapısı ve fonksiyonunu yansıtır yansıtmadığı araştırılmış ve sekretuar endometriyum gelişiminin ve fonksiyonunun serum P<sub>4</sub> düzeylerine bağlı olduğu sonucuna ulaşmıştır (56).

Taze embriyo transferinin yapıldığı YÜT sikluslarında, luteal fazda dolaşımdaki P<sub>4</sub> düzeylerinin kaynağı, OS sonrası gelişen çok sayıda korpus luteum (endojen) ve LFD için verilen P<sub>4</sub> (ekzojen)'dur. Oosit maturasyonu için tetiklemede ve LFD'inde aynı ilaçlar kullanılmasına rağmen luteal fazda dolaşımdaki P<sub>4</sub> düzeylerinde kişiler arasında belirgin farklılıklar izlendiği görülmüştür. Thomsen ve ark. 2018 yılında ilk defa orta luteal faz P<sub>4</sub> düzeylerinin gün içindeki varyasyonlara rağmen, düşük P<sub>4</sub> düzeyleri olan hastalarda yapılacak tek seferlik kan ölçümünün korpus luteum fonksiyonunu yansıtabileceği ve bu hastalarda orta luteal faz düşük P<sub>4</sub> düzeylerinin ve dolayısıyla optimal olmayan endometriyal çevrenin doğrulukla tespit edilebileceğini göstermiştir (6).

Vuong ve ark. tarafından yapılan güncel bir çalışmada, OS sonrası tüm hastalara embriyo dondurulma işlemi uygulanmış ve ovulasyon için aynı dozlarda hCG tetiklemesi uygulanmasına rağmen kişiler arasında P<sub>4</sub> düzeylerinde önemli farklılıklar olduğu görülmüştür (57). Dışarıdan LFD verilmediği için, erken luteal fazdaki bu farklılığın sebebi muhtemelen, endojen kaynaklı korpus luteum üretimindeki farklılıklar ve/veya tetikleme için kullanılan hCG'nin serum konsantrasyonları arasındaki farklılıklara bağlıdır (58). Bu çalışmada hastaların büyük çoğunluğunda P<sub>4</sub> düzeylerinin oosit toplama işlemi (oosit pick-up; OPU) sonrası 4. günde pik yaptığı ve ≈%65'inde OPU+4 günü ile OPU+6 günü arasında P<sub>4</sub> düzeylerinde bir azalma olduğu tespit edilmiştir.

Hormon replasman tedavisi (HRT) ile endometriyal hazırlık yapılan donmuş embriyo transfer (DET) siklusları, bu sikluslarda korpus luteum bulunmadığından, standart dozlarda LFD sonrası kişiler arası P<sub>4</sub> düzeyleri arasındaki farklılıkları araştırmak için çok uygun bir modeldir. Fakat yapılan çalışmalarda ilginç bir şekilde, HRT sikluslarında da standart LFD tedavisine rağmen luteal fazda dolaşımdaki P<sub>4</sub> düzeyleri kişiler arasında belirgin farklılıklar göstermiştir (59, 60). Bu sikluslarda P<sub>4</sub>

düzeylerindeki kişiler arası belirgin farklılıklar, vücut kitle indeksi (VKİ) ve yaş gibi hastaların intrinsik özelliklerine bağlı olarak ekzojen P<sub>4</sub> farmakokinetiğindeki değişiklikler kaynaklı olabilir (61).

Tablo 2.1’de HRT ve DET sikluslarında luteal faz P<sub>4</sub> düzeyi monitarizasyonuna yönelik yapılan çalışmalar özetlenmiştir.

**Tablo 2.1.** HRT ve DET sikluslarında P<sub>4</sub> düzeyleri ile ilgili yapılan çalışmalar

Referans	n	P <sub>4</sub> uygulama yöntemi	P <sub>4</sub> dozu	Optimal P <sub>4</sub> düzeyi/ Test günü	Transfer edilen embriyo sayısı / embriyolar	Gebelik sonucu, % (yüksek ve düşük P <sub>4</sub> grupları)
Brady et al-2014	229	im	50-100 mg x1	>20 ng/ml / 5. P <sub>4</sub> günü	1- >3 / taze donör 3. gün embriyo	Canlı doğum oranı (65 ve 51)
Kofinas et al-2015	213	im	50-75 mg x1	<20 ng/ml / 6. P <sub>4</sub> günü	1/ vitrifikasyon, öploid blastokist, otolog	Canlı doğum oranı (49 ve 65)
Yovich et al-2015	529	Vajinal	400 mg x3 (pessar)	70-99 nmol/l /8. P <sub>4</sub> günü	1/ vitrifikasyon, blastokist, otolog+donör	Canlı doğum oranı (50 ve <41)
Labarta et al-2017	211	Vajinal	400 mg x2 (Utrogestan)	>11 ng/ml / 6. P <sub>4</sub> günü	1 veya 2/ vitrifikasyon, blastokist, donör	Devam eden gebelik oranı (56 ve 35)
Basnayake et al-2017	1580	Vajinal	Değişken	>50 nmol/l / 16. P <sub>4</sub> günü	1/ 2-3. gün-blastokist, yavaş freeze-vitrifikasyon, donör+otolog	Canlı doğum oranı (27 ve 11)
Alsbjerg et al-2018	244	Vajinal	90 mg x3 (Crinone)	≥35 nmol/l / 9-11. P <sub>4</sub> günü	1 veya 2/ blastokist, vitrifikasyon, otolog	Devam eden gebelik oranı (51 ve 38)

**Tablo 2.1. Devam HRT ve DET sikluslarında P<sub>4</sub> düzeyleri ile ilgili yapılan çalışmalar**

Referans	n	P <sub>4</sub> uygulama yöntemi	P <sub>4</sub> dozu	Optimal P <sub>4</sub> düzeyi/ Test günü	Transfer edilen embriyo sayısı / embriyolar	Gebelik sonucu, % (yüksek ve düşük P <sub>4</sub> grupları)
Gaggiotti-Marre et al-2018	244	Vajinal	200 mg x2 (Utrogestan)	>10.64 ng/ml / 4. P <sub>4</sub> günü	Tercihen 1/ vitrifikasyon, öploid blastokist, otolog	Canlı doğum oranı (62 ve 48)
Cédrin-Durnerin et al-2019	227	Vajinal	200 mg x2 (Progestan)	≥10 ng/ml / 2., 3. veya 5. P <sub>4</sub> günü	1 veya 2/ 2-3. gün veya blastokist, otolog	Canlı doğum oranı (31 ve 17)
Polat et al- 2020	143	Vajinal	90 mg x2 (Crinone)	12.95-20.42 ng/ml / 6. P <sub>4</sub> günü	1 veya 2/ blastokist, vitrifikasyon, otolog	Devam eden gebelik oranı (47 ve 29)

Brady ve ark. 2014 yılında yaptığı çalışmada 229 taze donör transferi siklusunda, alıcılarda LFD olarak intramusküler 50-100 mg P<sub>4</sub> kullanılmış ve embriyo transfer (ET) gününde (3. gün) alıcıların kan P<sub>4</sub> düzeyleri ölçülmüştür. ET günü P<sub>4</sub> düzeyi <20 ng/mL olan hastalarda, P<sub>4</sub> düzeyi ≥20 ng/mL olan hastalara göre canlı doğum oranlarının daha düşük olduğu bildirilmiştir (%50.7 ve %64.9; RR = 0.77, %95 CI = 0.60–0.98, p= 0.04). Aynı çalışmada ET günü P<sub>4</sub> düzeyi <20 ng/mL olan hastalara ek doz LFD uygulanmış ve bu uygulamanın klinik sonuçlara etkisi olmadığı görülmüştür. Bu doz arttırımına VKİ yüksek hastalarda daha çok ihtiyaç duyulmuştur (62).

2015 yılında Kofinas ve ark. yaptığı çalışmada, donmuş öploid blastokist transferi yapılan ve LFD olarak 50-75 mg intramusküler P<sub>4</sub> uygulanan 213 hastada, ET gününde serum P<sub>4</sub> düzeyleri ölçülmüştür. Önceki çalışmanın aksine, serum P<sub>4</sub> düzeyi >20 ng/mL olan hastalarda, P<sub>4</sub> düzeyi <20 ng/mL olan hastalara göre canlı doğum oranlarının daha düşük olduğu görülmüştür (%49 ve %65; RR = 1.33, %95 CI = 1.1–1.7, p=0.02). Bu çalışmada “tavan etkisi” (ceiling effect) olduğu vurgulanarak,

implantasyon döneminde P<sub>4</sub> düzeylerinin 10-20 ng/mL arasında tutulması önerilmiştir (63).

2015 yılında Yovich ve ark. yaptığı retrospektif bir çalışmada ise HRT/DET yapılan 529 siklusta, ET gününden 2-3 gün sonra luteal faz P<sub>4</sub> düzeyleri ölçülmüş ve optimal bir pencere aralığı olduğu belirtilerek, 70-99 nmol/l aralığının altında ve üstünde kalan düzeylere sahip hastalarda devam eden gebelik oranının %20 daha az olduğu bildirilmiştir (p=0.047) (60).

Labarta ve ark. 2017 yılında yaptığı prospektif bir çalışmada oosit donasyon sikluslarında 211 hastada LFD olarak günde 2 kere 400 mg vajinal mikronize P<sub>4</sub> kullanılmış ve blastokist transfer günü P<sub>4</sub> düzeyleri ölçülmüştür. Serum P<sub>4</sub> düzeyi <9.2 ng/mL olan hastaların devam eden gebelik oranlarının, serum P<sub>4</sub> düzeyi ≥9.2 ng/ml olan hastalara göre anlamlı olarak daha az olduğu görülmüştür (%32.7 ve %52.8; RR= 0.62, %95 CI= 0.41–0.94, p= 0.016). Optimal P<sub>4</sub> cut-off değeri için AUC hesaplandığında 11 ng/mL olarak tespit edilmiştir (64). Aynı grubun bu çalışma üzerine 2019'da yaptığı çalışmanın henüz yayınlanmamış verilerine bakıldığında, daha önceki siklusta gebelik elde edilmeyen ve luteal fazda P<sub>4</sub> düzeyi <9.2 ng/ml olan hastaların (n=150) ikinci siklusta bir kısmına LFD olarak vajinal P<sub>4</sub>'a ek olarak 25 mg subkutan P<sub>4</sub> desteği verilmiş ve ek destek verilmeyenler ile (n=20) verilenlerin (n=89) devam eden gebelik oranlarını karşılaştırıldığında anlamlı farklılık izlenmiştir (%20 ve %60.7, p=0.001). 1849 hasta arasından bu sefer aynı siklusta ET günü P<sub>4</sub> düzeyleri <9.2 ng/ml olan 550 hastaya, ET günü LFD olarak vajinal P<sub>4</sub>'a ek olarak subkutan P<sub>4</sub> verildiğinde devam eden gebelik oranının %52.5 olduğu ve ET günü P<sub>4</sub> düzeyi ≥9.2 ng/ml olan hastaların devam eden gebelik oranı ile benzer olduğu görülmüştür (%54.3).

2017 yılında Basnayake ve ark. tarafından, 1580 tane HRT/DET siklusu retrospektif olarak incelenmiş ve OPU sonrası 16. günde serum P<sub>4</sub> düzeyleri ölçülmüştür. Serum P<sub>4</sub> düzeyleri >50 nmol/L olan hastalarda <50 nmol/L olan hastalara göre canlı doğum oranlarında artış izlenmiştir (%26.4 ve %11.3; OR= 3.14, %95 CI = 2.21–4.48) (65).

2018 yılında Alsbjerg ve ark. yaptığı bir çalışmada, yine HRT/DET yapılan ve LFD için standart vajinal P<sub>4</sub> kullanılan 244 siklusta luteal fazda gebelik testi günü P<sub>4</sub>



düzeyleri incelenmiş ve 35 nmol/l eşik düzeyinin altındaki hastalarda devam eden gebelik oranları anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (%38 ve %51;  $p = 0.04$ ) (59).

2018 yılında Gaggiotti-Marre ve ark. tarafından yapılan retrospektif bir çalışmada, 244 adet HRT/DET siklusunda luteal faz serum P<sub>4</sub> düzeyleri ölçülmüş ve transfer öncesi günde serum P<sub>4</sub> düzeyleri  $\leq 10.64$  ng/ml olan hastalarda canlı doğum oranlarının anlamlı olarak daha düşük olduğu görülmüştür (%47.5 ve %62.3,  $p=0.029$ ) (66).

HRT ve DET sikluslarında serum P<sub>4</sub> düzeyleri ile ilgili literatürde yapılmış bir diğer çalışma olan 2019 yılında Cédric-Durnerin ve ark. tarafından yapılan çalışmada, 227 siklusta ET günü serum P<sub>4</sub> düzeylerinin  $<10$  ng/ml olduğu hastalarda canlı doğum oranlarının anlamlı olarak daha düşük olduğu bildirilmiştir (%17 ve %31,  $p=0.01$ ) (67).

2020 yılında Polat ve ark tarafından, retrospektif olarak 475 donmuş blastokist transfer siklusunda yapılan bir çalışmada bir grupta LFD için sadece günde 2 defa 90 mg vajinal P<sub>4</sub> jel kullanılırken ( $n=143$ ), diğer grupta buna ek olarak 3 günde 1 günde 50 mg im vajinal P<sub>4</sub> desteği uygulanmış ( $n=332$ ) ve gruplar arasında transfer günü P<sub>4</sub> düzeylerinde devam eden gebelik açısından anlamlı farklılık izlenmemiştir. Sadece vajinal P<sub>4</sub> uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı olmasa da P<sub>4</sub> düzeyi  $<10$  persentil ( $<8.75$  ng/ml) olan altgrup ile P<sub>4</sub> düzeyi 50-90 persentil (12.95-20.42 ng/ml) arasında olan altgrup arasında trend olduğu izlenmiştir (%28.6 ve %46.6; OR=0.7, %95 CI= 0.3-1.3;  $p=0.2$ ) (68).

Taze embriyo transferi yapılan İVF sikluslarında ise luteal faz P<sub>4</sub> düzeylerinin reproduktif sonuçlarla ilişkisini araştıran çalışmalarda eksiklik bulunmaktadır ve yapılan sınırlı sayıda çalışmada da gebe kalan ve kalmayan gruplar arasında P<sub>4</sub> düzeyleri benzer bulunmuştur (69-73).

1987 yılında Howles ve ark. tarafından, 200 hastada erken-orta luteal dönemde OPU sonrası 1. gün ve 8. gün arasında her gün P<sub>4</sub> düzeyleri ölçülmüş ve gebe kalan ve kalmayan gruplar arasında düzeylerin benzer olduğu bildirilmiştir (71). 1990 yılında Hassiakos ve ark., toplam 885 taze embriyo transfer siklusunda, luteal fazda OPU sonrası 2. gün başlayarak gün aşırı P<sub>4</sub> düzeylerini incelemiş ve gebe kalan ve kalmayan gruplar arasında 11. günde gebelik elde edilene kadar anlamlı farklılık olmadığını bildirmiştir (70). Ardından 1995 yılında Balasch ve ark. tarafından yapılan çalışmada,

222 taze embriyo transferi yapılan İVF siklusunda luteal fazda OPU sonrası orta ve geç luteal faz P<sub>4</sub> düzeyleri ölçülmüş ve orta luteal fazda devam eden gebeliği olan ve gebe kalamayanlar arasında anlamlı farklılık izlenmemiştir (69).

Sonntag ve ark. tarafından 2013 yılında yapılan prospektif bir çalışmada, 2-3. gün taze embriyo transferi yapılan 71 hastada gebe kalan (n=22) ve kalmayan (n=49) gruplar arasında luteal fazda seri P<sub>4</sub> ölçümleri yapılmış ve embriyo transfer günü sonrası 7. güne kadar sonuçlar benzer bulunmuştur. Embriyo transferi sonrası 7. günde gruplar arasında P<sub>4</sub> düzeylerine bakıldığında gebe kalanlarda gebe kalmayanlara göre anlamlı olarak daha yüksek düzeyler izlenmiştir (sırasıyla  $244 \pm 68$  ve  $73 \pm 10$  nmol/l,  $p = 0.023$ ) (72).

Petersen ve ark. 2018 yılında yaptığı bir çalışmada, taze blastokist transferi yapılan 600 hastada yine orta luteal fazda transfer günü P<sub>4</sub> düzeyleri ölçülmüş ve blastokist transferinin yapıldığı gün gebe kalan ve kalmayan gruplar arasında serum P<sub>4</sub> düzeyleri benzer bulunmuştur (median 99 ng/ml ve 103 ng/ml) (73).

2018 yılında Thomsen ve ark. tarafından yapılan geniş çaplı prospektif bir çalışmada, toplam 602 kadında OPU sonrası 2/3. gün taze embriyo transferi yapılan hastalarda erken luteal fazda, 5. gün taze embriyo transferi yapılan hastalarda ise orta luteal fazda serum P<sub>4</sub> ölçümleri yapılmış ve canlı doğum oranları üzerine etkisi araştırılmıştır. Hem erken luteal fazda (60-100 nmol/l), hem de orta luteal fazda (150-250 nmol/l) optimal bir serum P<sub>4</sub> düzeyi aralığı tespit edilmiş ve bu aralığın altında ve üzerinde kalan değerlerde canlı doğum oranları anlamı olarak azalmıştır (5).

Ardından 2019 yılında Netter ve ark., retrospektif olarak taze embriyo transferi yapılan ve LFD için oral didrogesteronun kullanıldığı 242 kadında erken luteal faz (OPU sonrası 2-3. gün) P<sub>4</sub> düzeylerinin canlı doğum oranları üzerine etkisini araştırmıştır. Thomsen çalışmasının sonuçlarının aksine bu çalışmada serum P<sub>4</sub> düzeyleri arttıkça canlı doğum oranlarının arttığı ve >252 nmol/l düzeylerde canlı doğum oranlarının en yüksek olduğu gözlenmiştir ( $p=0.011$ ) (74).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Hasta Seçimi

Çalışmaya Hacettepe Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı İnfertilite Kliniği ve Anatolia Tüp Bebek ve Kadın Sağlığı Merkezi'ne Şubat 2019 ile Mart 2020 tarihleri arasında başvuran ve dahil edilme ve dışlama kriterlerini karşılayan 126 hasta prospektif olarak dahil edildi. Taze blastokist transferi yapılan sikluslarda erken ve orta luteal fazda kan P<sub>4</sub> düzeylerinin devam eden gebeliğe etkisinin araştırılması planlandı.

*Çalışmaya dahil edilme kriterleri:*

- 40 yaşının altında olan kadınlar
- VKİ ≤ 35 kg/m<sup>2</sup> olan hastalar
- GnRH agonist veya GnRH antagonist protokolü ile indüklenmiş sikluslar
- Over rezervi testlerinden bağımsız olarak 3 veya daha fazla metafaz II oosit toplanmış sikluslar

*Dışlanma kriterleri:*

- Ovulasyon tetiklemesinin GnRH agonist veya dual trigger ile yapıldığı sikluslar
- Tetikleme gününde P<sub>4</sub> düzeyi >1,5 ng/mL olan hastalar
- Erken bölünme evresinde transfer yapılan hastalar

Her hasta çalışmaya yalnızca bir kere dahil edildi.

Kriterlere uygun hastalar öncelikle uygun şartlarda çalışma ile ilgili ayrıntılı olarak bilgilendirildi ve çalışmaya katılmayı kabul eden hastalardan yazılı olarak bilgilendirilmiş gönüllü onam alındı.

#### 3.2 Ovaryan Stimülasyon Protokolleri, Ovulasyon Tetiklemesi ve Embriyo Transferi

Uzun GnRH agonist (Lucrin; Abbott) (n=31) veya GnRH antagonist (Cetrotide; Merck) (n=95) protokolü uygulandı. Over rezervine bağlı olarak OS için 150-450 IU/gün başlangıç dozlarında günlük rekombinant FSH (Gonal-F; Merck) kullanıldı. Stimülasyonun 5. gününden itibaren, ovaryan yanıtın değerlendirilmesi ve günlük gonadotropin dozlarının ayarlanması için transvajinal ultrasonografi ve serum E<sub>2</sub> düzeylerinin monitarizasyonu yapıldı. GnRH antagonist protokolü uygulanan

hastalara fiks protokol uygulanarak OS'un 5. veya 6. günlerinde tedaviye başlandı. Tüm hastalarda en az 3 folikülün çapı >17 mm olduğunda son oosit maturasyonu için tetiklemede rekombinant hCG (rhCG) (Ovitrelle; Merck) kullanıldı. Oosit toplama işlemi (oosit pick-up, OPU) genel anestezi altında ve transvajinal ultrasonografi eşliğinde, tetiklemeden 34-36 saat sonra yapıldı.

Embriyo kültürü %6.8 CO<sub>2</sub> ve %5 O<sub>2</sub> ile sağlandı. Tek basamaklı kültür ortamı kullanıldı. Blastokistlerin morfolojik değerlendirilmesi Gardner evrelemesi ile yapıldı (75). Blastokist evrelemesi; çok iyi (3AA, 4AA, 5AA), iyi (3,4,5,6 AB veya BA), orta (3,4,5,6 BB veya AC veya CA) ve kötü (3,4,5,6 BC veya CC) şeklinde kategorize edildi. Embriyo transferi, blastokist evresinde ultrasonografi eşliğinde gerçekleştirildi.

### 3.3 Luteal Faz Desteği

LFD olarak günlük 90 mg vajinal progesteron jel (Crinone gel %8; Merck) kullanıldı. Vajinal jel kullanımına OPU gününden sonraki gün başlandı ve sabahları saat 8-9 arasında uygulanmak üzere standardize edildi. Vajinal jele, transvajinal ultrasonografide gestasyonel kese görülene kadar (5,5- 6. gestasyonel hafta) devam edildi.

### 3.4 Kan Örnekleme ve P<sub>4</sub> Ölçümleri

Tüm hastalarda kan P<sub>4</sub> ölçümleri 5 farklı durumda yapıldı;

- i) Ovulasyon tetikleme günü
- ii) OPU günü
- iii) OPU+3 günü
- iv) OPU+5 günü (transfer günü)
- v) OPU+14 günü (gebelik testi günü).

Her 5 durumda da kanlar, öğleden sonra saat 12-1 arasında alınarak standardize edildi ve OPU+3 günü, OPU+5 günü ve OPU+14 günü için vajinal jelin sabah dozundan 3-5 saat sonra olacak şekilde ayarlandı.

Progesteron, otomatize kantitatif enzim-linked floresan immunoassay ImmunoDiagnostic Assay System (VIDAS Progesterone) (Bio-Merieux, Marcy l'Etoile, France) kullanılarak yapıldı. Assay sesitivitesi 0.25 ng/mL idi. İntra-assay değişkenlik katsayısı %3.97-14.30; inter-assay değişkenlik katsayısı ise %3.10-24.30 idi.

### 3.5 Reprodüktif Sonuçlar ve Tanımlar

Primer çıktı devam eden gebelik olarak belirlendi. Pozitif gebelik testi, OPU+14 gününde serum beta-hCG düzeyi  $>30$  IU/l olarak tanımlandı. Klinik gebelik, transvajinal ultrasonografide gestasyonel kese görülmesi veya düşük materyalinde trofoblastik dokunun dokümantasyonu veya her ikisi olarak tanımlandı. Klinik öncesi gebelik kaybı, transvajinal ultrasonografide gestasyonel kese görülmeksizin serum beta-hCG düzeylerinin düşmesi olarak tanımlanırken; klinik gebelik kaybı (abortus), 12. gestasyonel haftadan önce intrauterin gebeliğin spontan kaybı olarak tanımlandı. Hem klinik öncesi hem de klinik gebelik kaybı birlikte toplam gebelik kaybı olarak tanımlandı. Devam eden gebelik ise 12. gestasyonel haftadan daha büyük gebelikler olarak tanımlandı.

### 3.6 Örneklem Büyüklüğü Analizi

Daha önce bu alanda yapılan çalışmaların eksikliğinden dolayı, mevcut çalışmanın örneklem büyüklüğü tahmini yapılırken Thomsen ve ark. 2018’de yaptığı çalışmanın bulguları kullanıldı (5). Kısaca özetlenecek olursa, Thomsen çalışmasında erken ve orta luteal serum P<sub>4</sub> düzeyleri ve canlı doğum arasında lineer olmayan bir ilişki mevcuttu; erken luteal fazda (OPU+3) 60-100 nmol/l aralığındaki P<sub>4</sub> düzeylerinde ve orta luteal fazda (OPU+5) da 150-250 nmol/l aralığındaki P<sub>4</sub> düzeylerinde canlı doğum oranı en yüksekti. OPU+5 günündeki P<sub>4</sub> düzeylerine bakıldığında, tüm kohortta hastaların %51’i; %20’si daha düşük ve %31’i daha yüksek olmak üzere optimal aralığın dışındaydı. Bu verilere dayanarak, OPU+5 gününde hastaların %50’sinde serum P<sub>4</sub> düzeylerinin optimal aralıkta olacağı ve diğer %50’sinin optimal aralık dışında kalacağı varsayıldı. Primer çıktı devam eden gebelik olduğu için, iki ayrı durumun student-t testi kullanılarak karşılaştırması planlandı. İki grup arasında devam eden gebelik oranında %15’lik bir farkı saptamak için, 0.80 güç ve 0.05 hata payı (tip 1 hata) ile, örneklem büyüklüğü her grupta 170 kişi olacak şekilde 340 hasta olarak hesaplandı.

Fakat, mevcut çalışmada yapılan ara analizde, Thomsen ve ark. çalışmasının aksine (5) OPU+3 ve OPU+5 gününde optimal bir P<sub>4</sub> düzeyi aralığı olduğu gösterilemedi (Tablo 3.1 ve 3.2). Dolayısıyla başlangıçta yapılan örneklem büyüklüğü analizindeki varsayımlar, mevcut çalışmada geçerliliğini kaybetmiştir. Yapılan ara analizde, P<sub>4</sub> düzeylerinde OPU+5 gününde OPU+3 gününe göre düşme ile devam eden

**Tablo 3.1.** OPU+3 günü serum P<sub>4</sub> düzeyi persentillerine göre düzeltilmiş reproduktif sonuçlar

Serum P <sub>4</sub> yüzdeleri (n) aralık	Pozitif hCG n (%)	Düzeltilmiş OR <sup>a</sup> (%95 CI)	Toplam gebelik kaybı n (%)	Düzeltilmiş OR <sup>a</sup> (%95 CI)	Devam eden gebelik n (%)	Düzeltilmiş OR <sup>a</sup> (%95 CI)
<10 (n=12) <49.27 ng/ml	10 (83.3)	3.01 (0.99- 9.09) p=0.05	4 (33.3)	5.92 (1.35- 25.64) p=0.02	6 (50.0)	1.13 (0.54- 2.36) p=0.74
10–49 (n=51) 49.27–83.09 ng/ml	26 (51.0)	0.87 (0.37- 2.04) p=0.76	6 (11.8)	13.70 (0.99- 200) p=0.05	20 (39.2)	0.72 (0.32- 1.68) p=0.46
50–90 (n=51) 83.10–127.93 ng/ml	26 (51.0)	1	1 (2.0)	1	25 (49.0)	1
>90 (n=12) >127.93 ng/ml	6 (50.0)	0.62 (0.15- 2.54) p=0.51	0.0 (0)	0.0 (0.0-) p=0.99	6 (50.0)	1.61 (0.39- 6.71) p=0.51

<sup>a</sup> Kadın yaşı, VKİ, transfer edilen embriyo sayısı ve blastokist morfolojisine göre düzeltilmiştir.

**Tablo 3.2.** OPU+5 günü serum P<sub>4</sub> düzeyi persentillerine göre düzeltilmiş reproduktif sonuçlar

Serum P <sub>4</sub> yüzdeleri (n) aralık	Pozitif hCG n (%)	Düzeltilmiş OR <sup>a</sup> (%95 CI)	Toplam gebelik kaybı n (%)	Düzeltilmiş OR <sup>a</sup> (%95 CI)	Devam eden gebelik n (%)	Düzeltilmiş OR <sup>a</sup> (%95 CI)
<10 (n=12) <46.15 ng/ml	4 (33.3)	0.62 (0.30- 1.29) p=0.20	2 (16.7)	6.17 (0.71- 52.63) p=0.10	2 (16.7)	0.45 (0.19- 1.06) p=0.07
10–49 (n=51) 46.15–86.33 ng/ml	25 (49.0)	0.70 (0.30- 1.64) p=0.41	5 (9.8)	1.48 (0.28- 7.87) p=0.64	20 (39.2)	0.67 (0.29- 1.55) p=0.35
50–90 (n=51) 86.34–156.57 ng/ml	30 (58.8)	1	3 (5.9)	1	27 (52.9)	1
>90 (n=12) >156.58 ng/ml	9 (75.0)	1.59 (0.35- 7.25) p=0.55	1 (8.3)	1.17 (0.06- 23.52) p=0.92	8 (66.7)	1.47 (0.35- 6.19) p=0.60

<sup>a</sup> Kadın yaşı, VKİ, transfer edilen embriyo sayısı ve blastokist morfolojisine göre düzeltilmiştir.

gebelik oranında istatistiksel ve klinik olarak anlamlı bir azalma (%22) olduğu saptandı. Bu grup hastalarda taze blastokist transferi yapmak yerine uygun olan embriyoların dondurması (freeze-all) politikasına gidilmesi daha faydalı olabileceğinden, çalışmaya devam etmenin etik olmayacağı düşünülerek çalışma planlandığından erken sonlandırılmıştır.

### **3.7 İstatistiksel Analiz**

Değişkenlerin dağılım özellikleri, histogramlar, kutu grafikleri ve Q-Q grafikleri kullanılarak görsel olarak değerlendirildi ve Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri kullanılarak analiz edildi. Sürekli değişkenler, uygunluğuna göre ortalama  $\pm$  standart sapma (SD) veya ortanca ve minimum-maksimum olarak ifade edildi. Serum P4 düzeylerinin farklı zaman noktalarında dağılım grafiği ortalama  $\pm$  standart hata (SE) (%95 CI) olarak gösterildi. Dağılım özelliklerine göre karşılaştırmalar, independent samples t-test veya Mann-Whitney-U testi kullanılarak yapıldı. Kategorik değişkenleri karşılaştırmak için Ki-kare ve Fisher's exact test kullandı. Serum P4 düzeylerinin prediktif değerini ve devam eden gebelik için optimal cut-off değerlerini belirleyebilmek için receiver operating characteristic (ROC) eğrisi ve eğri altında kalan alan (AUC) kullanıldı. Devam eden gebelik oranlarını etkileyen değişkenleri saptamak için lojistik regresyon analizi yapıldı. İstatistiksel analizler SPSS 22.0 0 (IBM Corp., USA) kullanılarak yapıldı.

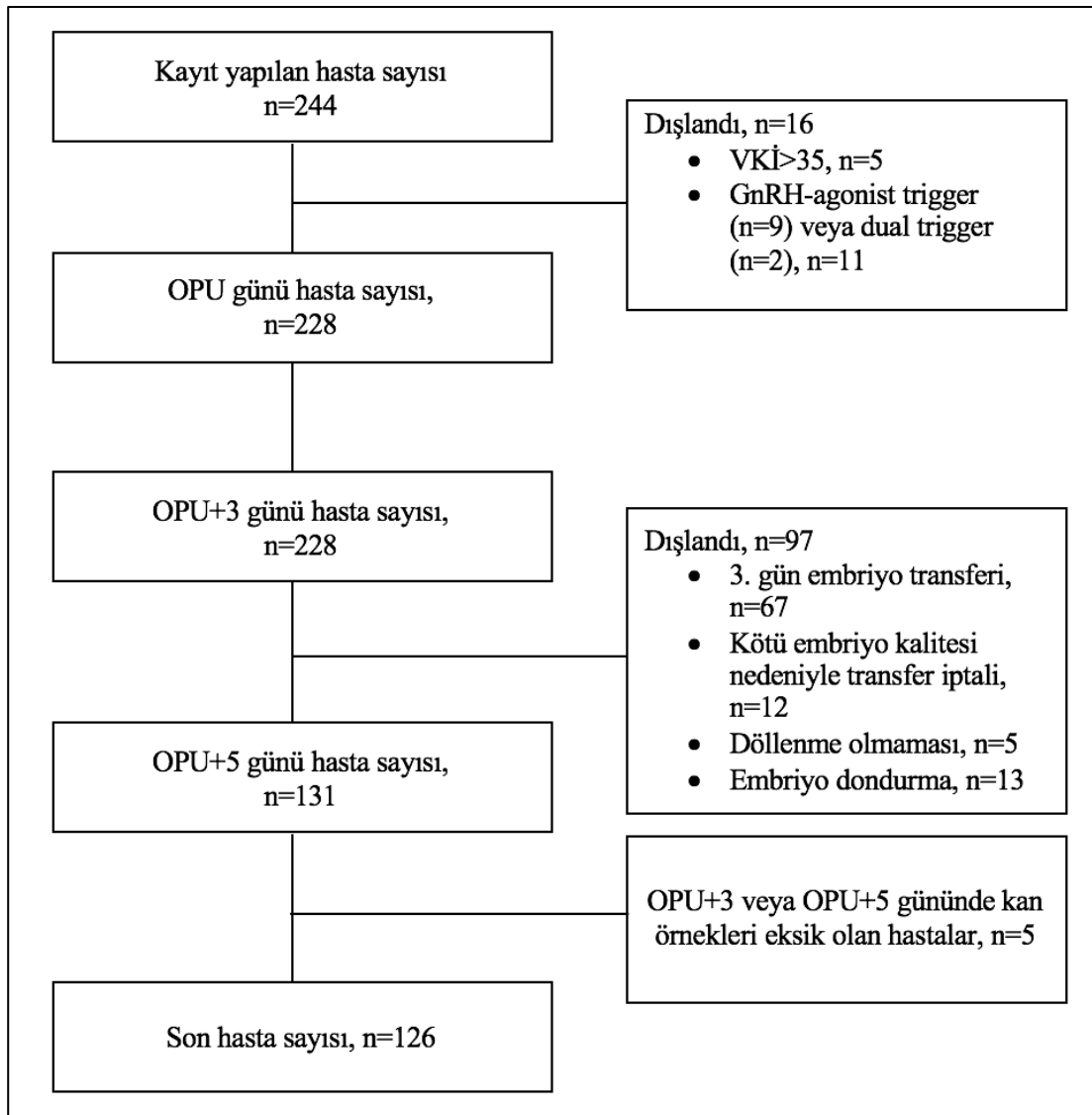
### **3.8 Etik Kurul Onayı**

Bu çalışma için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 10.10.2018 tarihinde KA-180120 numarası ile onay alınmıştır. (Karar No: 2018/17-18)

Bu çalışma [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov) veritabanına kayıt edilmiştir (NCT04128436).

#### 4. BULGULAR

Çalışma için belirlenen tarihler arasında başvuran ardışık 244 hastanın kaydı yapıldıktan sonra, dahil edilme ve dışlanma kriterlerini karşılayan 126 hasta son analize dahil edildi (Şekil 4.1). Analize dahil edilmeyen hastaların dışlanma sebepleri; VKİ >35 kg/m<sup>2</sup> olması (n=5), ovulasyon tetiklemesinin GnRH-agonisti (n=9) veya GnRH-agonist ve rhCG ile birlikte yapılması (n=2), dölleme olmaması (n=5), kötü embriyo kalitesi nedeniyle embriyo transferi yapılmaması (n=12), 3. gün embriyo transferi yapılması (n=67) ve embriyo dondurmaya gidilmesi (n=13) şeklinde sıralanabilir. OPU+3 günü veya OPU+5 gününde kan örnekleri eksik olan 5 hasta da analize dahil edilmedi.



Şekil 4.1. Hasta katılımını gösteren diyagram



Hasta popülasyonunun (n=126) demografik özellikleri ve ovaryan stimülasyon parametreleri Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

**Tablo 4.1.** Hastaların demografik özellikleri ve OS parametreleri (n=126)

Kadın yaşı, yıl	32 (19 – 39)
VKİ, kg/m <sup>2</sup>	24.05 (17.0 – 34.0)
Antral folikül sayısı, n	12 (4 – 30)
Daha önce başarısız siklus sayısı, n	1 (0 - 6)
Daha önce canlı doğum, % (n)	12.7% (16)
Toplam FSH dozu, IU/L	2025.0 (900 – 6300)
Uyarım süresi, gün	9 (6 - 14)
Trigger günü E <sub>2</sub> düzeyi, pg/mL	1726.9 ± 743.8
≥11 mm folikül sayısı, n	10.5 (4 – 18)
≥14 mm folikül sayısı, n	7 (2 – 14)
≥11 mm folikül başına FSH tüketimi (IU)	194.5 (75 – 956.2)
Toplam oosit sayısı, n	8 (4 – 16)
Toplam metafaz-II oosit sayısı, n	7 (3 – 14)
Fertilizasyon oranı, %	83 (25 – 100)
Blastulasyon oranı, %	70 (18 – 100)
Transfer edilen embriyo sayısı, n	1 (1 – 2)
Trigger günü P <sub>4</sub> düzeyi, ng/mL	0.9 (0.3 – 1.4)
OPU günü P <sub>4</sub> düzeyi, ng/mL	5.7 (1.4 – 18.9)
OPU+3 günü P <sub>4</sub> düzeyi, ng/mL	83.1 (36.7 – 161.1)
OPU+5 günü P <sub>4</sub> düzeyi, ng/mL	86.3 (18.7 – 171.8)
Beta hCG günü P <sub>4</sub> düzeyi, ng/mL. (n=97)	15.1 (0.2 – 185.0)

VKİ:Vücut kitle indeksi, FSH:Folikül stimüle edici hormon, E<sub>2</sub>:Östradiol, P<sub>4</sub>:Progesteron, OPU:Oosit pick-up

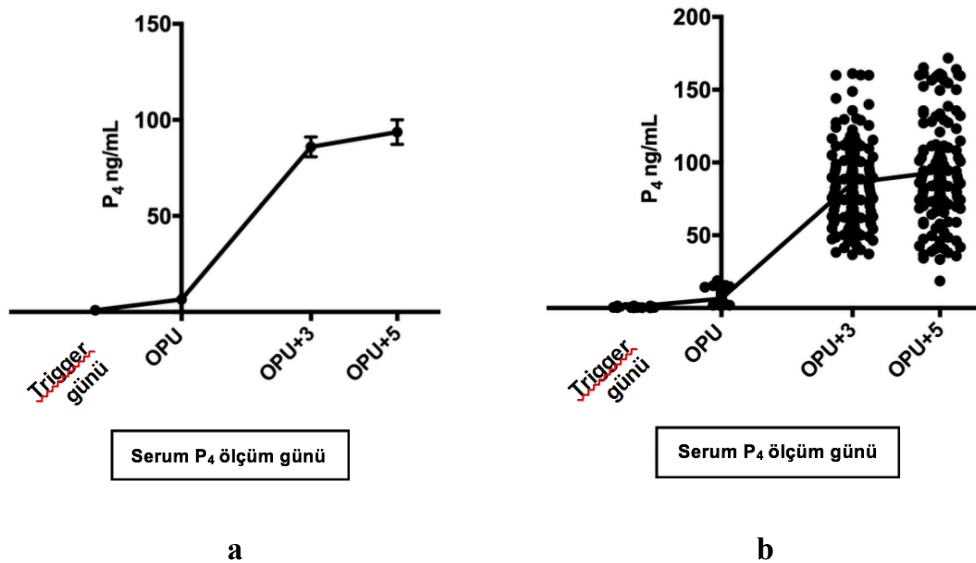
Değerler ortalama ± SD veya medyan (minimum – maksimum) olarak verilmiştir.

#### 4.1. Reprodüktif Sonuçlar

Pozitif hCG, klinik gebelik ve devam eden gebelik oranları sırası ile %54 (68/126), %48.4 (61/126) ve %45.2 (57/126) idi. Klinik öncesi ve klinik gebelik kaybı oranları sırası ile %10.2 (7/68) ve %5.8 (4/68) idi.

#### 4.2. Serum P<sub>4</sub> Düzeyleri

Trigger günü, OPU günü, OPU+3 günü ve OPU+5 günü medyan (minimum-maksimum) P<sub>4</sub> düzeyleri sırası ile 0.9 ng/ml (0.3 – 1.4), 5.7 ng/ml (1.4 – 18.9), 83.1 ng/ml (36.7 – 161.1) ve 86.3 ng/ml (18.7 – 171.8) olarak izlendi (Tablo 4.1). OPU gününden OPU+3 gününe geçerken serum P<sub>4</sub> düzeyleri tüm hastalarda homojen bir şekilde artış göstermesine rağmen, OPU+3 gününden OPU+5 gününe geçerken serum P<sub>4</sub> düzeylerinde bazı hastalarda artış olurken (n=81; %64.3), bazı hastalarda düşüş olduğu gözlemlendi (n=45; %35.7) (Şekil 4.2).



**Şekil 4.2.** Trigger günü, OPU günü, OPU+3 günü ve OPU+5 günü tüm hasta popülasyonunun serum P<sub>4</sub> düzeyleri, ng/ml: **a)** Ortalama ± SE (%95 CI); **b)** Dağılım grafiği

Delta P<sub>4</sub> ( $\Delta P_4$ ) düzeyi, OPU+5 günü P<sub>4</sub> düzeyinden OPU+3 günü P<sub>4</sub> düzeyi çıkartılarak hesaplandı ( $\Delta P_4$  ng/ml = OPU+5 günü – OPU+3 günü).

### 4.3. Devam Eden Gebeliği Olan ve Olmayan Hastaların Karşılaştırılması

Devam eden gebeliği olan ve olmayan hastaların demografik özellikleri ve siklus karakteristikleri Tablo 4.2’de verilmiştir. Devam eden gebeliği olan hastaların ortalama VKİ, devam eden gebeliği olmayan hastalara göre anlamlı olarak daha az izlendi (sırasıyla  $23.9 \pm 3.4$  ve  $25.2 \pm 3.9$  kg/m<sup>2</sup>, p=0.042). Hastaların diğer demografik özelliklerinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktu.

Siklus karakteristiklerine bakıldığında; OS protokolü, kullanılan toplam FSH dozu, trigger günü E<sub>2</sub> düzeyi,  $\geq 11$  mm olan folikül sayısı, toplanan metafaz-II oosit sayısı, transfer edilen embriyo sayısı ve transfer edilen blastokistlerin morfolojileri arasında iki grupta anlamlı bir farklılık yoktu (Tablo 4.2). Fakat, OPU+5 gününde ortalama serum P<sub>4</sub> düzeyi, devam eden gebeliği olan grupta olmayan gruba göre anlamlı olarak daha yüksekti ( $104.4 \pm 35.1$  ng/ml ve  $84.8 \pm 34.8$  ng/ml, p=0.002). Trigger günü, OPU günü ve OPU+3 günü serum P<sub>4</sub> düzeyleri arasında ise anlamlı bir farklılık yoktu (Tablo 4.2).

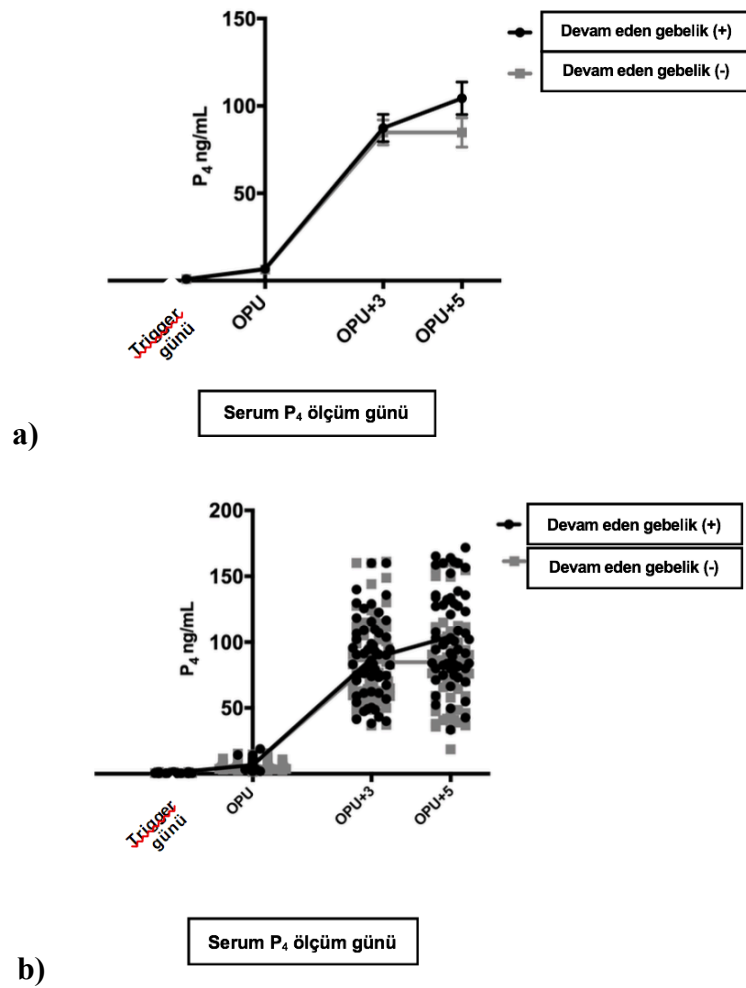
Devam eden gebeliğin bağımsız prediktörlerini tespit edebilmek amacıyla lojistik regresyon analizi yapıldı. Devam eden gebeliği etkileyebilecek değişkenler olarak; kadın yaşı (OR; 0.975, %95 CI 0.887 – 1.073), VKİ (OR; 0.923, %95 CI 0.821 – 1.038), önceki canlı doğum sayısı (OR; 0.964, %95 CI 0.294 – 3.156), OS protokolü (OR; 0.681, %95 CI 0.266 – 1.748),  $\geq 11$  mm olan folikül sayısı (OR; 1.006, %95 CI 0.848 – 1.192), kullanılan toplam FSH dozu (OR; 1.000, %95 CI 0.999 – 1.000), transfer edilen embriyo sayısı (OR; 1.149, %95 CI 0.430 – 3.069), blastokist morfolojisi (OR; 2.241, %95 CI 0.351 – 14.297) ve OPU+5 günü serum P<sub>4</sub> düzeyleri (OR; 1.012, %95 CI 0.999 – 1.026) gibi faktörler değerlendirildiğinde hiçbirisi devam eden gebeliği öngörmeye anlamlı bir prediktör olarak bulunmadı.

**Tablo 4.2.** Devam eden gebeliği olan ve olmayan hastaların demografik özellikleri ve siklus karakteristiklerinin karşılaştırılması.

	<b>Devam eden gebelik var (n=57)</b>	<b>Devam eden gebelik yok (n=69)</b>	<b>P değeri</b>
Kadın yaşı, yıl	31.4± 4.7	32.1 ± 4.3	0.367
Vücut kitle indeksi (kg/m <sup>2</sup> )	23.9 ± 3.4	25.2 ± 3.9	0.042
İnfertilite süresi (ay)	69.4 ± 54.0	54.5 ± 40.6	0.090
Daha önceki siklus sayısı, n	0.0 (0; 5)	1.0 (0; 6)	0.888
Daha önce canlı doğum, n (%)	6 (10.5)	10 (14.5)	0.597
Antral folikül sayısı, n	13.5±5.0	12.3±5.6	0.222
Ovaryan stimülasyon protokolü			0.102
GnRH antagonist protokol n, (%)	47 (82.5)	48 (69.6)	
GnRH-agonist protokol n, (%)	10 (17.5)	21 (30.4)	
Toplam FSH dozu, IU/L	1988±842	2218±901	0.142
Trigger günü E <sub>2</sub> düzeyi, pg/mL	1731.9±857.1	1722.8±641.7	0.947
≥11 mm folikül sayısı, n	10.6±3.1	9.8±3.0	0.120
Toplam metafaz-II oosit sayısı, n	7.5±2.5	6.8±2.1	0.104
Transfer edilen embriyo sayısı, n	1.3±0.4	1.3±0.5	0.707
Trigger günü P <sub>4</sub> düzeyi, ng/mL	0.9±0.3	0.9±0.3	0.972
OPU günü P <sub>4</sub> düzeyi, ng/mL	6.7±3.3	6.3±3.1	0.534
OPU+3 günü P <sub>4</sub> düzeyi, ng/mL	87.4±29.5	84.8±29.7	0.628
OPU+5 günü P <sub>4</sub> düzeyi, ng/mL	104.4±35.1	84.8±34.8	0.002
Beta-hCG günü P <sub>4</sub> düzeyi, ng/mL	80.2±46.4	10.3±10.4	<0.001
Blastokist morfolojisi <sup>a</sup>			0.756
Çok iyi	11 (19.3)	9 (13.0)	
İyi	29 (50.9)	35 (50.7)	
Orta	14 (24.6)	20 (29.0)	
Kötü	3 (5.2)	5 (7.2)	

FSH:Folikül stimüle edici hormon, E<sub>2</sub>:Östradiol, P<sub>4</sub>:Progesteron, OPU:Oosit pick-up. Değerler ortalama±SD veya medyan (minimum–maksimum) olarak verilmiştir. <sup>a</sup>Blastokist morfolojisi çok iyi (3AA, 4AA, 5AA), iyi (3,4,5,6 AB veya BA), orta (3,4,5,6 BB veya AC veya CA) ve kötü (3,4,5,6 BC veya CC) olarak kategorize edilmiştir. Birden fazla embriyo transferi yapıldığında, daha iyi morfolojik evrelemesi olan analize dahil edilmiştir.

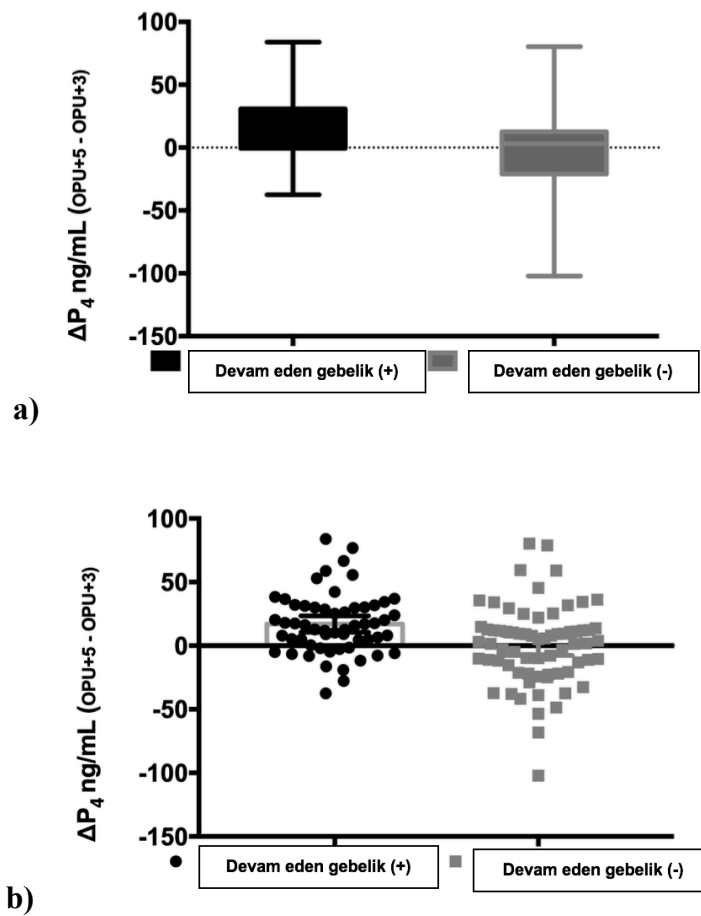
Devam eden gebeliği olan ve olmayan hasta gruplarında trigger günü, OPU günü, OPU+3 günü ve OPU+5 günü serum P<sub>4</sub> düzeylerinin ortalaması Şekil 4.3'de gösterilmiştir. Trigger günü, OPU günü ve OPU+3 günü P<sub>4</sub> düzeyleri iki grup arasında benzer iken, devam eden gebeliği olmayan hastalarda OPU+5 günü P<sub>4</sub> düzeylerinde OPU+3 günü P<sub>4</sub> düzeylerine göre bir düşüş izlenmiştir. Bu düşüşün insidansı, devam eden gebeliği olmayan hastalarda devam eden gebeliği olan hastalara göre anlamlı olarak daha fazla izlenmiştir (sırasıyla %44,9 ve %24,5; p= 0.025) (Şekil 4.3).



**Şekil 4.3.** Trigger günü, OPU günü, OPU+3 günü ve OPU+5 günü tüm devam eden gebeliği olan ve olmayan hasta gruplarında serum P<sub>4</sub> düzeyleri, ng/ml: **a)** Ortalama ± SE (%95 CI); **b)** Dağılım grafiği

#### 4.4. Delta P<sub>4</sub> ( $\Delta P_4$ ) ng/ml = OPU+5 günü – OPU+3 günü

Serum P<sub>4</sub> düzeylerinde OPU+3 gününden OPU+5 gününe geçerken meydana gelen düşüşün devam eden gebelik oranları üzerine etkisini araştırmak için  $\Delta P_4$  ng/ml (OPU+5 günü – OPU+3 günü) hesaplandı. Devam eden gebeliği olan ve olmayan hasta gruplarında ortalama  $\Delta P_4$  ng/ml düzeyleri Şekil 4.4’de gösterilmiştir. Negatif- $\Delta P_4$  olan hastalarda pozitif- $\Delta P_4$  olan hastalara göre devam eden gebelik oranlarında anlamlı bir azalma izlendi (%31.1 ve %53.1; OR= 0.40, %95 CI; 0.19-0.86; p=0.03).

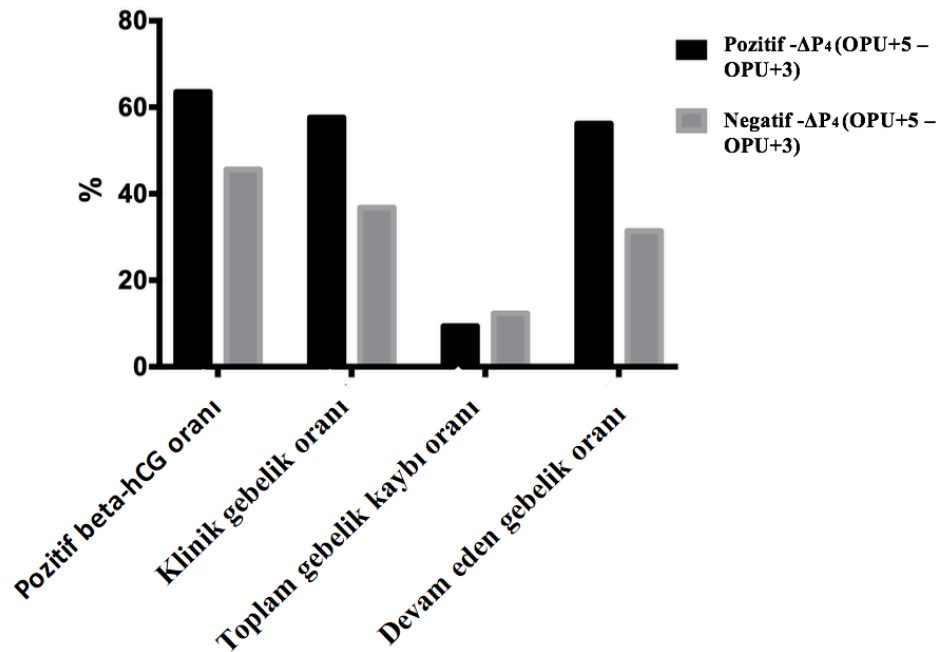


Şekil 4.4. Devam eden gebeliği olan ve olmayan hasta gruplarında  $\Delta P_4$  ng/ml (OPU+5 günü – OPU+3 günü): **a)** Ortalama  $\pm$  SD (minimum-maksimum); **b)** Dağılım grafiği ortalama  $\pm$  SE (%95 CI)

Negatif- $\Delta P_4$  hastalarına bakıldığında, negatif- $\Delta P_4$  (ng/ml) düzeyinin büyüklüğünün devam eden gebeliğin anlamlı bir prediktörü olduğu görüldü (AUC=0.78; %95 CI; 0.63-0.93). Optimal cut-off değeri, %58.1 sensitivite ve %85.7 spesifite ile -19.8 ng/ml olarak belirlendi. Pozitif- $\Delta P_4$  hastaları için ise, pozitif- $\Delta P_4$  (ng/ml) düzeyinin büyüklüğünün devam eden gebeliğin zayıf bir prediktörü olduğu tespit edildi (AUC=0.60; %95 CI; 0.47-0.73).

Lojistik regresyon analizi, aynı değişkenlere bu sefer  $\Delta P_4$  eklenerek tekrar edildiğinde, sadece  $\Delta P_4$  'un devam eden gebelik için bağımsız bir prediktör olduğu görüldü (OR= 1.022; %95 CI; 1.002-1.042; p=0.035) (Tablo 4.3).

Negatif- $\Delta P_4$  ve pozitif- $\Delta P_4$  hastalarında, pozitif hCG, klinik gebelik, toplam gebelik kaybı ve devam eden gebelik oranları sırası ile %40.0 ve %61.7 (p=0.03); %35.6 ve %55.6 (p=0.04); %8.9 ve %8.6 (p=0.96) ve %31.1 ve %53.1 (p=0.03) idi. Negatif- $\Delta P_4$  hastalarında devam eden gebelik oranlarındaki azalma, gebelik kaybı oranındaki artıştan ziyade gebelik oranlarının başlangıçta daha düşük olmasından kaynaklıydı (Şekil 4.5).



**Şekil 4.5.** Pozitif - $\Delta P_4$  ve negatif- $\Delta P_4$  olan hasta gruplarında reproduktif sonuçların oranı

**Tablo 4.3.** Devam eden gebeliğin bağımsız prediktörlerinin tespiti için lojistik regresyon analizi (n=126)

	<b>Odds ratio (95% CI)</b>	<b>P değeri</b>
Kadın yaşı, yıl	0.978 (0.887 – 1.078)	0.649
VKİ, kg/m <sup>2</sup>	0.917 (0.812 – 1.034)	0.158
Daha önce canlı doğum, n	0.935 (0.280 – 3.124)	0.913
Ovaryan stimülasyon protokolü	0.693 (0.269 – 1.787)	0.448
Toplam FSH dozu, IU/L	1.000 (0.999 – 1.000)	0.495
≥11 mm folikül sayısı, n	1.049 (0.879 – 1.252)	0.594
OPU+5 günü P <sub>4</sub> düzeyi, ng/mL	0.999 (0.982 – 1.017)	0.956
ΔP <sub>4</sub> ng/ml (OPU+5 – OPU+3)	1.022 (1.002 – 1.042)	0.035
Transfer edilen embriyo sayısı, n	0.974 (0.355 – 2.676)	0.960
Blastokist morfolojisi <sup>a</sup>		0.590
Çok iyi	3.061 (0.435– 21.520)	0.261
İyi	1.615 (0.277 – 9.423)	0.594
Orta	1.463 (0.245 – 8.743)	0.676
Kötü	1	

VKİ:Vücut kitle indeksi, FSH:Folikül stimüle edici hormon, P<sub>4</sub>:Progesteron, OPU:Oosit pick-up

<sup>a</sup>Blastokist morfolojisi çok iyi (3AA, 4AA, 5AA), iyi (3,4,5,6 AB veya BA), orta (3,4,5,6 BB veya AC veya CA) ve kötü (3,4,5,6 BC veya CC) olarak kategorize edilmiştir. Birden fazla embriyo transferi yapıldığında, daha iyi morfolojik evrelemesi olan analize dahil edilmiştir.



Negatif- $\Delta P_4$ 'un bağımsız prediktörlerini araştırmak için de lojistik regresyon analizi yapıldı. VKİ (OR; 1.131, %95 CI 1.014 – 1.261) ve OS sırasında FSH tüketimi (OR; 0.999, %95 CI 0.999 – 1.000) negatif- $\Delta P_4$ 'un anlamlı prediktörleri olarak bulundu. VKİ arttıkça negatif- $\Delta P_4$  olma olasılığı artarken, FSH tüketimi arttıkça negatif- $\Delta P_4$  olma olasılığı azalmaktaydı. Analize dahil edilen diğer parametrelere bakıldığında; kadın yaşı (OR; 1.023, 95%CI 0.936 – 1.118), OS protokolü (OR; 1.414, 95%CI 0.566 – 3.536),  $\geq 11$  mm folikül sayısı (OR; 0.879, 95%CI 0.753 – 1.027) ve trigger günü serum  $P_4$  düzeyi (OR; 1.316, 95%CI 0.302 – 5.732) negatif- $\Delta P_4$ 'u öngörmede anlamlı prediktörler değildi.

## 5. TARTIŞMA

Literatüre baktığımızda, mevcut çalışma taze blastokist transferi yapılan İVF sikluslarında, erken ve orta luteal faz serum P<sub>4</sub> düzeylerinin reproduktif sonuçlar üzerine etkisini araştıran ilk çalışmadır. Mevcut çalışmanın sonucunda, negatif-ΔP<sub>4</sub> değeri olan yani OPU+3 günü ile OPU+5 günü arasında serum P<sub>4</sub> düzeylerinde düşme olan hastalarda devam eden gebelik oranları da anlamlı olarak azalmıştır. Devam eden gebelik oranları, pozitif-ΔP<sub>4</sub> olan hastalarda negatif-ΔP<sub>4</sub> olan hastalara göre anlamlı olarak daha yüksektir (%53.1 ve %31.1; OR= 0.40, %95 CI; 0.19-0.86; p=0.03). Negatif-ΔP<sub>4</sub> grubu tüm kohortun ≈1/3'ünü oluşturmakta ve bu da gerçek hayatta İVF tedavisi gören hastaların önemli bir kısmında iyi kaliteli blastokistlerin, devam eden gebelik şansının daha az olduğu optimal olmayan P<sub>4</sub> düzeyleri olan hastalara transfer edildiği anlamına gelmektedir.

Tıpın her alanında, tedavinin etkinliğini ve güvenilirliğini arttırmak ve yan etkilerini azaltmak amacıyla bireyselleştirilmiş tedavi uygulamaları geliştirilmektedir. İVF tedavisinde de OS ve ovulasyon tetikleme alanlarında bireyselleştirilmiş tedavi uygulanırsa da, LFD bu güne kadar İVF tedavisinin bireyselleştirilmesinde en çok ihmal edilen alan olmuştur. Taze embriyo transferi yapılan İVF sikluslarında optimal serum P<sub>4</sub> düzeylerini araştıran çalışmalarla ilgili veriler kısıtlı olduğu için klinik kararları etkileyebilecek bir luteal faz P<sub>4</sub> eşik düzeyi veya profili tanımlanmamıştır. Dolayısıyla günümüzde İVF pratiğinde taze embriyo transferini takiben verilen LFD tedavisi genellikle luteal faz monitarizasyonu yapılmadan tüm hastalara “standardize” olarak uygulanmaktadır. Fakat yapılan sınırlı sayıda çalışmanın sonucunda, bu yaygın klinik uygulamaya rağmen luteal faz serum P<sub>4</sub> düzeylerinde bireyler arasında belirgin varyasyonlar olduğu görülmüştür. Bu varyasyonların, endojen kaynaklı korpus luteumun P<sub>4</sub> üretimi arasındaki farklılıklara (5, 6, 57) ve/veya verilen ekzojen LFD tedavisinin farmakokinetiğindeki (emilim, dağılım ve metabolizmasındaki) farklılıklara bağlı olduğu düşünülmektedir (59, 60, 62-67, 76).

Yıllar içerisinde taze embriyo transfer sikluslarında erken ve orta luteal serum P<sub>4</sub> düzeylerinin reproduktif sonuçlar üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalara bakıldığında; iki tane çalışmada gebe kalanlarda daha yüksek P<sub>4</sub> düzeyleri olacağı varsayılarak orta luteal faz P<sub>4</sub> düzeyleri ölçülmüş ve gebe kalan ve kalmayan gruplar arasında anlamlı farklılık olmaması üzerine serum P<sub>4</sub> düzeylerinin reproduktif

sonuçları öngörmede başarısız olduğu sonucuna ulaşılmıştır (69, 73). Başka çalışmalarda seri ölçümlerin daha faydalı olacağı düşünülerek, taze embriyo transferi yapılan sikluslarda erken ve orta luteal fazda seri P<sub>4</sub> ölçümleri yapılmış ve gebe kalanlarda implantasyon gerçekleşip trofoblastlardan salgılanan hCG P<sub>4</sub> düzeylerini yükseltene kadar gebe kalan ve kalmayan gruplar arasında P<sub>4</sub> düzeylerinde anlamlı farklılık olmadığı bildirilmiştir (70-72). Bu çalışmaların çoğunluğuna bakıldığında eski tarihli olduğu ve o dönemde kullanılan OS, LFD ve embriyo transfer politikalarının günümüz pratiğini yansıtmadığı görülmektedir (69-71). Daha güncel olan Petersen ve ark. 2018'de yaptığı çalışmada ise, bizim çalışmamızdaki gibi taze blastokist transferi yapılmış, fakat luteal fazda seri P<sub>4</sub> ölçümleri yapılmamış ve ET gününde serum P<sub>4</sub> düzeyleri canlı doğuma ulaşan ve ulaşmayan hastalar arasında benzer bulunmuştur (73).

Bunun üzerine Thomsen ve ark.'nın taze embriyo transferi siklusları üzerinde yaptığı güncel çalışmada erken luteal faz (OPU+2/3) ve orta luteal faz (OPU+5) serum P<sub>4</sub> düzeylerinin reproduktif sonuçlar ile ilişkisinin lineer olmadığı ve hem düşük hem de yüksek luteal faz serum P<sub>4</sub> düzeylerinin canlı doğum şansını düşürdüğü gösterilmiştir (5). Önceki çalışmalarda anlamlı sonuç çıkmamasının nedeni olarak luteal faz serum P<sub>4</sub> düzeylerinde lineer bir ilişki aranarak gebe kalan ve kalmayan gruplar arasında karşılaştırma yapılmış olmasını savunmuşlardır. Bu çalışmada, tüm kohort erken evre embriyo transferi yapılanlar (n=389) ve blastokist transferi yapılanlar (n=159) olarak ikiye ayrılmış ve erken evre embriyo transferi yapılanlarda erken luteal fazda (OPU+2/3), blastokist transferi yapılanlarda ise orta luteal fazda (OPU+5) serum P<sub>4</sub> ölçümleri yapılmıştır. Dolayısıyla bizim çalışmamızda olduğu gibi aynı hastada seri P<sub>4</sub> ölçümleri mevcut değildir. Çalışmanın sonucunda erken luteal fazda canlı doğum oranlarının en yüksek olduğu optimal P<sub>4</sub> düzeyi aralığı 60-100 nmol/l iken, orta luteal fazda bu aralık 150-250 nmol/l olarak bulunmuştur. Erken ve orta luteal fazda, sırasıyla hastaların %11'i ve %51'inde optimal olmayan serum P<sub>4</sub> düzeyleri tespit edilmiştir. Luteal faz monitarizasyonu yapılırken erken veya orta luteal faz ölçümlerinin kendine ait avantajları ve dezavantajları olduğu öne sürülmüştür. Erken luteal fazda ölçüm yapılırsa P<sub>4</sub> salınımı daha az pulsatil olduğundan (21), daha doğru bir ölçüm yapılabilecek ve ekzojen P<sub>4</sub> desteğinin dozu arttırılarak siklusa müdahale edilebilme şansı olacaktır, fakat optimal olmayan P<sub>4</sub> düzeyleri olan hastalar

da daha az oranda saptanacaktır. Eğer orta luteal fazda monitarizasyon yapılırsa, tedavi değişikliğine ihtiyacı olan optimal olmayan P<sub>4</sub> düzeyleri olan hastalar daha büyük olasılıkla tespit edilebilecekken, P<sub>4</sub> düzeyleri yüksek olan hastalarda P<sub>4</sub> pulsasyonlarının da daha fazla olacağı (6) ve siklus ilerlediği için siklusa müdahale şansının azalacağı vurgulanmaktadır (5).

Netter ve ark.'nın 2019 yılında Thomsen çalışmasından sonra yaptığı bir çalışmada, erken evre embriyo transferi (2/3. gün) yapılan ve LFD olarak oral didrogesteron kullanılan hastalarda sadece ET günü serum P<sub>4</sub> düzeyleri ölçülmüş ve serum P<sub>4</sub> düzeyleri ile reproduktif sonuçlar arasında pozitif bir ilişki saptanarak, düzeyler arttıkça canlı doğum oranlarının arttığı görülmüştür. Kendi verilerini, sadece Thomsen çalışmasının kriterlerine uyan hastaları dahil ederek ve aynı serum P<sub>4</sub> düzeyi gruplarına ayırarak tekrar analiz ettiklerinde, Thomsen çalışmasının sonuçları ile ters düşen sonuçlar elde etmişlerdir (74).

Çalışmamızda, daha önce bahsedilen çalışmalara üstün olarak, her hastaya hCG trigger ve standart LFD uygulanmış ve erken ve orta luteal fazda hastalardan seri P<sub>4</sub> ölçümleri yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda, tüm hastaların  $\approx 1/3$ 'ünde tespit edilen OPU+3 günü ile OPU+5 günü P<sub>4</sub> düzeyleri arasındaki düşüşün devam eden gebeliğin bağımsız negatif bir prediktörü olduğu vurgulanmaktadır. Dahası, negatif- $\Delta P_4$  olan hastalarda bu düşüşün büyüklüğünün de devam eden gebeliğin anlamlı bir prediktörü olduğu görülmüştür (AUC=0.78; %95 CI; 0.63-0.93). Devam eden gebelik oranındaki bu düşüşün temel sebebi gebelik kaybındaki artıştan ziyade başlangıçta gebe kalma oranının daha düşük olmasıdır. Dikkat çeken bir diğer nokta da VKİ ve FSH tüketimi negatif- $\Delta P_4$ 'un anlamlı prediktörleridir. Beklenildiği üzere VKİ arttıkça, negatif- $\Delta P_4$  olma olasılığı artmaktadır. Bu durum, ekzojen verilen vajinal P<sub>4</sub>'un VKİ yüksek olan hastalardaki farmakokinetiğinde değişiklikler kaynaklı olabileceği gibi (76), Vuong ve ark. yaptığı bir çalışmada gösterdikleri gibi hCG trigger uygulaması sonrası hCG'nin farmakokinetiğindeki farklılıklara bağlı da olabilir (58). FSH tüketimi arttıkça, negatif- $\Delta P_4$  olma olasılığı ise azalmaktadır. Daha önce bahsedildiği gibi ovaryan fizyolojiye bakıldığında FSH, granüloza hücrelerinde LH reseptör ekspresyonunun temel düzenleyicisidir (77, 78). OS sırasında FSH tüketimi ne kadar fazlaysa korpus luteum da o kadar fazla LH reseptörlerine sahip olacaktır. Daha önce Ascoli ve ark. tarafından yapılan deneysel bir çalışmada gösterildiği üzere hücre başına

düşen LH reseptörleri P<sub>4</sub> sekresyonunun en önemli belirleyicisidir. Sabit LH uyarısı ile uyarıldığında hücre başına LH reseptörlerinin sayısı ne kadar fazlaysa P<sub>4</sub> üretimi de o kadar fazla olmuştur (79). Wang ve ark.'nın 2019 yılında yaptığı bir çalışmada da OS sırasında FSH tüketimi ne kadar fazlaysa LH reseptör ekspresyonunun da o kadar fazla olacağı ve dolayısıyla hCG trigger yanıtı olarak P<sub>4</sub> üretiminin de artacağı hipotezi desteklenmiştir (80).

Luteal fazda P<sub>4</sub> monitarizasyonunda karşılaşılan güçlüklerden biri, orta luteal fazda P<sub>4</sub> salınımının pulsatil olmasıdır (6). Oysa erken luteal fazda hem doğal sıklularda hem de İVF sıklularda (OPU+2) P<sub>4</sub> salınımı pulsatil değildir (21, 81). Uyarılmış İVF sıklularda, orta luteal fazda LH pulsasyonları yoktur ve serum LH düzeyleri önemli ölçüde baskılanmıştır (82). Ovulasyon tetiklemesi için bolus hCG uygulanması, hCG'nin uzun yarılanma ömrü dolayısıyla luteal doku üzerinde sabit ve tonik bir uyarım yapar. Standart LFD için verilen ekzojen vajinal P<sub>4</sub> ise erken luteal fazda kararlı duruma (steady state) ulaşarak günlük çoklu vajinal dozlara rağmen sabit bir P<sub>4</sub> düzeyi sağlar (83). Orta luteal fazda görülen bu P<sub>4</sub> düzeylerindeki yüksek dalgalanmalar, büyük olasılıkla endojen otonom intraovaryan P<sub>4</sub> sirkülasyonundan kaynaklanmaktadır. Thomsen ve ark., orta luteal fazda serum P<sub>4</sub> düzeylerindeki varyasyonları araştırdığı çalışmada, orta luteal fazda (OPU+7) P<sub>4</sub> dalgalanmalarının büyüklüğünün median P<sub>4</sub> düzeyleri ile anlamlı olarak ilişkili olduğu; 250 nmol/l üzerindeki median P<sub>4</sub> düzeylerinde çok geniş dalgalanmalar izlenirken, 60 nmol/l altındaki değerlerde gün içinde klinik olarak stabil P<sub>4</sub> düzeyleri izlenmiştir. Dolayısıyla düşük P<sub>4</sub> düzeyleri olan hastalarda yapılacak tek kan ölçümü korpus luteum fonksiyonu ve kan P<sub>4</sub> düzeylerini doğrulukla yansıtabilir (6).

Mevcut çalışmanın gücünü arttıran en önemli özellikleri; prospektif dizaynı, hasta başına seri P<sub>4</sub> ölçümleri yapılmış olması, tetikleme ve LFD için standardize protokoller uygulanmış olması ve vajinal jelin sabah uygulamasından sonra kan ölçümlerinin aynı saatte yapılarak standardize edilmiş olmasıdır. Çalışmanın en önemli kısıtlayıcı basamağı ise hasta sayısının az olmasıdır. Fakat yapılan ara analizde, hastaların  $\approx 1/3$ 'ünde görülen negatif- $\Delta P_4$ 'un devam eden gebelik oranlarında klinik ve istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya yol açmasının tespit edilmesinden sonra çalışmaya devam etmenin etik olarak doğru olmayacağını düşündük.

Negatif- $\Delta P_4$  olan hastalarda gerçek hayatta blastokist transferi yapmak yerine tüm uygun embriyoları dondurma (freeze-all) politikasına gidilebilir. Uygulanabilecek bir diğer strateji de luteal fazı, aynı veya farklı bir uygulama yöntemi ile ekzojen  $P_4$  ile destekleyerek siklusu kurtarmak olabilir. Bu stratejiler, gelecekte daha geniş hasta populasyonlarında randomize kontrollü çalışmalar ile desteklenmelidir. Güncel ve retrospektif bir çalışmada, luteal fazda düşük  $P_4$  düzeyleri olan hastalara rutin LFD'ne ek olarak oral didrogesteron verildiğinde canlı doğum oranlarının arttığı gösterilerek luteal fazın dışarıdan desteklenerek kurtarılabilceği gösterilmiştir (84).

## 6. SONUÇ

Çalışmamız, taze blastokist transferi sikluslarında standart LFD verilen hastalarda luteal fazda seri P<sub>4</sub> ölçümlerinin devam eden gebeliğe etkisini araştıran ilk çalışmadır. Sonuç olarak, luteal fazda serum P<sub>4</sub> düzeylerinde kişiler arasında belirgin farklılıklar izlenmektedir ve hastaların  $\approx 1/3$ 'ünde (negatif- $\Delta P_4$ ) iyi kaliteli blastokistler optimal olmayan şartlarda transfer edilerek, devam eden gebelik oranlarında 2,5 kat azalma ile sonuçlanmaktadır. Dolayısıyla, ya dışarıdan ek ekzojen P<sub>4</sub> desteği ya da tüm uygun blastokistlerin dondurulması (freeze-all) politikasına gidilmesi gerekecek bu hastaların tespiti için LFD'inde standardize tedaviler yerine bireyselleştirilmiş yaklaşımların uygulanması gerekmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Soules MR, Clifton DK, Steiner RA, Cohen NL, Bremner WJ. The corpus luteum: determinants of progesterone secretion in the normal menstrual cycle. *Obstet Gynecol.* 1988;71(5):659-66.
2. Di Renzo GC, Giardina I, Clerici G, Brillo E, Gerli S. Progesterone in normal and pathological pregnancy. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2016;27(1):35-48.
3. Ross GT, Cargille CM, Lipsett MB, Rayford PL, Marshall JR, Strott CA, et al. Pituitary and gonadal hormones in women during spontaneous and induced ovulatory cycles. *Recent Prog Horm Res.* 1970;26:1-62.
4. Bourgain C, Ubaldi F, Tavaniotou A, Smitz J, Van Steirteghem AC, Devroey P. Endometrial hormone receptors and proliferation index in the periovulatory phase of stimulated embryo transfer cycles in comparison with natural cycles and relation to clinical pregnancy outcome. *Fertil Steril.* 2002;78(2):237-44.
5. Thomsen LH, Kesmodel US, Erb K, Bungum L, Pedersen D, Hauge B, et al. The impact of luteal serum progesterone levels on live birth rates-a prospective study of 602 IVF/ICSI cycles. *Hum Reprod.* 2018;33(8):1506-16.
6. Thomsen LH, Kesmodel US, Andersen CY, Humaidan P. Daytime Variation in Serum Progesterone During the Mid-Luteal Phase in Women Undergoing In Vitro Fertilization Treatment. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9:92.
7. Wiltbank MC, Salih SM, Atli MO, Luo W, Bormann CL, Ottobre JS, et al. Comparison of endocrine and cellular mechanisms regulating the corpus luteum of primates and ruminants. *Anim Reprod.* 2012;9(3):242-59.
8. Hugh S. Taylor LP, Emre Sell, Pinar Kodaman Speroff's Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. 2019(LWW).
9. Smith SK, Lenton EA, Cooke ID. Plasma gonadotrophin and ovarian steroid concentrations in women with menstrual cycles with a short luteal phase. *J Reprod Fertil.* 1985;75(2):363-8.



10. Vande Wiele RL, Bogumil J, Dyrenfurth I, Ferin M, Jewelewicz R, Warren M, et al. Mechanisms regulating the menstrual cycle in women. *Recent Prog Horm Res.* 1970;26:63-103.
11. Retamales I, Carrasco I, Troncoso JL, Las Heras J, Devoto L, Vega M. Morpho-functional study of human luteal cell subpopulations. *Hum Reprod.* 1994;9(4):591-6.
12. Fisch B, Margara RA, Winston RM, Hillier SG. Cellular basis of luteal steroidogenesis in the human ovary. *J Endocrinol.* 1989;122(1):303-11.
13. Maybin JA, Duncan WC. The human corpus luteum: which cells have progesterone receptors? *Reproduction.* 2004;128(4):423-31.
14. Devoto L, Fuentes A, Kohen P, Céspedes P, Palomino A, Pommer R, et al. The human corpus luteum: life cycle and function in natural cycles. *Fertil Steril.* 2009;92(3):1067-79.
15. van den Driesche S, Smith VM, Myers M, Duncan WC. Expression and regulation of oestrogen receptors in the human corpus luteum. *Reproduction.* 2008;135(4):509-17.
16. Maas S, Jarry H, Teichmann A, Rath W, Kuhn W, Wuttke W. Paracrine actions of oxytocin, prostaglandin F2 alpha, and estradiol within the human corpus luteum. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;74(2):306-12.
17. Fridén BE, Hagström H, Lindblom B, Sjöblom P, Wallin A, Brännström M, et al. Cell characteristics and function of two enriched fraction of human luteal cells prolonged culture. *Mol Hum Reprod.* 1999;5(8):714-9.
18. Ohara A, Mori T, Taii S, Ban C, Narimoto K. Functional differentiation in steroidogenesis of two types of luteal cells isolated from mature human corpora lutea of menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab.* 1987;65(6):1192-200.
19. Brannian JD, Stouffer RL. Progesterone production by monkey luteal cell subpopulations at different stages of the menstrual cycle: changes in agonist responsiveness. *Biol Reprod.* 1991;44(1):141-9.
20. Wuttke W, Theiling K, Hinney B, Pitzel L. Regulation of steroid production and its function within the corpus luteum. *Steroids.* 1998;63(5-6):299-305.

21. Filicori M, Butler JP, Crowley WF, Jr. Neuroendocrine regulation of the corpus luteum in the human. Evidence for pulsatile progesterone secretion. *J Clin Invest.* 1984;73(6):1638-47.
22. Jones GS. Luteal phase defect: a review of pathophysiology. *Current opinion in obstetrics & gynecology.* 1991;3(5):641-8.
23. McLachlan RI, Cohen NL, Vale WW, Rivier JE, Burger HG, Bremner WJ, et al. The importance of luteinizing hormone in the control of inhibin and progesterone secretion by the human corpus luteum. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989;68(6):1078-85.
24. Wunder DM, Bersinger NA, Yared M, Kretschmer R, Birkhäuser MH. Statistically significant changes of antimüllerian hormone and inhibin levels during the physiologic menstrual cycle in reproductive age women. *Fertil Steril.* 2008;89(4):927-33.
25. Lenton EA, Landgren BM, Sexton L, Harper R. Normal variation in the length of the follicular phase of the menstrual cycle: effect of chronological age. *Br J Obstet Gynaecol.* 1984;91(7):681-4.
26. Rothchild I BC, Milgrom E, Mauvais-Jarvis P. Role of progesterone in initiating and maintaining pregnancy. *Progesterone and Progestins*, Raven Press, New York. 1983:p. 219.
27. Scott R, Navot D, Liu HC, Rosenwaks Z. A human in vivo model for the luteoplacental shift. *Fertil Steril.* 1991;56(3):481-4.
28. Csapo AI, Pulkkinen MO, Wiest WG. Effects of luteectomy and progesterone replacement therapy in early pregnant patients. *Am J Obstet Gynecol.* 1973;115(6):759-65.
29. Tulchinsky D, Hobel CJ. Plasma human chorionic gonadotropin, estrone, estradiol, estriol, progesterone, and 17 alpha-hydroxyprogesterone in human pregnancy. 3. Early normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1973;117(7):884-93.
30. Mishell DR, Jr., Thorneycroft IH, Nagata Y, Murata T, Nakamura RM. Serum gonadotropin and steroid patterns in early human gestation. *Am J Obstet Gynecol.* 1973;117(5):631-42.

31. Graham JD, Clarke CL. Physiological action of progesterone in target tissues. *Endocr Rev.* 1997;18(4):502-19.
32. Mote PA, Balleine RL, McGowan EM, Clarke CL. Heterogeneity of progesterone receptors A and B expression in human endometrial glands and stroma. *Hum Reprod.* 2000;15 Suppl 3:48-56.
33. Druckmann R, Druckmann MA. Progesterone and the immunology of pregnancy. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2005;97(5):389-96.
34. Csapo AI, Pinto-Dantas CA. The effect of progesterone on the human uterus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1965;54(4):1069-76.
35. Jones HW, Jr. What has happened? Where are we? *Hum Reprod.* 1996;11 Suppl 1:7-24; discussion 9-31.
36. Fatemi HM. The luteal phase after 3 decades of IVF: what do we know? *Reproductive biomedicine online.* 2009;19 Suppl 4:4331.
37. Beckers NG, Macklon NS, Eijkemans MJ, Ludwig M, Felberbaum RE, Diedrich K, et al. Nonsupplemented luteal phase characteristics after the administration of recombinant human chorionic gonadotropin, recombinant luteinizing hormone, or gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist to induce final oocyte maturation in in vitro fertilization patients after ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone and GnRH antagonist cotreatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(9):4186-92.
38. Edwards RG, Steptoe PC, Purdy JM. Establishing full-term human pregnancies using cleaving embryos grown in vitro. *Br J Obstet Gynaecol.* 1980;87(9):737-56.
39. Smitz J, Erard P, Camus M, Devroey P, Tournaye H, Wisanto A, et al. Pituitary gonadotrophin secretory capacity during the luteal phase in superovulation using GnRH-agonists and HMG in a desensitization or flare-up protocol. *Hum Reprod.* 1992;7(9):1225-9.
40. van der Linden M, Buckingham K, Farquhar C, Kremer JA, Metwally M. Luteal phase support for assisted reproduction cycles. *The Cochrane database of systematic reviews.* 2015;2015(7):Cd009154.

41. Kolibianakis EM, Bourgain C, Platteau P, Albano C, Van Steirteghem AC, Devroey P. Abnormal endometrial development occurs during the luteal phase of nonsupplemented donor cycles treated with recombinant follicle-stimulating hormone and gonadotropin-releasing hormone antagonists. *Fertil Steril*. 2003;80(2):464-6.
42. Bulletti C, de Ziegler D, Flamigni C, Giacomucci E, Polli V, Bolelli G, et al. Targeted drug delivery in gynaecology: the first uterine pass effect. *Hum Reprod*. 1997;12(5):1073-9.
43. Cicinelli E, de Ziegler D. Transvaginal progesterone: evidence for a new functional 'portal system' flowing from the vagina to the uterus. *Human reproduction update*. 1999;5(4):365-72.
44. Ludwig M, Diedrich K. Evaluation of an optimal luteal phase support protocol in IVF. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. 2001;80(5):452-66.
45. Daya S, Gunby J. Luteal phase support in assisted reproduction cycles. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2004(3):Cd004830.
46. Iwase A, Ando H, Toda S, Ishimatsu S, Harata T, Kurotsuchi S, et al. Oral progestogen versus intramuscular progesterone for luteal support after assisted reproductive technology treatment: a prospective randomized study. *Arch Gynecol Obstet*. 2008;277(4):319-24.
47. Tournaye H, Sukhikh GT, Kahler E, Griesinger G. A Phase III randomized controlled trial comparing the efficacy, safety and tolerability of oral dydrogesterone versus micronized vaginal progesterone for luteal support in in vitro fertilization. *Hum Reprod*. 2017;32(5):1019-27.
48. Griesinger G, Blockeel C, Sukhikh GT, Patki A, Dhorepatil B, Yang DZ, et al. Oral dydrogesterone versus intravaginal micronized progesterone gel for luteal phase support in IVF: a randomized clinical trial. *Hum Reprod*. 2018;33(12):2212-21.
49. Yang DZ, Griesinger G, Wang W, Gong F, Liang X, Zhang H, et al. A Phase III randomized controlled trial of oral dydrogesterone versus intravaginal progesterone gel for luteal phase support in in vitro fertilization (Lotus II): results from the Chinese mainland subpopulation. *Gynecol Endocrinol*. 2020;36(2):175-83.

50. Mochtar MH, Van Wely M, Van der Veen F. Timing luteal phase support in GnRH agonist down-regulated IVF/embryo transfer cycles. *Hum Reprod.* 2006;21(4):905-8.
51. Williams SC, Oehninger S, Gibbons WE, Van Cleave WC, Muasher SJ. Delaying the initiation of progesterone supplementation results in decreased pregnancy rates after in vitro fertilization: a randomized, prospective study. *Fertil Steril.* 2001;76(6):1140-3.
52. Pan SP, Chao KH, Huang CC, Wu MY, Chen MJ, Chang CH, et al. Early stop of progesterone supplementation after confirmation of pregnancy in IVF/ICSI fresh embryo transfer cycles of poor responders does not affect pregnancy outcome. *PLoS One.* 2018;13(8):e0201824.
53. Vaisbuch E, de Ziegler D, Leong M, Weissman A, Shoham Z. Luteal-phase support in assisted reproduction treatment: real-life practices reported worldwide by an updated website-based survey. *Reproductive biomedicine online.* 2014;28(3):330-5.
54. Liu XR, Mu HQ, Shi Q, Xiao XQ, Qi HB. The optimal duration of progesterone supplementation in pregnant women after IVF/ICSI: a meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol.* 2012;10:107.
55. Miles RA, Paulson RJ, Lobo RA, Press MF, Dahmouh L, Sauer MV. Pharmacokinetics and endometrial tissue levels of progesterone after administration by intramuscular and vaginal routes: a comparative study. *Fertil Steril.* 1994;62(3):485-90.
56. Young SL, Savaris RF, Lessey BA, Sharkey AM, Balthazar U, Zaino RJ, et al. Effect of randomized serum progesterone concentration on secretory endometrial histologic development and gene expression. *Hum Reprod.* 2017;32(9):1903-14.
57. Vuong LN, Ho TM, Pham TD, Ho VNA, Andersen CY, Humaidan P. The early luteal hormonal profile in IVF patients triggered with hCG. *Hum Reprod.* 2020;35(1):157-66.
58. Vuong LN, Pham TD, Ho VNA, Ho TM, Humaidan P, Andersen CY. Determinants of the hCG Concentration in the Early Luteal Phase After Final Maturation of Follicles With Bolus Trigger of Recombinant hCG. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020;11:137.
59. Alsbjerg B, Thomsen L, Elbaek HO, Laursen R, Povlsen BB, Haahr T, et al. Progesterone levels on pregnancy test day after hormone replacement therapy-cryopreserved

- embryo transfer cycles and related reproductive outcomes. *Reproductive biomedicine online*. 2018;37(5):641-7.
60. Yovich JL, Conceicao JL, Stanger JD, Hinchliffe PM, Keane KN. Mid-luteal serum progesterone concentrations govern implantation rates for cryopreserved embryo transfers conducted under hormone replacement. *Reproductive biomedicine online*. 2015;31(2):180-91.
  61. González-Foruria I, Gaggiotti-Marre S, Álvarez M, Martínez F, García S, Rodríguez I, et al. Factors associated with serum progesterone concentrations the day before cryopreserved embryo transfer in artificial cycles. *Reproductive biomedicine online*. 2020.
  62. Brady PC, Kaser DJ, Ginsburg ES, Ashby RK, Missmer SA, Correia KF, et al. Serum progesterone concentration on day of embryo transfer in donor oocyte cycles. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2014;31(5):569-75.
  63. Kofinas JD, Blakemore J, McCulloh DH, Grifo J. Serum progesterone levels greater than 20 ng/dl on day of embryo transfer are associated with lower live birth and higher pregnancy loss rates. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2015;32(9):1395-9.
  64. Labarta E, Mariani G, Holtmann N, Celada P, Remohí J, Bosch E. Low serum progesterone on the day of embryo transfer is associated with a diminished ongoing pregnancy rate in oocyte donation cycles after artificial endometrial preparation: a prospective study. *Hum Reprod*. 2017;32(12):2437-42.
  65. Basnayake SK, Volovsky M, Rombauts L, Osianlis T, Vollenhoven B, Healey M. Progesterone concentrations and dosage with frozen embryo transfers - What's best? *The Australian & New Zealand journal of obstetrics & gynaecology*. 2018;58(5):533-8.
  66. Gaggiotti-Marre S, Martinez F, Coll L, Garcia S, Álvarez M, Parriego M, et al. Low serum progesterone the day prior to frozen embryo transfer of euploid embryos is associated with significant reduction in live birth rates. *Gynecol Endocrinol*. 2019;35(5):439-42.
  67. Cédric-Durnerin I, Isnard T, Mahdjoub S, Sonigo C, Seroka A, Comtet M, et al. Serum progesterone concentration and live birth rate in frozen-thawed embryo transfers

- with hormonally prepared endometrium. *Reproductive biomedicine online*. 2019;38(3):472-80.
68. Polat M, Mumusoglu S, Bozdogan G, Ozbek IY, Humaidan P, Yarali H. Addition of intramuscular progesterone to vaginal progesterone in hormone replacement therapy in vitrified-warmed blastocyst transfer cycles. *Reproductive biomedicine online*. 2020;40(6):812-8.
69. Balasch J, Creus M, Fábregues F, Carmona F, Casamitjana R, Peñarrubia J, et al. Hormonal profiles in successful and unsuccessful implantation in IVF-ET after combined GnRH agonist/gonadotropin treatment for superovulation and hCG luteal support. *Gynecol Endocrinol*. 1995;9(1):51-8.
70. Hassiakos D, Toner JP, Muasher SJ, Jones HW, Jr. Implantation and pregnancy rates in relation to oestradiol and progesterone profiles in cycles with and without the use of gonadotrophin-releasing hormone agonist suppression. *Hum Reprod*. 1990;5(8):1004-8.
71. Howles CM, Macnamee MC, Edwards RG. Follicular development and early luteal function of conception and non-conceptual cycles after human in-vitro fertilization: endocrine correlates. *Hum Reprod*. 1987;2(1):17-21.
72. Sonntag B, Loebbecke KC, Nofer JR, Kiesel L, Greb RR. Serum estradiol and progesterone in the mid-luteal phase predict clinical pregnancy outcome in IVF/ICSI cycles. *Gynecol Endocrinol*. 2013;29(7):700-3.
73. Petersen JF, Andersen AN, Klein BM, Helmggaard L, Arce JC. Luteal phase progesterone and oestradiol after ovarian stimulation: relation to response and prediction of pregnancy. *Reproductive biomedicine online*. 2018;36(4):427-34.
74. Netter A, Mancini J, Buffat C, Agostini A, Perrin J, Courbiere B. Do early luteal serum progesterone levels predict the reproductive outcomes in IVF with oral dydrogesterone for luteal phase support? *PLoS One*. 2019;14(7):e0220450.
75. Gardner DK, Schoolcraft WB. Culture and transfer of human blastocysts. *Current opinion in obstetrics & gynecology*. 1999;11(3):307-11.
76. Edelman AB, Cherala G, Stanczyk FZ. Metabolism and pharmacokinetics of contraceptive steroids in obese women: a review. *Contraception*. 2010;82(4):314-23.

77. Filicori M, Cognigni GE, Pocognoli P, Tabarelli C, Spettoli D, Taraborrelli S, et al. Modulation of folliculogenesis and steroidogenesis in women by graded menotrophin administration. *Hum Reprod.* 2002;17(8):2009-15.
78. Lindeberg M, Carlström K, Ritvos O, Hovatta O. Gonadotrophin stimulation of non-luteinized granulosa cells increases steroid production and the expression of enzymes involved in estrogen and progesterone synthesis. *Hum Reprod.* 2007;22(2):401-6.
79. Hirakawa T, Galet C, Ascoli M. MA-10 cells transfected with the human lutropin/choriogonadotropin receptor (hLHR): a novel experimental paradigm to study the functional properties of the hLHR. *Endocrinology.* 2002;143(3):1026-35.
80. Friis Wang N, Skouby SO, Humaidan P, Andersen CY. Response to ovulation trigger is correlated to late follicular phase progesterone levels: A hypothesis explaining reduced reproductive outcomes caused by increased late follicular progesterone rise. *Hum Reprod.* 2019;34(5):942-8.
81. Tannus S, Burke Y, McCartney CR, Kol S. GnRH-agonist triggering for final oocyte maturation in GnRH-antagonist IVF cycles induces decreased LH pulse rate and amplitude in early luteal phase: a possible luteolysis mechanism. *Gynecol Endocrinol.* 2017;33(9):741-5.
82. Wolfram J, Sieberg R, Apter D, Alfthan H, Stenman UH, Laatikainen T. Pulsatility of serum-luteinizing hormone during hyperstimulation with clomiphene citrate and human menopausal gonadotropin for in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 1989;52(5):817-20.
83. Devroey P, Palermo G, Bourgain C, Van Waesberghe L, Smits J, Van Steirteghem AC. Progesterone administration in patients with absent ovaries. *Int J Fertil.* 1989;34(3):188-93.
84. Tu J, Lin G, Gong F. Additional luteal support might improve IVF outcomes in patients with low progesterone level in middle luteal phase following a GnRH agonist protocol. *Gynecol Endocrinol.* 2020:1-5.



