



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

**Gerçek Doğal Siklus ile Donma-Çözme Blastokist Transferi Yapılan
Hastalarda Literatürde Kullanılan Farklı Luteinizan Hormon Artışı
Tanımlarının Transfer Zamanlamasına Etkisi**

Dr. Haldun Murat ERDEN

**UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA
2022**



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

**Gerçek Doğal Siklus ile Donma-Çözme Blastokist Transferi Yapılan
Hastalarda Literatürde Kullanılan Farklı Luteinizan Hormon Artışı
Tanımlarının Transfer Zamanlamasına Etkisi**

**Dr. Haldun Murat ERDEN
UZMANLIK TEZİ**

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

**ANKARA
2022**

TEŞEKKÜR

Bundan yedi sene önce, Kadın Hastalıkları ve Doğum uzmanı olmaya karar vermemi sağlayan, hayatım boyunca birlikte çalışmış olmanın bana kattığı ilke ve prensipleri taşımanın gururunu yaşayacağım, sayın Prof.Dr. Hakan Yaralı'ya;

Tüm asistanlık hayatım boyunca, bilgisini, desteğini ve katkılarını esirgemeyen Doç. Dr. Sezcan Mümüşoğlu'na;

Uzmanlık eğitimimde bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım başta Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. G. Serdar Günalp olmak üzere tüm değerli hocalarıma;

Prof. Dr. Mehtap Polat başta olmak üzere, destek ve yardımları için tüm Anatolia Tüp Bebek Merkezi ailesine;

Ferdi olmaktan gurur duyduğum sevgili ailem İlhan, Ayşe, Erhan ve İlayda Erden ve Birim Özdilek ve Nezahat Türkmen'e;

“Hayatta en büyük mucize, küçükken iyi bir öğretmene rastlamaktır.” sözünün hayatımdaki karşılığı sayın hocam Ahmet Taşdemir'e;

Teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Haldun Murat ERDEN

ÖZET

Erden H.M., Gerçek doğal siklus ile donma-çözme blastokist transferi yapılan hastalarda literatürde kullanılan farklı luteinizan hormon artışı tanımlarının transfer zamanlamasına etkisi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Uzmanlık Tezi, Ankara 2022. Genellikle luteinizan hormon (LH) artışının saptanması ile ovülasyon gününü belirlemek, üreme başarısını en üst düzeye çıkarmak için gerçek doğal siklus (g-DS) ile yapılan dondurulmuş embriyo transferinin (DET) zamanlamasında çok önemlidir. Ancak, LH artışının tanımı konusunda bir fikir birliği yoktur. Her ne kadar genel uygulama, LH artışı +6 gün sonra ısıtılmış blastokist transferini planlamak olsa da sadece üç retrospektif çalışma, g-DS DET’te, LH artışına göre kullanılan farklı zamanlamaların üreme sonuçlarına etkisi üzerine farklı sonuçlar yayınlamıştır. Bu kapsamda, mevcut literatürde yaygın olarak kullanılan farklı LH artışı tanımlarının ısıtılmış blastokist transferi zamanlaması üzerindeki etkisini belirlemek için g-DS DET sikluslarını veri tabanımızda inceledik. Buna ek olarak, LH artışının farklı tanımlarına göre g-DS DET sonrası devam eden gebelik oranlarını karşılaştırdık. Ocak 2017- Ekim 2021 tarihleri arasında, transfer öncesi kan alınması ve ultrason ile monitörize edilen ardışık 115 g-DS DET’ler çalışmaya dahil edildi. Foliküler kollaps için +5 gün olan referans transfer zamanlamamızın, LH artışının altı farklı tanımını kullanan siklusların yalnızca %5,2-%41,2’sinde LH artışı +6 güne denk geldiğini bulduk. Buna karşılık, referans zamanlamamızı, siklusların çoğunda (%46,1-%69,5) LH artışı +7 güne ve daha seyrek olarak +8 güne (%1,8-%38,3) ve +9 güne (%0- %10,4) denk geleceğini saptadık. Çalışmamızın önemli bir sonucu da LH artışının her farklı tanımı için, devam eden gebelik oranlarının LH artışı +6/+7/+8/+9 zamanlamalarına göre benzer olmasıydı, bu da implantasyon penceresinin yüksek derecede esnekliğini yansıtmaktadır.

Anahtar Kelimeler: LH artışı / gerçek doğal siklus / ultrason / ovülasyon / dondurulmuş embriyo transferi

ABSTRACT

Erden H.M., Timing of vitrified-warmed blastocyst transfer in true natural cycle according to different definitions of luteinizing hormone surge in the literature, Department of Obstetrics and Gynecology, Dissertation, Ankara 2022.

Pinpointing the day of ovulation, usually by documentation of the luteinizing hormone (LH) surge, is crucial for timing of frozen-embryo transfer (FET) in true natural cycle (t-NC) to maximize reproductive success; however, there is no consensus on the definition of the LH surge. Although the usual practice is to schedule warmed blastocyst transfer on LH surge +6 day, only three retrospective studies explored the impact of timing related to the LH surge in t-NC on reproductive outcomes with contradictory results. On this basis, we queried our database of t-NC FET cycles to determine the impact of different definitions of LH surge, as commonly used in the existing literature, on the date of warmed blastocyst transfer. Additionally, we compared the ongoing pregnancy rates (OPRs) after t-NC FET according to different definitions of the LH surge. Monitoring with repeated blood sampling and ultrasound analyses of 115 warmed blastocyst transfer cycles performed in t-NC during January 2017 – October 2021, were included. Our reference timing of follicular collapse +5 day would be equivalent to LH surge +6 day in only 5.2-41.2% of the cycles employing the six different definitions of the LH surge. In contrast, the reference timing was equivalent to LH surge +7 day in the majority of cycles (46.1-69.5%) and less commonly to LH surge +8 day (1.8-38.3%) and +9 day (0-10.4%). Importantly, for each different definition of the LH surge, the OPRs were comparable among the LH surge +6/+7/+8/+9 timings, reflecting the high degree of flexibility of the window of implantation.

Key words: LH surge, true natural cycle, ultrasound, ovulation, frozen embryo transfer

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 Dondurulmuş Embriyo Transferi	3
2.2 Doğal Siklus Fizyolojisi.....	4
2.3 İmplantasyon Penceresi.....	5
2.4 LH Artışının Tespiti	5
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	7
3.1 Hasta Seçimi.....	7
3.2 Gerçek Doğal Siklus Protokolü.....	7
3.3 Laboratuvar Prosedürleri.....	8
3.4 LH Artışının Tanımı.....	9
3.5 Sonuç ölçütleri	10
3.6 İstatistiksel Analiz.....	11
3.7 Etik Kurul Onayı.....	11
4. BULGULAR.....	12
4.1 LH Artışının Farklı Tanımlarına Göre Transfer Zamanlaması	13
4.2 Devam Eden Gebelik Oranları	14
5. TARTIŞMA	17
6. SONUÇ.....	21
7. KAYNAKLAR.....	22

KISALTMALAR

DS	:	Doğal Siklus
DET	:	Dondurulmuş Embriyo Transferi
E ₂	:	Estradiol
FSH	:	Folikül Stimüle Edici Hormon
G-DS	:	Gerçek Doğal Siklus
GHH	:	Gebeliğin Hipertansif Hastalıkları
hCG	:	İnsan Koryonik Gonadotropin
HRT	:	Hormon Replasman Tedavisi
KVH	:	Kardiyovasküler Hastalık
LFD	:	Luteal Faz Desteği
LH	:	Luteinizan Hormon
M-DS	:	Modifiye Doğal Siklus
OHSS	:	Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu
OO	:	Odds Oranı
P ₄	:	Progesteron
PGT-A:		Pre-implantasyon Genetik Test-Anöploidi Taraması
SD	:	Standart Deviasyon
VKİ	:	Vücut Kitle İndeksi
YÜT	:	Yardımcı Üreme Teknolojisi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Gerçek doğal siklus fizyolojisi ve DET uygulamaları için önemli noktalar.....	6
3.1. Hasta katılımını gösteren diyagram.....	8
3.2. Foliküler kollapstan önceki ardışık dört günde, geç foliküler faz LH ölçümü yapılan bir hastada LH artışının farklı tanımlarına göre blastokist transfer gününün illüstrasyonu.....	11
4.1. LH artışının yaygın olarak bilinen altı farklı tanımını kullanarak, LH artışına bağlı ısıtılmış blastokist transfer zamanlamasındaki farklılıkların devam eden gebelik oranları (n = 94) üzerindeki bağımsız etkisini değerlendirmek için lojistik regresyon analizi.....	16

TABLolar DİZİNİ

Tablo	Sayfa
4.1. Foliküler kollaps +5 gün sonra ısıtılmış blastokist transferi planlanan 115 hastanın temel demografik özellikleri ve gerçek doğal siklus özellikleri.....	12
4.2. Foliküler kollaps +5 gün sonra ısıtılmış blastokist transferi yapıldığında, LH artışının yaygın olarak bilinen altı farklı tanımı kullanılarak, transfer tarihinde ne sıklıkta ve ne ölçüde değişiklik olacağının değerlendirilmesi (n=115).....	13
4.3. Foliküler kollaps +5 gün sonra ısıtılmış blastokist transferi yapıldığında, LH artışının yaygın olarak bilinen altı farklı tanımı kullanımının, devam eden gebelik oranları üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi (n=94).....	14
4.4. Foliküler kollaps +5 gün sonra ısıtılmış blastokist transferi yapılan 94 hastanın ilk sikluslarında bulunan temel demografik ve gerçek doğal siklus özellikleri.....	15

1.GİRİŞ

Etkin ve güvenli embriyo vitrifikasyon tekniklerinin katkısıyla, son on yılda dondurulmuş embriyo transferi (DET) sikluslarında dünya çapında belirgin bir artış olmuştur (1, 2). Günümüzde, kanıt düzeyi düşük olmakla beraber, DET uygulamaları hormon replasman tedavisi (HRT) protokolü ile gerçekleştirildiğinde, doğal siklus (DS) ile endometriumu hazırlama protokolüne göre, canlı doğum oranlarının daha düşük olduğu bulunmuştur (3, 4). Ayrıca, DS'nin, HRT protokolüne göre daha olumlu maternal, obstetrik ve perinatal sonuçlar ile ilişkili olduğu görülmüştür (5-9). Bu nedenle, DS DET'in daha yaygın kullanımını savunan bir "doğala dönüş" yaklaşımı farklı yazarlar tarafından önerilmiştir (10, 11).

Ovülasyon günününün tam olarak belirlenmesi, üreme başarısını en üst düzeye çıkarmak için gerçek doğal siklus (g-DS) DET'inin zamanlaması açısından oldukça önemlidir. Genel uygulama, luteinizan hormon (LH) artışının saptanmasına dayanmaktadır ve ısıtılmış blastokist transferi LH artışı +6 gün olarak planlanmaktadır (4, 12). Ancak, LH artışının tanımı konusunda bir fikir birliği yoktur (13). Bazı klinisyenler, LH artışının başlangıcını kabul ederken, bazıları LH artışının pikini esas alır (14). Biz rutin olarak LH artışı yerine "direkt" olarak ovülasyonu saptayabileceğimiz ultrasonografiyi kullanmaktayız. Buna göre, transvajinal ultrasonografi ile foliküler kollapsı görerek, ısıtılmış blastokist transferini foliküler kollaps +5 gün olarak planlamaktayız. Doğal olarak, LH artışını tanımlamak için farklı kriterler kullanmak, g-DS DET zamanlamasında farklılıklara neden olabilir; bu da potansiyel olarak implantasyon penceresini ve dolayısıyla üreme başarısını etkileyebilir. Günümüzde, bu kapsamda sınırlı literatür verisi bulunmaktadır. Sadece üç retrospektif çalışmada, LH artışına göre farklı zamanlamalar kullanılarak yapılan g-DS ile ısıtılmış blastokist transferinin üreme sonuçları üzerindeki etkisi karşılaştırılmış; ancak bu çalışmalarda çelişkili sonuçlar bildirmiştir (14-16).

Bu çalışmada, mevcut literatürde yaygın olarak kullanılan farklı LH artış tanımlarının ısıtılmış blastokist transferi zamanlaması üzerindeki etkisini belirlemek için veri tabanımızdaki g-DS DET sikluslarını taradık. Buna ek olarak, LH artışının

farklı tanımlarına göre, g-DS DET sonrası devam eden gebelik oranlarını karşılaştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dondurulmuş Embriyo Transferi

Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri'nin 2019 Fertilite Kliniği Başarı Oranları Raporuna göre, her yıl Amerika Birleşik Devletleri'nde doğan tüm bebeklerin yaklaşık olarak %2'sinde yardımcı üreme teknolojisi (YÜT) kullanılmıştır (17). Uluslararası Yardımcı Üreme Teknolojilerini İzleme Komitesi yıllık dünya rapor serisi, DET sikluslarının 2010'dan 2014'e %67,5 arttığını rapor etmiştir (18). Vitrifikasyon tekniğinin gelişmesi, pre-implantasyon genetik test-anöploidi taraması (PGT-A), fertilitenin korunması ve embriyo havuzu sağlanması için artan eğilimler, DET siklus sayılarının artmasına katkıda bulunmuştur (4). Ayrıca, mevcut kanıtlar, ovaryan stimülasyona aşırı yanıt veren kadınlarda, elektif DET politikasının taze embriyo transfer döngülerine kıyasla, canlı doğum oranlarını arttırdığını ve ovaryan hiperstimülasyon sendromu (OHSS) riskini azalttığını göstermiştir (2).

Dondurulmuş embriyo transferinde endometriumu hazırlamak için ana protokoller, düzenli siklusu olan ovülatuar kadınlarda DS ve anovülatuar kadınlarda ekzojen estrojen ve ardından progesteron uygulamasıyla DS'yi taklit edebildiğimiz HRT sikluslarını içerir. Mevcut kanıtlar, HRT protokolünün artmış makrozomi riski, gestasyonel yaşa göre iri doğmuş bebekler, sezaryen doğum ve doğum sonrası kanama için artmış risk taşıdığını göstermektedir (6, 8, 19). Ayrıca, gebeliğin hipertansif hastalıkları (GHH), HRT DET sonrası gebeliklerde DS DET sonrası gebeliklere kıyasla daha sık görülür (6, 8). Göz ardı edilmemesi gereken önemli bir konu, GHH'ların hem annenin hem de bebeğin daha sonraki yaşamlarında, artmış kardiyovasküler hastalık (KVH) riski de dahil olmak üzere, uzun vadeli komplikasyonlarıdır (20). Ayrıca, GHH öyküsünün KVH gelişimi için önemli bir risk faktörü olduğu Amerikan Kalp Derneği tarafından kabul edilmektedir (21). Bütün bunlarla birlikte, GS DET'te HRT DET'e kıyasla aşağı olmayan üreme sonuçları rapor edilmiştir (22). Biriken veriler, gelecekte daha sık DS DET göreceğimizi göstermektedir.

Gerçek-DS'te (g-DS), DET zamanlaması, spontan ovülasyon gününün tam olarak belirlenmesine göredir. Modifiye-DS (m-DS) olarak adlandırılan bir diğer yöntemde, spontan ovülasyonu saptamak yerine, ovülasyon bolus insan koryonik gonadotropin (hCG) ile tetiklenmekte ve DET tarihi buna göre belirlenmektedir. Genel olarak, LH artışı +6 gün sonra g-DS DET, hCG uygulaması +7 gün sonra m-DS DET yapılmaktadır (4, 12). Bazı çalışmalarda g-DS ile daha iyi gebelik sonuçlarına ulaşıldığı belirtilmiş olmakla beraber (23-26), diğer bazı çalışmalarda m-DS ile arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (22, 27). Literatürdeki bu belirsizliği giderebilmek için, uygun sayıda örneklem ile randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.2. Doğal Siklus Fizyolojisi

Doğal siklus sırasında, dominant folikül kaynaklı estradiol (E_2) düzeyinin yükselerek minimum 50 saat boyunca 200-300 pg/mL'yi aşması, LH artışını tetikler (28). LH artışının başlamasından 12 saat önce serum progesteron (P_4) değerlerinde bir artış olduğu yaklaşık kırk yıl önce tanımlanmış olmasına rağmen (29), ovülasyon fizyolojisinde kritik bir rol oynadığı düşünülmemiştir. Bununla birlikte, LH artışından bağımsız serum P_4 'te 0,5 ng/mL'ye ulaşan ani bir artışın, LH artışının tetikleyicisi olabileceği yakın zamanda iddia edilmiştir (30).

Siklus ortasındaki LH artışı, ovülasyon, ilk mayotik bölünmenin yeniden başlaması ve mural granüloza hücrelerinin luteinizasyonu için olmazsa olmazdır. LH artışının başlangıcı ile ovülasyon arasındaki ortalama süre ~34 saattir (%95 GA= 30.79-37.03), ancak 22-56 saat arasında bir aralıkta gerçekleşebilir (13). Doğal siklusun ortasındaki folikül stimüle edici hormon (FSH) artışının rolü tam olarak açık olmasa da luteinizan granüloza hücrelerinde LH reseptörü oluşumunu sağladığı ve böylece luteal faz sırasında korpus luteumun işlevinin devam etmesinin yanı sıra nükleer olgunlaşma ve kümülüs genişlemesi için uygun koşulları hazırladığı gösterilmiştir (31-35). Dolaşımdaki orta luteal faz P_4 seviyesi ~10 ng/ml genellikle doğal siklusta ovülasyonu ve normal işleyen korpus luteumu yansıtır (36). Korpus luteumun ana ürünü olan P_4 , başarılı implantasyon ve erken gebeliğin sürdürülmesi için oldukça önemlidir.

2.3. İmplantasyon Penceresi

Embriyo implantasyonu, "yetenekli" bir blastokist ile reseptif bir endometrium arasındaki yakın etkileşimi içerir; bu olay "implantasyon penceresi" sırasında meydana gelir. Endometrium, ovülasyondan sonraki ilk 7 gün boyunca sekretuar fazın pre-reseptif evresinde olarak kabul edilir. Daha sonra, ovülasyondan 7-10 gün sonrasına denk gelen orta sekretuar fazda reseptif hale gelir ve sekretuar fazın geri kalan kısmı refrakter faz olarak kabul edilir (37). Gerçek-DS DET zamanlamasını doğru yapmak için, implantasyon penceresinin kesin zamanını ve dolayısıyla öncesindeki ovülasyon zamanını belirlemek esastır. Ovülasyon zamanlamasının belgelenmesi iki yöntemle dayanmaktadır; LH artışının tespiti ve ultrasonografi.

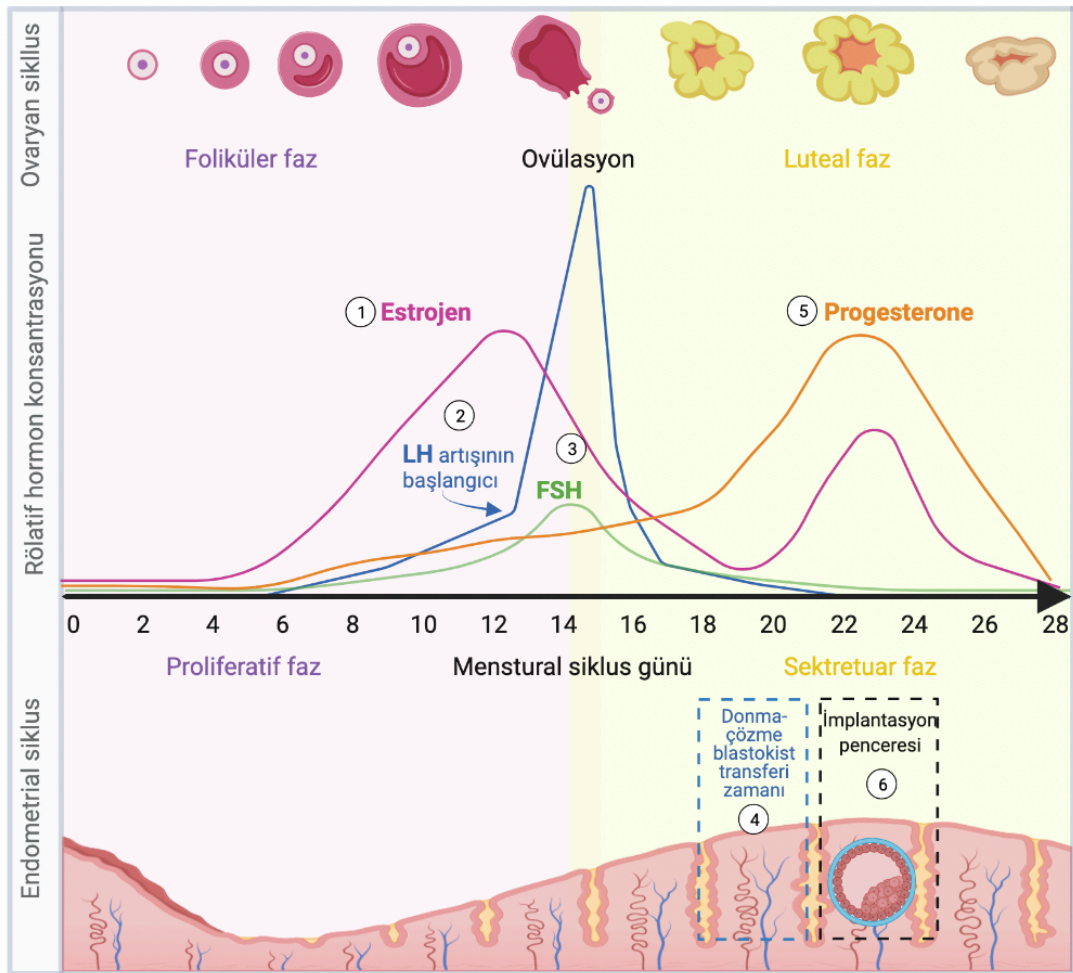
2.4. LH Artışının Tespiti

Klinik uygulamada, LH artışının hem başlangıcı hem de piki, LH artışı olarak kabul edilebilir. Ancak kadınların yaklaşık %25'inde ovülasyondan sonra LH piki saptanabilir (38). Yaklaşan ovülasyonu tahmin etmek için pikten ziyade LH artışının başlangıcı daha güvenilirdir (39). Bu nedenle, klinisyenler g-DS DET zamanlaması için LH artışının başlangıcına dayanmalıdır. Ayrıca, siklus başındaki LH düzeylerinin 90. persentilinin (örneğin, 10-15 IU/L) LH artış düzeylerinin 10. persentili ile (9.9 IU/L) arasında bir örtüşme olabilir, bu nedenle tek ölçüme göre keyfi eşik değer kullanmak güvenilir olmayabilir (40).

Pratik açıdan, idrarda LH artışını saptamak, serumda saptamaktan daha kolay ve hasta dostu bir uygulamadır. Ancak, LH'nin uzamış idrar klirensi nedeniyle serumdaki artışına kıyasla tespitinde gecikme olabileceği hesaba katılmalıdır (41). Üriner pik LH profilleri, her zaman, en az bir gün gecikmektedir (42) ve üç kadından ikisinde, karşılık gelen serum profillerine kıyasla idrardaki LH artışının başlangıcı 3-21 saat sonra ortaya çıkmaktadır (41). Bununla birlikte, daha yakın tarihli bir prospektif çalışmada, idrar ve serum LH testleri karşılaştırıldığında, idrar testi için kısa bir gecikmeyle birlikte, mükemmel yakın bir uyumluluk bulunmuştur (38). LH artışının olduğu gün 0. gün olduğu varsayıldığında, g-DS ile ısıtılmış blastokist transferi gerçekleştirmek için önerilen zaman, serum LH artışından 6 gün sonradır (4, 12). Ancak, g-DS ısıtılmış blastokist transferinde serum yerine idrar testi

kullanılacaksa potansiyel bir günlük gecikmenin olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Doğal siklus fizyolojisinin özeti ve DET uygulamaları için önemli noktalar Şekil 2.1’de verilmiştir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Gerçek doğal siklus fizyolojisi ve DET uygulamaları için önemli noktalar. **(1)** Doğal siklus sırasında, dominant folikülden salgılanan estrojen en az 50 saat boyunca 200-300 pg/mL'yi aşması, LH artışını tetikler (28). **(2)** Siklusun ortasındaki LH artışı, ovülasyon, ilk mayotik bölünmenin yeniden başlaması ve mural granüloza hücrelerinin luteinizasyonu için gereklidir. LH artışının başlangıcı ile ovülasyon arasındaki ortalama süre ~34 saattir (%95 GA= 30.79- 37.03), 22-56 saat arasında bir aralıkta gerçekleşebilir (13). **(3)** Siklus ortasındaki FSH artışının rolünün, luteinizan granüloza hücrelerinde LH reseptör oluşumunu sağladığı, böylece luteal faz sırasında korpus luteumun işlevinin devam etmesinin yanı sıra nükleer olgunlaşma ve kümülüs genişlemesini sağladığı gösterilmiştir (31-35). **(4)** Donma-çözme blastokist transferi, genel olarak, LH artışı +6 gün sonra yapılmaktadır. **(5)** Korpus luteumun ana ürünü olan P₄, başarılı implantasyon ve erken gebeliğin sürdürülmesi için çok önemlidir. Dolaşımdaki orta luteal faz P₄ seviyesi ~10 ng/ml genellikle doğal sıklusta ovülasyonu ve normal işleyen korpus luteumu yansıtır (36). **(6)** Devam eden başarılı gebeliklerin çoğunda, embriyo implantasyonu, ovülasyondan 8-10 gün sonra, yani siklusun 22-24. günlerinde olmuştur (43).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

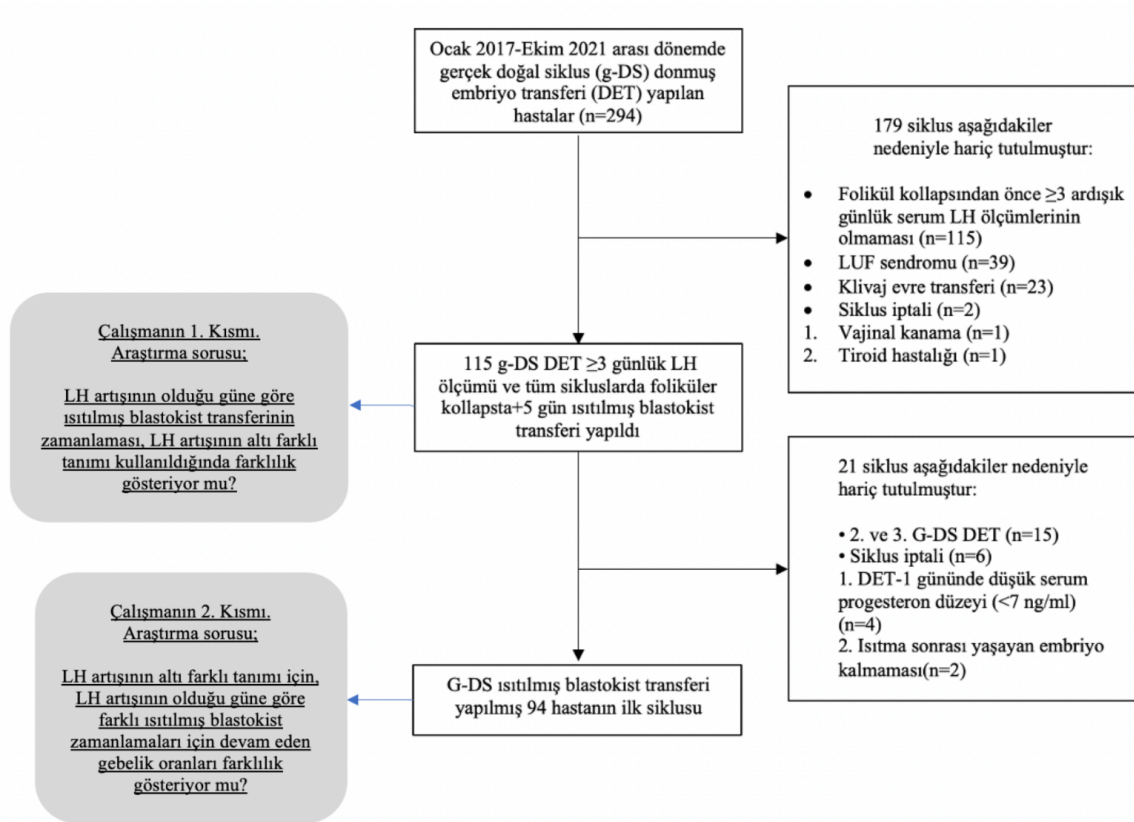
Katılımcıların düzenli sikluslarının olması ve sık aralıklarla endokrin ve ultrasonografik izlemine olanak verecek şekilde Ankara sınırları içinde yaşaması g-DS DET gerçekleştirebilmek için gerekli kriterlerdir. Ocak 2017- Ekim 2021 tarihleri arasında, Anatolia Tüp Bebek ve Kadın Sağlığı Merkezi'nde (Ankara, Türkiye) gerçekleştirilen ardışık g-DS DET'leri, transfer öncesi kan alınması ve ultrason ile monitörize edildi. Toplamda belirlenen 294 siklustan 179'u, aşağıda belirtilen nedenlerden dolayı çalışma haricinde tutuldu: 115'i folikül kollaps öncesinde ≥ 3 ardışık günlük serum LH ölçümlerinin olmaması nedeniyle, 39'u luteinize rüptüre olmayan folikül (LUF) sendromu, 23'ü klivaj evre transferi ve iki olgu da vajinal kanama ve tiroid hastalığının olması nedeniyle çalışma kapsamına alınmadı. Foliküler kollapsın ovülasyon gününü saptamak için kriter olması ve ısıtılmış blastokist transfer gününün belirlenmesinde rol oynaması nedeniyle, LUF siklusları çalışmaya dahil edilmedi. Farklı LH artışı tanımlarının ısıtılmış blastokist transferi zamanlaması üzerindeki etkisini belirlemek için sonuç olarak toplam 115 g-DS DET çalışmaya dahil edildi (Şekil 3.1).

Çalışmanın ikinci bölümünde, LH artışının farklı tanımlarına göre, g-DS ile yapılan ısıtılmış blastokist transferi sonrası devam eden gebelik oranlarını karşılaştırmak amacıyla çalışmanın ilk bölümündeki 21 siklus hariç tutularak 94 siklus analiz edildi. Spesifik olarak, her hasta yalnızca bir kez dahil edildiği için, 2. veya 3. g-DS DET'leri olan toplam 15 siklus çalışmadan çıkarıldı. Transferden bir gün önce düşük serum P₄ düzeyi (<7 ng/ml) nedeniyle siklus iptali (n=4) veya ısıtılmayı takiben, embriyo sağ kalımındaki başarısızlık (n=2) diğer dışlama nedenleriydi (Şekil 3.1).

3.2 Gerçek Doğal Siklus Protokolü

Siklusun 2. veya 3. gününde, önceki siklusa ait herhangi bir kist veya korpus luteum varlığını ekarte etmek için transvajinal ultrasonografi yapıldı. Persiste korpus luteum varlığında ve siklusun 2. veya 3. gününde ölçülen serum P₄>1.5 ng/ml olan sikluslar iptal edildi. Transvajinal ultrasonografi ile izlem, siklusun 8-10. günlerinde

başladı. Önde giden ortalama folikül çapı yaklaşık olarak 14-15 mm'ye ulaştığında, günlük transvajinal ultrasonografik izlemin yanı sıra, serum E₂, LH ve P₄ ölçümleri yapılarak günlük endokrin izlem başlatıldı. Günlük endokrin ve ultrasonografik takibin ardından, ovülasyon günü, folikülün tamamen kaybolması veya folikül duvarının kalınlaşmasıyla hacminin azalması şeklinde tanımlanan foliküler kollaps ile kesin olarak belgelendi (44). Tüm hastalarda ısıtılmış blastokist transferi zamanlaması foliküler kollaps +5 gün olarak planlandı. Dahil edilen sikluslarda, hCG tetikleyicisi veya luteal faz desteği (LPD) uygulanmadı.



Şekil 3.1. Hasta katılımını gösteren diyagram

3.3 Laboratuvar Prosedürleri

Ovaryan stimülasyonu, oosit olgunlaşmasının tetiklenmesi, oosit toplanması, embriyo kültürü, vitrifikasyon, ısıtma ve embriyo transferi, standart protokollerimize uygun şekilde, daha önce açıklandığı gibi uygulandı (45). Vitrifikasyon, her embriyonun gelişimine bağlı olarak 5. veya 6. günde gerçekleştirildi. Blastokistlerin morfolojik değerlendirilmesi Gardner evrelemesi ile yapıldı (46); sadece 3-6 A/B

blastokistler vitrifiye edildi. Blastokistler, dondurarak saklamadan önce morfolojik olarak dört gruba ayrıldı: mükemmel ($\geq 3AA$), iyi (3-6AB, 3-6BA, 1-2AA), orta (3-6BB, 3-6 AC, 3-6CA, 1-2AB, 1-2BA) ve kötü (1-6 BC, 1-6CB, 1-6CC, 1-2BB).

LH ölçümü için Elecsys LH immünolojik test (Roche Diagnostics International Ltd, Rotkreuz, İsviçre) uygulayan Cobas e 601 modülü kullanıldı. Testin alt saptama limiti ve ana eğrinin maksimumu için 0.100-200 IU/L'lik bir ölçüm aralığı kullanılmaktaydı. Tekrarlanabilirlik katsayısı %0,6-1,2 ve ara hassasiyet için varyasyon katsayısı 1.6-2.2 idi.

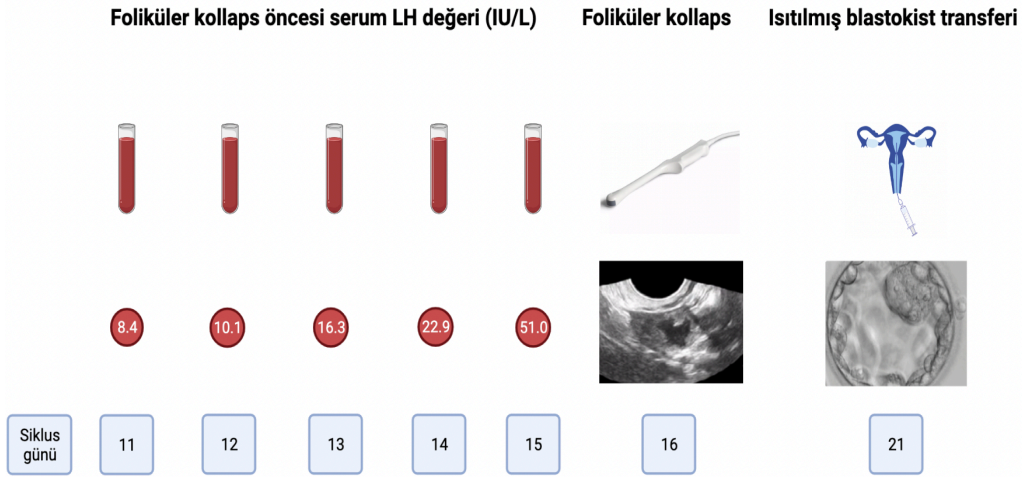
3.4 LH Artışının Tanımı

Bu çalışmada LH monitörizasyonu için serum örnekleme kullanıldığından, serumdaki LH artışı için en sık kullanılan altı tanım belirlenmiştir (14, 15, 44, 47-49). Bu tanımlardan bazıları, yazarların kendi verilerine dayalıydı (44, 49), diğerleri ise keyfi eşikler kullanılmaktaydı (14, 15, 47, 48). Ayrıca, bazı çalışmalarda, serum örnekleme sıklığıyla ilgili modifikasyonlar söz konusu idi (27, 50). Örneğin, Testart ve ark. tarafından tanımlanan LH artışının başlangıcına ilişkin tanım, literatürde en sık kullanılan kriterlerden biridir (49). Bu çalışmada, "LH artışının yakın olduğu düşünüldüğünde" günde dört kez serum LH örnekleme yapılmıştır. Yazarlar, LH artışının başlangıcını, önceki dört ölçüm için ortalama değer $\geq 180\%$ 'ine eşit veya bunu aşan herhangi bir LH düzeyi olarak tanımlamışlardır (örneğin, önceki dört değer LH ortalaması = 3,2 IU/L; LH artışının başlangıcı seviyesi = $1.8 \times 3.2 = 5.8$ IU/L). Bu serum örnekleme sıklığı günlük yaşamda pratik olmadığı için, diğer bazı araştırmacılar günde bir kez ölçüm yapılmasını önermiştir (27, 50).

Çalışmamızda analiz için, $LH \geq 10$ IU/L (47), $LH \geq 15$ IU/L (48), $LH \geq 17$ IU/L (14), $LH \geq 20$ IU/L (15), önceki LH değerlerinin ortalamasının $\geq 180\%$ 'i (49), önceki tüm değerlerin >2 katı daha yüksek LH değeri (44) olacak şekilde, mevcut literatürde en sık kullanılan LH artış kriterlerini kullanmayı amaçladık.

3.5 Sonuç ölçütleri

Çalışmanın ilk bölümü için sonuç ölçütü, foliküler kollaps +5 gün ile karşılaştırıldığında altı farklı LH artışı tanımını kullanarak, ısıtılmış blastokist transfer tarihinde ne sıklıkta ve ne ölçüde bir değişiklik olacağını değerlendirmektir. LH artışının her tanımı için, transfer tarihi LH artışının ilk günü 0. gün olarak kabul edilerek LH artışı +n gün olarak ifade edildi. LH artışına bağlı ısıtılmış blastokist transferinin zamanlamasını göstermek için Şekil 3.2'de bir olgu örneği verilmiştir. Bu olguda günde bir kez geç foliküler faz LH ölçümü 10,1 IU/L, 16,3 IU/L, 22,9 IU/L ve 51,0 IU/L olarak arka arkaya dört gün ölçülmüş, ertesi gün foliküler kollaps gerçekleşmiş ve bundan da +5 gün sonra ısıtılmış blastokist transferi yapılmıştır. Olguda, ≥ 10 IU/L LH artışı tanımı kullanılsaydı, LH artışı +9 gün sonra ısıtılmış blastokist transferi yapılacaktı (47). LH artış tanımı için ≥ 15 (48), ≥ 17 (14), ≥ 20 IU/L (15), önceki LH değerlerinin ortalamasının $\geq \%180$ 'i (49) ve önceki tüm değerlerden >2 kat daha yüksek LH değeri (44) şeklinde kriterler kullanıldığında, bu olguda, sırasıyla LH artışı +8, +7, +7, +7 ve +6 gün sonra ısıtılmış blastokist transferi uygulanmış olacaktı (Şekil 3.2).



Farklı LH artışı kriterlerine göre ısıtılmış blastokist transfer günü:

- Follicular kollaps +5 gün (Referans- bu çalışma)
- LH ≥ 10 IU/L +9 gün (Groenewoud ve ark. 2012)
- LH ≥ 15 IU/L +8 gün (Ursillo ve ark. 2021)
- LH ≥ 17 IU/L +7 gün (Irani ve ark. 2017)
- LH ≥ 20 IU/L +7 gün (Bartels ve ark. 2019)
- Önceki LH değerlerinin ortalamasının $\geq \%180$ 'i +7 gün (Testart ve ark. 1981)
- Önceki tüm değerlerden >2 kat daha yüksek LH değeri +6 gün (Wetzels ve Hoogland 1982)

Şekil 3.2. Foliküler kollapstan önceki ardışık dört günde, geç foliküler faz LH ölçümü yapılan bir hastada LH artışının farklı tanımlarına göre blastokist transfer gününün gösterimi.

3.6 İstatistiksel Analiz

Değişkenlerin dağılım özellikleri, histogramlar, kutu grafikleri ve Q-Q grafikleri kullanılarak görsel olarak değerlendirildi ve Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri ile analiz edildi. Normal dağılıma sahip sürekli değişkenler, ortalama \pm SD olarak ifade edilirken, normal dağılmayan değişkenler ortanca (minimum-maksimum) olarak ifade edildi. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ki-kare ve Fisher's exact testleri kullanıldı. İki'den fazla grubun kategorik değişkenlerini karşılaştırmak için ki kare test kullanıldı. LH'nin farklı tanımlarının bağımsız olarak devam eden gebeliği etkileyip etkilemediğini belirlemek için lojistik regresyon analizi yapıldı. Tüm istatistiksel analizler için SPSS 22.0 (IBM Corp., ABD) kullanıldı.

3.7 Etik Kurul Onayı

Bu çalışma için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 27.10.2021 tarihinde KA-21116 numarası ile onay alınmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmanın ilk bölümü için temel demografik ve siklus özellikleri Tablo 4.1'de verilmiştir. Dahil edilen 115 siklustan 26'sı (%23,6) tüm embriyoların dondurulduğu (freeze-all) ve 38'i (%34,9) PGT-A yapılan sikluslardır (Tablo 4.1). Foliküler kollaps öncesi ortalama foliküler faz uzunluğu 13,8 gün ve ortalama folikül çapı 19,8 mm idi (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Foliküler kollaps +5 gün sonra ısıtılmış blastokist transferi planlanan 115 hastanın temel demografik ve gerçek doğal siklus özellikleri.

Değişkenler	Hastalar
Kadın yaşı, yıl	35,0 ± 5,8
Erkek yaşı, yıl	37,4 ± 6,1
Kadın vücut kitle indeksi (kg/m ²)	23,3 ± 4,1
İnfertilite tipi n (%)	
Primer	89 (%77,4)
Sekonder	26 (%22,6)
İnfertilite süresi, ay	28 (2; 168)
Önceki IVF siklus sayısı	3 (2; 11)
Önceki doğum sayısı, n (%)	23 (%20)
Tüm embriyoları dondurulan hasta sayısı, n (%)	26 (%23,6)
PGT' yapılan hasta sayısı, n (%)	38 (%34,9)
G-DS monitörizasyonunun özellikleri	
Foliküler faz uzunluğu, gün	13,8 ± 2,6
Kollaps öncesi folikül çapı, mm	19,8 ± 2,0
Pik E ₂ seviyesi, pg/ml	346,7 ± 105,6
Pik LH seviyesi, IU/L	49,5 ± 19,1
Endometrial kalınlık, mm	10,5 ± 2,0
DET-1 gününde P ₄ seviyesi, ng/ml	16,5 ± 6,1
Transfer edilen embriyo sayısı	1 (1; 2)
Tek blastokist transferi yapılan siklus sayısı, n (%)	78 (%71,6)

Veriler ortalama ± standart deviasyon (SD) veya ortanca (minimum; maksimum) veya sayı (%) olarak sunulmuştur.

4.1. LH Artışının Farklı Tanımlarına Göre Transfer Zamanlaması

Rutin uyguladığımız ısıtılmış blastokist transfer zamanlama yöntemimiz yerine (foliküler kollaps + 5 gün), LH artışını tanımlamak için serum LH ≥ 10 IU/L kullanılmış olsaydı, ısıtılmış blastokist transfer zamanlaması 6 siklusta (%5,2) LH artışı + 6 gün, 53 siklusta (%46,1) LH artışı +7 gün ve 44 siklusta (%38,3) LH artışı +8 gün sonra olacaktı. On iki siklusta (%10,4) ise, LH artışı +9 gün sonra gerçekleştirilmiş olacaktı.

LH ≥ 15 IU/L olduğu varsayılan bir LH artışı tanımıyla, ısıtılmış blastokist transfer zamanlaması, 30 siklusta (%26,1) LH artışı +6 gün, 66 siklusta (%57,4) +7 gün ve 19 siklusta +8 gün (%16,5) olarak sınıflandırılırdı. LH ≥ 17 IU/L varsayılan bir LH artışı tanımıyla, ısıtılmış blastokist transfer zamanlaması, 33 siklusta (%28,7) LH artışı +6 gün; 75 siklusta (%65,2) LH artışı +7 gün ve 7 siklusta (%6,1) LH artışı +8 gün sonra olacaktı.

LH artışının geri kalan üç farklı tanımına göre ısıtılmış blastokist transfer zamanlamaları Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Foliküler kollaps +5 gün sonra ısıtılmış blastokist transferi yapıldığında, LH artışının yaygın olarak bilinen altı farklı tanımı kullanılarak, transfer tarihinde ne sıklıkta ve ne ölçüde değişiklik olacağını değerlendirilmesi (n=115).

LH artışı tanımı	LH+9 gün n/n (%)	LH+8 gün n/n (%)	LH+7 gün n/n (%)	LH+6 gün n/n (%)
LH ≥ 10 IU/L	12 (%10,4)	44 (%38,3)	53 (%46,1)	6 (%5,2)
LH ≥ 15 IU/L	-	19 (%16,5)	66 (%57,4)	30 (%26,1)
LH ≥ 17 IU/L	-	7 (%6,1)	75 (%65,2)	33 (%28,7)
LH ≥ 20 IU/L	-	6 (%5,3)	61 (%53,5)	47 (%41,2)
Önceki LH değerlerinin ortalamasının $\geq 180\%$ 'i	-	9 (%8)	80 (%69,5)	24 (%21,2)
Önceki tüm LH değerlerinden >2 kat daha yüksek değer	-	2 (%1,8)	76 (%67,9)	34 (%30,4)

4.2. Devam Eden Gebelik Oranları

LH artışının her tanımı için, devam eden gebelik oranları, LH artışıyla ilgili farklı DET zamanlamaları karşılaştırıldığında sonuçlar benzerdi (LH artışı +6/+7/+8/+9 gün) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Foliküler kollaps +5 gün sonra ısıtılmış blastokist transferi yapıldığında, LH artışının yaygın olarak bilinen altı farklı tanımı kullanımının, devam eden gebelik oranları üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi (n=94)

LH artışı tanımı	LH+9 gün n/n (%)	LH+8 gün n/n (%)	LH+7 gün n/n (%)	LH+6 gün n/n (%)	P- değeri
LH \geq 10 IU/L	8/11 (%72,7)	21/37 (%56,8)	20/41 (%48,8)	2/5 (%40)	0.12
LH \geq 15 IU/L	-	12/19 (%63,1)	27/50 (%54)	12/25 (%48)	0.28
LH \geq 17 IU/L	-	4/7 (57,1 %)	34/59 (%57,6)	12/27 (%44,4)	0.24
LH \geq 20 IU/L	-	3/6 (%50)	29/49 (%59,2)	18/38 (%47,4)	0.44
Önceki LH değerlerinin ortalamasının \geq 180%'i	-	6/8 (%75)	36/67 (%53,7)	8/17 (%47,1)	0.24
Önceki tüm LH değerlerinden >2 kat daha yüksek değer	-	1/1 (%100)	37/64 (%57,8)	11/26 (%42,3)	0.12

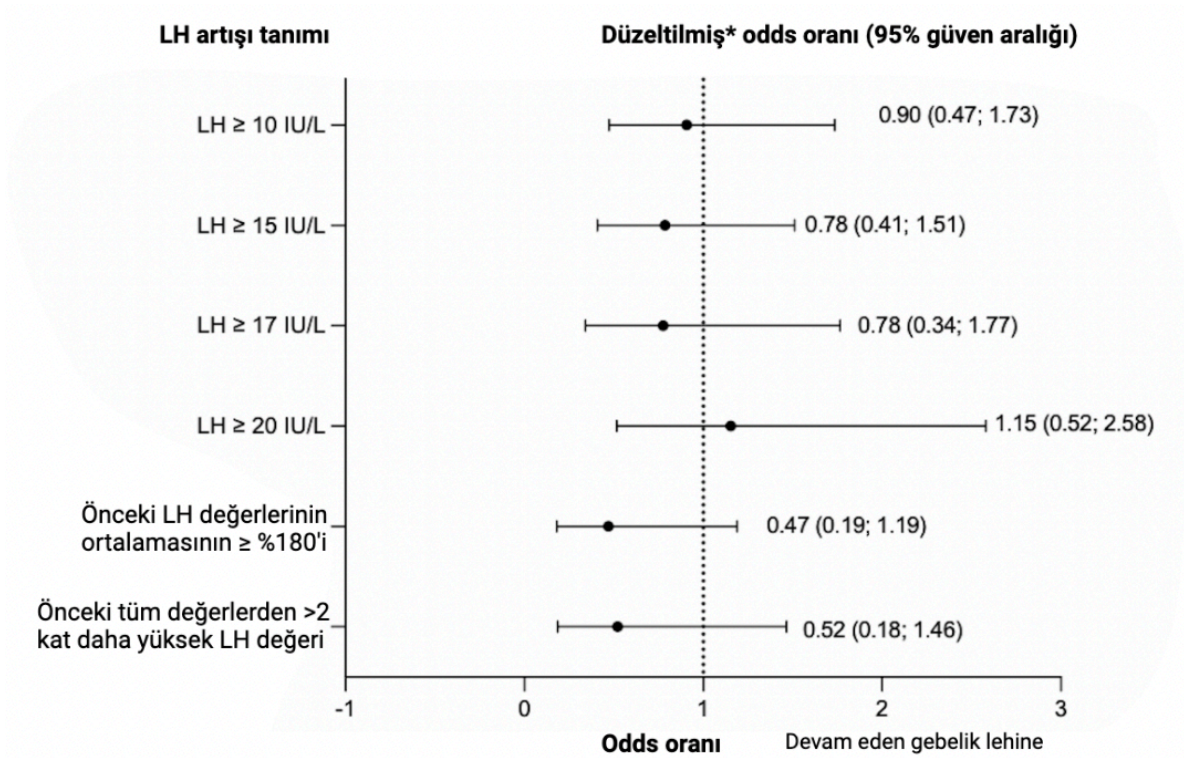
Çalışmanın ikinci kısmı için dahil edilen 94 hastanın demografik özellikleri Tablo 4.4'de sunulmuştur.

Tablo 4.4. Foliküler kollaps +5 gün sonra ısıtılmış blastokist transferi yapılan 94 hastanın ilk sikluslarında bulunan temel demografik ve gerçek doğal siklus özellikleri.

Değişkenler	Hastalar
Kadın yaşı, yıl	35,2 ± 5,3
Erkek yaşı, yıl	37,6 ± 5,9
Kadın vücut kitle indeksi (kg/m ²)	23,2 ± 3,6
İnfertilite tipi n (%)	
Primer	75 (79,8%)
Sekonder	19 (20,2%)
İnfertilite süresi, ay	31 (2; 168)
Önceki IVF siklus sayısı	3 (2; 11)
Önceki doğum sayısı, n (%)	16 (17%)
Vitrifikasyon günü (5/6), n (%)	82/12 (87,2%/12,8%)
Blastokist morfolojisi, n (%)	
Mükemmel	5 (5,3%)
İyi	41 (43,6%)
Orta	41 (43,6%)
Zayıf	7 (7,4%)
Tüm embriyoları dondurulan hasta sayısı, n (%)	22 (23,4%)
PGT' yapılan hasta sayısı, n (%)	36 (38,3%)
G-DS monitörizasyonunun özellikleri	
Foliküler faz uzunluğu, gün	13,8 ± 2,6
Kollaps öncesi folikül çapı, mm	20,0 ± 2,1
Pik E ₂ seviyesi, pg/ml	350,1 ± 103,0
Pik LH seviyesi, IU/L	48,8 ± 18,0
Endometrial kalınlık, mm	10,6 ± 2,1
DET-1 gününde P ₄ seviyesi, ng/ml	17,0 ± 6,0
Transfer edilen embriyo sayısı	1 (1; 2)
Tek blastokist transferi yapılan siklus sayısı, n (%)	69 (73,4%)

Veriler ortalama ± standart deviasyon (SD) veya ortanca (minimum; maksimum) veya sayı (%) olarak sunulmuştur.

LH artışının her tanımı için ısıtılmış blastokist transfer zamanlamasının (LH artışı +6/+7/+8/+9 gün) devam eden gebelik oranları üzerindeki bağımsız etkisini değerlendirmek için lojistik regresyon analizi yapıldı. Hasta yaşı, vücut kitle indeksi, önceki doğum sayısı, önceki tüp bebek denemesi sayısı, transfer edilen blastokist sayısı, vitrifikasyon günü, PGT ve blastokist morfolojisi modele ortak değişkenler olarak alındı. LH artışı + 6 gün referans alındığında, zamanlamadaki değişiklik, LH artışının herhangi bir tanımı için devam eden gebelik oranlarının bağımsız bir öngörücü olarak bulunmadı (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. LH artışının yaygın olarak bilinen altı farklı tanımını kullanarak, LH artışına bağlı ısıtılmış blastokist transfer zamanlamasındaki farklılıkların devam eden gebelik oranları (n = 94) üzerindeki bağımsız etkisini değerlendirmek için lojistik regresyon analizi.

*LH artışı için farklı tanımlarını kullanmanın DET sonrası devam eden gebelik oranlarında bağımsız bir etkisi olup olmadığını test etmek için, kadın yaşı, vücut kitle indeksi, önceki doğum, önceki tüp bebek denemelerinin sayısı, transfer edilen embriyoların sayısı, vitrifikasyon günü, PGT ve blastokist morfolojisinin ortak değişken olarak alındığı bir modele göre düzeltilmiştir.

5. TARTIŞMA

LH artışı gününün 0. gün olduğu kabul edildiğinde, LH artışı +6 gün, g-DS'te, ısıtılmış blastokist transfer zamanlaması için yaygın olarak kullanılmaktadır (4, 12). Yıllar içinde, farklı araştırmacılar, farklı çalışma tasarımlarıyla, serum veya idrar testleri yapılarak LH artışının farklı tanımları geliştirmiştir; ancak herhangi bir fikir birliğine varılmamıştır (13). LH artışının tanımlarındaki farklılıklar, g-DS DET zamanlamasını etkileyebileceği için çok önemlidir. Ayrıca, LH artışından +6 gün sonra ısıtılmış blastokist transferi yapılması, tüm vakalarda LH artışından bir gün sonra ovülasyonun gerçekleşeceği varsayımına dayanmaktadır. Bununla birlikte, LH artışının başlangıcı ile bunu takip eden ovülasyon arasındaki zaman aralığı 22-56 saat arasında değişmekte olup kişiler arasında belirgin varyasyonlar söz konusu olabilir (13). Bu nedenle, ovülasyon gününü tam olarak belirlemek için foliküler kollapsa güvenmeye ve dolayısıyla DET gününü buna göre planlamaya karar verdik. Foliküler kollaps için +5 gün olan referans transfer zamanlamamızın, LH artışının altı farklı tanımını kullanan siklusların yalnızca %5,2-%41,2'sinde LH artışı +6 güne denk geleceğini bulduk. Buna karşılık, referans zamanlamamızı, siklusların çoğunda (%46,1-%69,5) LH artışı +7 güne ve daha seyrek olarak +8 güne (%1,8-%38,3) ve +9 güne (%0- %10,4) denk olarak saptadık. Çalışmamızın önemli bir sonucu da LH artışının farklı her tanımı için, devam eden gebelik oranlarının LH artışı +6/+7/+8/+9 zamanlamalarına göre benzer olmasıydı, bu da implantasyon penceresinin yüksek derecede esnekliğini yansıtmaktadır.

LH artışı, ovülasyonun "indirekt" göstergesidir. Düzenli siklusları olan kadınların %3-4'ünde, her LH artışı, ovülasyonla sonuçlanmamakta ve LH artışı sonrası sikluslar, anovülatuar olabilmektedir (51, 52). Ayrıca, pozitif üriner LH artışlarını takiben uygulanan endometrial biyopsilerde, siklusların %7'sinde endometriumda sekretuar faz olmadığı bildirilmiştir (53). Bu nedenle, çalışmamızda, ısıtılmış blastokist transferini zamanlamak için LH artışı +6 gün yerine, foliküler kollaps +5 gün kullanılmıştır. Genel olarak, foliküler kollaps, ovülasyonun ultrasondaki en belirleyici işaretidir (54) ve folikülün tamamen kaybolması veya folikül hacminin azalarak duvarının kalınlaşması veya folikülün süngerimsi bir görünüm almasıyla kendini gösterir (44). Ancak, ovülasyonun ultrasonografik olarak

belgelenmesinin bazı dezavantajları vardır. İlk olarak, foliküler kollapsın ovülasyonu öngörmedeki duyarlılığı %84,3 ve özgüllüğü %89,2 olarak bildirilmiştir (55). İkincisi, bazı sikluslarda, foliküler rüptür yerine, LUF sendromu görülebilir ve bu durum, transfer tarihini tayin etmede zorluk yaratır. Bu nedenle, çalışmamızdan LUF siklusları çıkarılmıştır. Elimizdeki mevcut verilerin analizi, en yüksek üreme sonuçlarını elde etmek amacıyla, ovülasyon gününü ve DET zamanlamasını en iyi şekilde saptamak için hangi belirteçlerin, LH artışının ve/veya ovülasyona ait hangi ultrasonografik bulguların kullanılması gerektiğini belirlemek için prospektif randomize çalışmaların yapılması gerekliliğini göstermektedir.

Bildiğimiz kadarıyla, sadece üç retrospektif çalışmada, g-DS DET'in zamanlaması için farklı kriterlere göre üreme sonuçlarının karşılaştırılması yapılmıştır (14-16). Irani ve ark. tarafından yapılan çalışmada, LH artışının saptanmasından beş gün sonra 612 hastada (691 siklus) g-DS'de ısıtılmış blastokist transferi yapılmıştır ve LFD uygulanmamıştır (14). Bu 612 hastadan 365'inde (407 siklus) PGT-A uygulanmıştır. PGT-A yapılan ve PGT-A yapılmayan gruptaki hastalar hekim tercihinine göre ayrıca iki alt gruba ayrılmıştır. Söz konusu çalışmada, grup A, LH artışını, $LH \geq 17$ IU/L'ye ilk erişimi ve ertesi gün E_2 seviyelerinde $\geq \%30$ 'luk bir düşüşle tanımlandığı hastaları içermekte; grup B, LH seviyesinin yükselmeye devam ettiği hastaları içermektedir ve artış, E_2 seviyelerinde $\geq \%30$ 'luk bir düşüşe rağmen $LH \geq 17$ IU/L'den bir gün sonra meydana gelen en yüksek serum LH seviyesi olarak tanımlanmaktadır. PGT-A olmayan sikluslar arasında, grup A'nın, grup B ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha yüksek implantasyon oranları (%48,7'ye karşı %38,1; $p = 0.01$; düzeltilmiş OO: 1,6) ve canlı doğum oranlarına sahip olduğu saptanmıştır (%52,9'a karşı %40,1; $p = 0,01$; düzeltilmiş OO: 1,7). PGT-A siklusları arasında ise, grup A ve B'nin, benzer implantasyon oranlarına (sırasıyla %57,4'e karşı %63; $p=0,39$) ve canlı doğum oranlarına (sırasıyla %56,7'ye karşı %63,4; $p=0,37$) sahip olduğu belirlenmiştir. Yazarlar, PGT-A yapılmayan hastalarda, grup B'de grup A'ya göre daha düşük başarı oranının olmasını, endometriumun progesterona nispeten daha uzun süre maruz kalmasının neden olduğu embriyo-endometrium uyumsuzluğuna bağlanabileceğini öne sürmüşlerdir. Yazarlar ayrıca, PGT-A yapılan sikluslarda, iki grup arasında üreme sonuçları açısından bir fark olmamasının, biyopsi sırasında meydana gelen zona delinmesi nedeniyle, blastokistlerin daha erken

implantasyonundan kaynaklanabileceğini düşünmüşlerdir (56). Retrospektif çalışma tasarımı, günlük tek sefer LH değerlendirmesi ve küme analizinin olmaması bu çalışmanın önemli sınırlamaları arasında sayılabilir.

Başka bir retrospektif çalışmada, 341 siklusta, g-DS ısıtılmış blastokist transferinin zamanlamasının etkisi değerlendirilmiştir (15). Bu çalışmada, aynı klinikteki bazı hekimler, serum LH artış değeri olarak ≥ 20 IU/L kullanırken, diğerleri LH artışının pik değerini kullandığı için, DET zamanlaması bakımından hekimlerin uygulamasında farklılıklar söz konusuydu. Her siklus, serum LH ≥ 20 IU/L'ye ilk ulaşım olarak tanımlanan LH artışı göz önüne alınarak DET zamanlamasına göre aşağıdaki gibi sınıflandırılmıştır: grup 1 (n=211; %61,9), LH ≥ 20 IU/L bir gün sürüp altı gün sonra DET yapılanlar; grup 2 (n=60; %17,6), LH ≥ 20 IU/L art arda iki gün süren, LH artışından altı gün sonra DET uygulananlar; grup 3 (n=70; %20,5), arka arkaya iki gün süren LH ≥ 20 IU/L, LH artışından yedi gün sonra DET uygulanan hastalar. Hastalara, doktorunun tercihine bağlı olarak, vajinal progesteron veya daha seyrek olarak intramüsküler progesteron olmak üzere LFD uygulanmıştır. Yazarlar, üç grubun implantasyon, klinik ve devam eden gebelik oranlarının benzer olduğunu raporlamıştır. Grup 1 ve 2 birleştirilip, grup 3 ile karşılaştırıldığında (DET zamanlaması LH artışından altı veya yedi gün sonra), devam eden gebelik oranları yine benzer bulunmuştur (%66,4 ve %62,9). 20 IU/L'lik bir LH eşik değerin keyfi seçilmiş olması nedeniyle, diğer çeşitli eşikler incelenmiş; LH artışından altı veya yedi gün sonra transfer edildiğinde, 15, 16, 17, 18, 19, 20 ve 25 IU/L'lik LH artış kriterleriyle ilgili olarak benzer devam eden gebelik oranları elde edilmiştir. Yazarlar, LH artışından sonra g-DS'te ısıtılmış blastokist transferinin zamanlamasının, sonuçların LH artışından sonraki altıncı ve yedinci gün embriyo transferlerinde benzer derecede iyi olması nedeniyle 24 saatlik esneklik süresi olabileceği sonucuna varmışlardır. Söz konusu çalışmanın sınırlamaları, çalışma tasarımının retrospektif olması, bazı hastalarda LH ≥ 20 IU/L'den bir gün sonraki serum hormon ölçümlerinin olmaması ve LH artışının sadece günde bir kez değerlendirilmiş olmasıdır.

Konuyla ilgili olarak 2080 siklusu kapsayan yakın tarihli bir retrospektif çalışmada, idrarda LH artışı tespit edildikten 5, 6 veya 7 gün sonra gerçekleştirilen vitrifiye-ısıtılmış blastokist transferinin üreme sonuçları karşılaştırılmıştır (16). Söz

konusu çalışmada, önden giden folikül çapı ortalama 15 mm'ye ulaştığında, sabah idrarında LH analizi yapılmaya başlatılmıştır. Isıtılmış blastokist transferi, en sık olarak idrarda LH artışından 6 gün sonra (1610 siklus, %77,4) uygulanmış olmakla beraber, yoğun günlerdeki veya hafta sonlarındaki iş yükünü azaltmak için bazı olgularda, LH artışından 5 (380 siklus, %18,3) veya 7 (90 siklus, %4,3) gün sonraya da planlanmıştır. Blastokist transferinden hemen sonra mikronize vajinal progesteron 400 mg/gün olarak LFD verilmiştir. İdrarda LH artışının saptanmasından 5, 6 ve 7 gün sonra gerçekleştirilen vitrifiye-ısıtılmış blastokist transferlerinin klinik gebelik, düşük, implantasyon ve doğum oranlarının tümünde benzer olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmanın sınırlamaları, çalışma dizaynının retrospektif olması ve bir hasta için birden fazla siklusun dahil edilmesini hesaba katan küme analizinin olmamasıdır.

Yukarıdaki paragraflarda özetlediğimiz üç retrospektif çalışma ile bizim çalışmamız arasında çeşitli farklılıklar vardır. Luteal faz desteği Bartels ve ark. (15) ve Lovrec ve ark. (16) çalışmalarında uygulanmış ancak çalışmamızda uygulanmamıştır. Lovrec ve ark. çalışmasında serum yerine idrarda LH testi yapılmıştır (16). Irani ve ark. çalışmasında, tüm hastalarda LH artışından 5 gün sonra ısıtılmış blastokist transferi yapılmış olmasına rağmen, aynı klinikte bile farklı doktorlar tarafından farklı LH artış tanımları kullanılmıştır (14). Bu farklı uygulamalara rağmen ve Bartels ve ark. (15) ve Lovrec ve ark. (16) tarafından yapılan çalışmalarla uyumlu olarak, bizim çalışmamızda kullandığımız altı farklı LH artışı tanımı için, LH artışıyla ilgili çeşitli zaman alt grupları arasında devam eden gebelik oranlarının benzer olduğunu belirledik.

Çalışmamızın bir sınırlaması, LH artışına bağlı, ısıtılmış blastokist transfer zamanlamasının hastalar arasında randomize edilememesi ve rutin politikamızı (foliküler kollaps +5 gün) buna uyarlamamızdır. Diğer sınırlamalar, LH'nin günde tek sefer ölçülmesi, LUF sikluslarının hariç tutulması ve özellikle çalışmanın ikinci kısmı için transfer günü ile ilgili üreme sonuçlarının araştırıldığı örneklem boyutunun nispeten küçük olmasıdır.

6. SONUÇ

Foliküler kollaps +5 gün sonra ısıtılmış blastokist transferi gerçekleştirme politikası ile DET zamanlamasının, LH artışı için altı farklı tanım kullanarak, g-DS'ların önemli bir kısmında LH artışı +7/+8 hatta +9 günlerinde benzer olduğu sonucuna vardık. İlginç bir şekilde, LH artışıyla ilgili DET zamanlamasındaki bu farklılıklar, üremeye ilişkin benzer sonuçlar vermekte ve implantasyon penceresinin 1-3 günlük esnekliğini yansıtmaktadır. Son olarak, implantasyon penceresini genişletmek ve güvenilir kılmak için hangi serum P₄ seviyelerinin ve P₄ maruziyet süresinin gerektiğini belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. De Geyter C, Wyns C, Calhaz-Jorge C, de Mouzon J, Ferraretti AP, Kupka M, et al. 20 years of the European IVF-monitoring Consortium registry: what have we learned? A comparison with registries from two other regions. *Hum Reprod.* 2020;35(12):2832-49.
2. Roque M, Haahr T, Geber S, Esteves SC, Humaidan P. Fresh versus elective frozen embryo transfer in IVF/ICSI cycles: a systematic review and meta-analysis of reproductive outcomes. *Hum Reprod Update.* 2019;25(1):2-14.
3. Wu H, Zhou P, Lin X, Wang S, Zhang S. Endometrial preparation for frozen-thawed embryo transfer cycles: a systematic review and network meta-analysis. *J Assist Reprod Genet.* 2021.
4. Mumusoglu S, Polat M, Ozbek IY, Bozdag G, Papanikolaou EG, Esteves SC, et al. Preparation of the Endometrium for Frozen Embryo Transfer: A Systematic Review. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:688237.
5. Makhijani R, Bartels C, Godiwala P, Bartolucci A, Nulsen J, Grow D, et al. Maternal and perinatal outcomes in programmed versus natural vitrified-warmed blastocyst transfer cycles. *Reprod Biomed Online.* 2020;41(2):300-8.
6. Hu KL, Zhang D, Li R. Endometrium preparation and perinatal outcomes in women undergoing single-blastocyst transfer in frozen cycles. *Fertil Steril.* 2021;115(6):1487-94.
7. Ginström Ernstad E, Wennerholm UB, Khatibi A, Petzold M, Bergh C. Neonatal and maternal outcome after frozen embryo transfer: Increased risks in programmed cycles. *Am J Obstet Gynecol.* 2019;221(2):126.e1-.e18.
8. Asserhøj LL, Spangmose AL, Aaris Henningsen AK, Clausen TD, Ziebe S, Jensen RB, et al. Adverse obstetric and perinatal outcomes in 1,136 singleton pregnancies conceived after programmed frozen embryo transfer (FET) compared with natural cycle FET. *Fertil Steril.* 2021;115(4):947-56.
9. Litzky JF, Boulet SL, Esfandiari N, Zhang Y, Kissin DM, Theiler RN, et al. Effect of frozen/thawed embryo transfer on birthweight, macrosomia, and low birthweight rates in US singleton infants. *Am J Obstet Gynecol.* 2018;218(4):433.e1-.e10.
10. Roque M, Bedoschi G, Cecchino GN, Esteves SC. Fresh versus frozen blastocyst transfer. *Lancet.* 2019;394(10205):1227-8.
11. Lawrenz B, Coughlan C, Melado L, Fatemi HM. The ART of frozen embryo transfer: back to nature! *Gynecol Endocrinol.* 2020;36(6):479-83.
12. Mackens S, Santos-Ribeiro S, van de Vijver A, Racca A, Van Landuyt L, Tournaye H, et al. Frozen embryo transfer: a review on the optimal endometrial preparation and timing. *Hum Reprod.* 2017;32(11):2234-42.
13. Erden M, Mumusoglu S, Polat M, Yarali Ozbek I, Esteves SC, Humaidan P, et al. The LH surge and ovulation re-visited: a systematic review and meta-analysis and implications for true natural cycle frozen thawed embryo transfer. *Human Reproduction Update.* 2022.
14. Irani M, Robles A, Gunnala V, Reichman D, Rosenwaks Z. Optimal parameters for determining the LH surge in natural cycle frozen-thawed embryo transfers. *J Ovarian Res.* 2017;10(1):70.

15. Bartels CB, Ditrio L, Grow DR, O'Sullivan DM, Benadiva CA, Engmann L, et al. The window is wide: flexible timing for vitrified-warmed embryo transfer in natural cycles. *Reprod Biomed Online*. 2019;39(2):241-8.
16. Lovrec VG, Kozar N, Reljic M. Clinical outcome of vitrified-warmed blastocyst transfer performed on days 5, 6, and 7 after the luteinizing hormone surge detection using urine tests: A retrospective cohort study with propensity score matching. *Reproductive BioMedicine Online*. 2021.
17. CDC CfDCaP. ART Success Rates. Assisted Reproductive Technology (ART). 2019.
18. Chambers GM, Dyer S, Zegers-Hochschild F, de Mouzon J, Ishihara O, Banker M, et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies world report: assisted reproductive technology, 2014†. *Hum Reprod*. 2021;36(11):2921-34.
19. Rosalik K, Carson S, Pilgrim J, Luizzi J, Levy G, Heitmann R, et al. Effects of different frozen embryo transfer regimens on abnormalities of fetal weight: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2021;28(1):1-14.
20. von Versen-Höynck F, Conrad KP, Baker VL. Which protocol for frozen-thawed embryo transfer is associated with the best outcomes for the mother and baby? *Fertil Steril*. 2021;115(4):886-7.
21. Mosca L, Benjamin EJ, Berra K, Bezanson JL, Dolor RJ, Lloyd-Jones DM, et al. Effectiveness-based guidelines for the prevention of cardiovascular disease in women--2011 update: a guideline from the American Heart Association. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(12):1404-23.
22. Wu H, Zhou P, Lin X, Wang S, Zhang S. Endometrial preparation for frozen-thawed embryo transfer cycles: a systematic review and network meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*. 2021;38(8):1913-26.
23. Fatemi HM, Kyrou D, Bourgain C, Van den Abbeel E, Griesinger G, Devroey P. Cryopreserved-thawed human embryo transfer: spontaneous natural cycle is superior to human chorionic gonadotropin-induced natural cycle. *Fertil Steril*. 2010;94(6):2054-8.
24. Gao DD, Li L, Zhang Y, Wang XX, Song JY, Sun ZG. Is Human Chorionic Gonadotropin Trigger Beneficial for Natural Cycle Frozen-Thawed Embryo Transfer? *Front Med (Lausanne)*. 2021;8:691428.
25. Litwicka K, Mencacci C, Arrivi C, Varricchio MT, Caragia A, Minasi MG, et al. HCG administration after endogenous LH rise negatively influences pregnancy rate in modified natural cycle for frozen-thawed euploid blastocyst transfer: a pilot study. *J Assist Reprod Genet*. 2018;35(3):449-55.
26. Montagut M, Santos-Ribeiro S, De Vos M, Polyzos NP, Drakopoulos P, Mackens S, et al. Frozen-thawed embryo transfers in natural cycles with spontaneous or induced ovulation: the search for the best protocol continues. *Hum Reprod*. 2016;31(12):2803-10.
27. Mackens S, Stubbe A, Santos-Ribeiro S, Van Landuyt L, Racca A, Roelens C, et al. To trigger or not to trigger ovulation in a natural cycle for frozen embryo transfer: a randomized controlled trial. *Hum Reprod*. 2020;35(5):1073-81.
28. Young JR, Jaffe RB. Strength-duration characteristics of estrogen effects on gonadotropin response to gonadotropin-releasing hormone in women. II. Effects of varying concentrations of estradiol. *J Clin Endocrinol Metab*. 1976;42(3):432-42.

29. Hoff JD, Quigley ME, Yen SS. Hormonal dynamics at midcycle: a reevaluation. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983;57(4):792-6.
30. Dozortsev DI, Diamond MP. Luteinizing hormone-independent rise of progesterone as the physiological trigger of the ovulatory gonadotropins surge in the human. *Fertil Steril.* 2020;114(2):191-9.
31. Strickland S, Beers WH. Studies on the role of plasminogen activator in ovulation. In vitro response of granulosa cells to gonadotropins, cyclic nucleotides, and prostaglandins. *J Biol Chem.* 1976;251(18):5694-702.
32. Eppig JJ. FSH stimulates hyaluronic acid synthesis by oocyte-cumulus cell complexes from mouse preovulatory follicles. *Nature.* 1979;281(5731):483-4.
33. Zelinski-Wooten MB, Hutchison JS, Hess DL, Wolf DP, Stouffer RL. Follicle stimulating hormone alone supports follicle growth and oocyte development in gonadotrophin-releasing hormone antagonist-treated monkeys. *Hum Reprod.* 1995;10(7):1658-66.
34. Yding Andersen C, Leonardsen L, Ulloa-Aguirre A, Barrios-De-Tomasi J, Moore L, Byskov AG. FSH-induced resumption of meiosis in mouse oocytes: effect of different isoforms. *Mol Hum Reprod.* 1999;5(8):726-31.
35. Yding Andersen C. Effect of FSH and its different isoforms on maturation of oocytes from pre-ovulatory follicles. *Reprod Biomed Online.* 2002;5(3):232-9.
36. Hull MG, Savage PE, Bromham DR, Ismail AA, Morris AF. The value of a single serum progesterone measurement in the midluteal phase as a criterion of a potentially fertile cycle ("ovulation") derived from treated and untreated conception cycles. *Fertil Steril.* 1982;37(3):355-60.
37. Wang H, Dey SK. Roadmap to embryo implantation: clues from mouse models. *Nat Rev Genet.* 2006;7(3):185-99.
38. Roos J, Johnson S, Weddell S, Godehardt E, Schiffner J, Freundl G, et al. Monitoring the menstrual cycle: Comparison of urinary and serum reproductive hormones referenced to true ovulation. *Eur J Contracept Reprod Health Care.* 2015;20(6):438-50.
39. Ecochard R, Boehringer H, Rabilloud M, Marret H. Chronological aspects of ultrasonic, hormonal, and other indirect indices of ovulation. *Bjog.* 2001;108(8):822-9.
40. Johnson S, Weddell S, Godbert S, Freundl G, Roos J, Gnoth C. Development of the first urinary reproductive hormone ranges referenced to independently determined ovulation day. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53(7):1099-108.
41. Frydman R, Testart J, Feinstein MC, Roger M. Interrelationship of plasma and urinary luteinizing hormone preovulatory surge. *J Steroid Biochem.* 1984;20(2):617-9.
42. Roger M, Grenier J, Houlbert C, Castanier M, Feinstein MC, Scholler R. Rapid radioimmunoassays of plasma LH and estradiol-17 beta for the prediction of ovulation. *J Steroid Biochem.* 1980;12:403-10.
43. Wilcox AJ, Baird DD, Weinberg CR. Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy. *N Engl J Med.* 1999;340(23):1796-9.
44. Wetzels LC, Hoogland HJ. Relation between ultrasonographic evidence of ovulation and hormonal parameters: luteinizing hormone surge and initial progesterone rise. *Fertil Steril.* 1982;37(3):336-41.
45. Mumusoglu S, Yarali I, Bozdog G, Ozdemir P, Polat M, Sokmensuer LK, et al. Time-lapse morphokinetic assessment has low to moderate ability to predict

euploidy when patient- and ovarian stimulation-related factors are taken into account with the use of clustered data analysis. *Fertil Steril*. 2017;107(2):413-21.e4.

46. Gardner DK, Schoolcraft WB. Culture and transfer of human blastocysts. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 1999;11(3):307-11.
47. Groenewoud ER, Macklon NS, Cohlen BJ. Cryo-thawed embryo transfer: natural versus artificial cycle. A non-inferiority trial. (ANTARCTICA trial). *BMC Womens Health*. 2012;12:27.
48. Ursillo L, Peyser A, Abittan B, Mullin C. A NOVEL APPROACH TO NATURAL FROZEN EMBRYO TRANSFERS (FET). *Fertility and Sterility*. 2021;116(3, Supplement):e145.
49. Testart J, Frydman R, Feinstein MC, Thebault A, Roger M, Scholler R. Interpretation of plasma luteinizing hormone assay for the collection of mature oocytes from women: definition of a luteinizing hormone surge-initiating rise. *Fertil Steril*. 1981;36(1):50-4.
50. Lee VCY, Li RHW, Yeung WSB, Pak Chung HO, Ng EHY. A randomized double-blinded controlled trial of hCG as luteal phase support in natural cycle frozen embryo transfer. *Hum Reprod*. 2017;32(5):1130-7.
51. Guermandi E, Vegetti W, Bianchi MM, Uglietti A, Ragni G, Crosignani P. Reliability of ovulation tests in infertile women. *Obstet Gynecol*. 2001;97(1):92-6.
52. Park SJ, Goldsmith LT, Skurnick JH, Wojtczuk A, Weiss G. Characteristics of the urinary luteinizing hormone surge in young ovulatory women. *Fertil Steril*. 2007;88(3):684-90.
53. McGovern PG, Myers ER, Silva S, Coutifaris C, Carson SA, Legro RS, et al. Absence of secretory endometrium after false-positive home urine luteinizing hormone testing. *Fertil Steril*. 2004;82(5):1273-7.
54. Marinho AO, Sallam HN, Goessens LK, Collins WP, Rodeck CH, Campbell S. Real time pelvic ultrasonography during the periovulatory period of patients attending an artificial insemination clinic. *Fertil Steril*. 1982;37(5):633-8.
55. Ecochard R, Marret H, Rabilloud M, Bradaï R, Boehringer H, Giroto S, et al. Sensitivity and specificity of ultrasound indices of ovulation in spontaneous cycles. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2000;91(1):59-64.
56. Liu HC, Cohen J, Alikani M, Noyes N, Rosenwaks Z. Assisted hatching facilitates earlier implantation. *Fertil Steril*. 1993;60(5):871-5.

