

DOI: 10.38136/jgon.927219

Ovulasyon Tetikleme Günü Yüksek Progesteron Değerinin, Gelişen Embriyo Üzerine Etkisi: Kromozomal Perspektif**Effects of Elevated Progesterone Levels on the Day of Ovulation Trigger upon the Developing Embryo: the Chromosomal Perspective**Güvenç KARLIKAYA¹Kübra BOYNUKALIN¹Zalihe YARKINER²Lale Susan KARAKIŞ¹Mustafa BAHÇECİ¹

ORCID ID:0000-0002-0366-1037

ORCID ID:0000-0002-4721-2786

ORCID ID:0000-0002-4766-6454

ORCID ID:0000-0003-1870-5415

ORCID ID:0000-0002-5626-3251

¹ Bahçeci Fulya Tüp Bebek Merkezi, İstanbul, Türkiye² KKTC İlim Üniversitesi, İstatistik Departmanı, Girne, KKTC**ÖZ****Amaç:** Kontrollü ovaryan hiperstimulasyon sikluslarında ovulasyon tetikleme günü yüksek progesteron düzeylerinin, gelişen embriyonun kromozom yapısı üzerine etkilerini araştırmak.**Gereçler ve Yöntem:** Bu retrospektif çalışmada Bahçeci Fulya Tüp Bebek Merkezinde Ocak 2016 ve Ağustos 2019 tarihleri arasında tedavi gören 288 olgunun 288 ICSI-PGT-A siklusu değerlendirilmiştir.**Bulgular:** Ovulasyon tetiklenmesi günü P4 değerlerine göre olgular 3 gruba ayrılmıştır. Grup A, <0,8 ng/ml, Grup B 0,8 – 1,5 ng/ml, Grup C, >1,5 ng/ml. Öploidi oranı Grup A'da %60,5 iken Grup B ve C de bu oran sırasıyla %61,4 ve %61,6 olarak belirlenmiş ve gruplar arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (p=0.952).**Sonuç:** Bu çalışmanın sonucunda ovulasyon tetikleme günü farklı progesteron düzeylerinin öploidi embryo oranlarına etkisinin bulunmadığı sonucuna varılmıştır.**Anahtar sözcükler:** Progesteron, Embriyo, Öploidi**ABSTRACT****Aim:** To investigate the effects of elevated progesterone levels on trigger day in controlled ovarian hyperstimulation treatments upon the developing embryos' ploidy status.**Materials and Method:** In this retrospective study, 288 ICSI-PGT-A cycles of 288 patients who underwent infertility treatment at the Bahçeci Fulya IVF Center between January 2016 and August 2019 were analyzed.**Results:** The patients were grouped into three categories according to their progesterone levels on the ovulation trigger day: Group A, <0,8 ng/ml, Group B 0,8 – 1,5 ng/ml, Group C, >1,5 ng/ml. Euploidy rates were 60,5% in Group A, 61,4% in Group B and 61,6% in Group C. No statistically significant difference was observed among the groups (p=0.952).**Conclusion:** Our study shows that elevated progesterone levels on the trigger day have no effect on embryo ploidy.**Keywords:** Progesterone, Embryo, Euploidy**GİRİŞ**

Kontrollü ovaryan hiperstimulasyon (KOH) sikluslarında, gonadotropin-releasing hormon agonistlerinin (GnRH-a) veya antagonistlerinin (GnRH-ant) kullanılmaya başlanmasından sonra erken LH pik insidansı dramatik olarak azalmış, %2'lerin altına inmiştir (1). Tedavilerdeki bu dramatik gelişmeye rağmen, siklusların %6-30'unda, geç foliküler faz progesteron (P4) yüksekliği, LH piki olmaksızın görülebilmekte ve GnRH-a veya GnRH-ant kullanımına rağmen elimine edilememektedir (2). Bununla beraber, kandaki P4 seviyelerinin ölçüm metodolojisindeki değişkenlikler ve P4'ün normal üst sınırının tanımlanmasındaki farklılıklar nedeniyle klinisyenler

arasında görüş farklılıkları bulunmaktadır. Genellikle, ovulasyon tetiklenmesi günü ölçülen P4 değerinin 1,5 ng/ml veya üzerinde olması yüksek P4 değeri olarak tanımlanmakla beraber, normal değer aralığını 0,8 ila 2,0 ng/ml veya üstü alan birçok çalışma bulunmaktadır (3). 2015 yılında 60.000 üzerindeki hasta grubunu kapsayan bir meta-analiz sonucuna göre, özellikle taze embriyo transferinin planlandığı sikluslarda, ovulasyon tetiklenmesi günü ölçülen yüksek P4 değerlerinin gebelik oranlarını negatif etkilediği gösterilmiştir (4).

P4 yüksekliğinin in-vitro fertilizasyon (IVF) sonuçlarını hangi mekanizmalarla etkilediği birçok çalışmada detaylı olarak irdelenmiştir (5,6,7). Bu konuda en çok kabul gören görüş,

Sorumlu Yazar/ Corresponding Author:

Güvenç Karlıkaya

Adres: Teşvikiye Mah. Hakkı Yeten Cad. No:11, Kat:3, Terrace Fulya Center, Şişli, İstanbul, Türkiye

E-mail: gkarlikaya@bahceci.com

Başvuru tarihi : 09.05.2021

Kabul tarihi : 11.09.2021

geç foliküler fazda yükselen P4 düzeylerinin embriyo-endometrium senkronizasyonunu bozduğu ve bu şekilde implantasyon şansının azaldığıdır. P4 yüksekliğinin endometrial reseptiviteyi birçok farklı mekanizma ile etkilediği gösterilmiştir. 2011 yılında, Labarta ve ark.'larının, yaptığı fonksiyonel genomik analizler, aynı şekilde, Li ve ark.'larının yayınladığı mikro-array çalışmaları, endometriumdaki implantasyon ile ilgili genlerin ovulasyon tetikleme günü yüksek P4 seviyeleri olan olgularda, P4 seviyeleri normal düzeylerde olan olgulara göre farklı expresse edildiğini göstermiştir (8,9). Bunun yanında, yüksek P4 düzeylerinin, endometriumun implantasyon zamanlamasını etkileyen histolojik değişiklikler yarattığı, epigenetik faktörlerde modifikasyonlara yol açtığı ve immun-intolerans oluşturduğu gösterilmiştir (10,11).

P4 yüksekliğinin IVF sonuçlarına olumsuz etkilerinin, muhtemel endometrial reseptivite değişiklikleri üzerinden olduğunu gösteren birçok çalışma olmasına rağmen, bu durumun oosit ve/veya embriyo kalitesini etkileyip etkilemediği konusundaki bilgilerimiz sınırlıdır. P4 seviyesinin yüksek olduğu olgularda, klasik IVF ile inseminasyon sonrası fertilizasyon oranlarının ve yüksek kalite blastokist elde etme oranlarının düşük olduğu bildirilmiştir (12,13,14). Aynı şekilde, kümülatif canlı doğum oranlarının da olumsuz etkilendiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (15,16). Buna karşılık, GnRH-a baskılanmış sikluslarda ovulasyon tetikleme günü yüksek P4 değerlerinin gebelik oranlarını olumsuz etkilemesine rağmen oosit ve embriyo kalitesini etkilemediği, oosit donasyon programlarında da gebelik oranlarını etkilemediği bildirilmiştir (17,18). Bu konuda 2020 yılında merkezimizden yayınlanan bir çalışmada da ovulasyon tetikleme günü yüksek P4 değerlerinin, fertilizasyon oranlarını ve yüksek kalite blastokist gelişimini etkilemediği gösterilmiştir (19).

Öploid embriyo seçimine olanak sağlayan Preimplantasyon Genetik Tanı (PGT-A) işlemlerinin implantasyon başarısını artırdığı, abortus oranlarını azalttığı ve canlı doğum oranlarını artırdığını gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur (20,21). Ancak, literatürde ovulasyon tetikleme günü yüksek P4 değerlerinin gelişen embriyonun kromozomal yapısını etkileyip etkilemediği konusunda yapılan çalışmalar çok kısıtlıdır (22,23). Bu çalışmanın amacı, ovulasyon tetikleme günü farklı P4 değerlerinin öploid embriyo oranlarına etkisini araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma dizaynı ve hasta seçimi

Bu retrospektif çalışmada Bahçeci Fulya Tüp Bebek Merke-

zinde Ocak 2016 ve Ağustos 2019 tarihleri arasında yapılan ICSI-PGT-A siklusları değerlendirilmiştir. Çalışma, Bahçeci Fulya Tüp Bebek Merkezi etik komitesince 16 Mart 2021 tarihinde onaylanmıştır (referans no: 66). PGT-A, blastokist aşamasındaki embriyolardan biyopsi ile alınmış trofektoderm örneklerinde next generation sequencing (NGS) teknolojisi uygulanarak değerlendirilmiştir. Çalışmaya dahil edilme kriterleri arasında kadın yaşı <35, GnRH-ant kısa protokol uygulanan olgular, ovulasyon tetikleme günü serum P4 değerlerine ulaşabilen olgular yer almaktadır. Dışlama kriterleri, şiddetli erkek faktörü (sperm konsantrasyon<1x10⁶) ile sayısal ve/veya yapısal kromozomal anomali saptanan olgular olarak belirlenmiştir.

Hasta grupları

Ovulasyon tetikleme günü P4 değerlerine göre olgular 3 gruba ayrılmıştır: Grup A, <0,8 ng/ml; Grup B 0,8 – 1,5 ng/ml; Grup C, >1,5 ng/ml. Bu gruplama literatürdeki diğer benzer çalışmalar örnek alınarak belirlenmiştir (3,4,14).

KOH protokolü

Stimülasyona menstruasyonun 2. yada 3. Günü başlanmıştır. Uygulanacak gonadotropin dozu; transvaginal ultrason ile değerlendirilen antral folikül sayısı, vücut kütle indeksi ve olgunun yaşı göz önüne alınarak 150 – 450 IU aralığında belirlenmiştir. GnRH-ant enjeksiyonuna, önde giden folikül boyutu 13 mm'ye ulaştığında ya da serum estradiol (E2) düzeyi> 250 pg/ml olduğunda başlanmış ve ovulasyon tetikleme gününe kadar devam edilmiştir. Kan örnekleri, elektro-kemikal-iluminans immunoassay (Cobas Elecsys Progesterone III, Roche diagnostic GmbH, Germany) yöntemi kullanılarak test edilmiş ve ölçülen duyarlılık 0,03µg/L, hatalı ölçüm oranı <%7 olarak belirtilmiştir. KOH, transvaginal ultrason takibi, serum E2 ve P4 düzeyleri ile monitorize edilmiştir. Kullanılan gonadotropin düzeyleri, yukarıdaki parametreler kullanılarak yeniden yapılandırılmıştır. Ovulasyon tetiklemesi, önde giden en az

2 folikül >18 mm ulaştığında, rekombinant HCG 0,25 mg veya triptorelin 0,2 mg ile gerçekleştirilmiştir.

Oosit toplanması, denudasyon, ICSI, embriyo morfolojik değerlendirme ve trofektoderm biyopsisi

Oosit toplama işlemi ovulasyon tetikleme enjeksiyonundan 34 – 36 saat sonra, sedasyon altında ve ultrason eşliğinde transvaginal yolla yapılmıştır. Toplanan kumulus oosit kompleksleri (KOK), 50 mikrolitrelik modifiye human tubal medyum (mHTF, Irvine Scientific, CA, USA) ve %10 sentetik serum substitute (SSS) (Irvine Scientific, CA, USA) dropletlerine alınarak, ısı ve nemi ayarlanmış laminar flow kabin içerisindeki mini inküba-

törlere yerleştirilmiştir. İşlem tamamlandıktan sonra, KOK'leri, 37 santigrad derecede,

%6 CO₂ ve %5 O₂ şartlarında denudasyona kadar 2 saat boyunca inkübe edilmiştir. Granuloza hücrelerinin enzimatik olarak uzaklaştırılması, kimyasal hyaluronidaz enzimi (Irvine Scientific, CA, USA) kullanılarak yapılmıştır.

Sperm örnekleri koloidal silika jel gradient (Puresperm, Nidacoon, İsveç) kullanılarak işleme alınmış ve sonrasında pellet sperm yıkama medyumunu (Irvine Scientific, CA, USA) ile 2 kez yıkanmıştır. ICSI işlemi, HEPES içeren mHTF medyumunu içerisindedir. oosit denudasyonundan 1 saat sonra mikromanuplasyon kullanılarak gerçekleştirilmiştir. ICSI sonrası oositler, single step mediuma (Continuous Single Culture complete with human serum albumin, Irvine Scientific, CA, USA) alınmış ve bench-top inkübatörlerde (MIRI, ESCO medical, Singapore) kültüre edilmiştir. Fertilizasyon, ICSI işleminden 16-18 saat sonra değerlendirilmiş, 2 pronukleus ve 2 polar cisimcik içeren oositlerin normal şekilde fertilize olduğu kabul edilmiştir.

Embriyo gelişiminin 3. Gününde, embriyolarda, lazer atımı uygulanarak (Octox, NaviLase, İsveç) zonada 20 mikrometrelik delik açılmış ve yardımla herniasyona olanak sağlanmıştır.

Blastokist morfolojik değerlendirmesi, ICSI işleminden 114 ve 138 saat (beşinci ve/veya altıncı gün) sonra Gardner klasifikasyonu kullanılarak yapılmıştır (24). Buna göre, grade 5 (herniated) blastokistlerden Zhao ve ark. tanımladığı yöntem uygulanarak trofektoderm hücreleri alınmıştır (25). Her işlemde ortalama 5-8 trofektoderm hücresi alınmış ve alınan örnekler, PGT-A işlemine kadar, PCR tüplerinde -20 santigrad derecede saklanmıştır.

PGT-A ve NGS

Bu çalışmada NGS platformu (Reproseq PGS Kit, Life tech./ Thermo Fisher, USA) kullanılmış olup, başka çalışmalarda onaylanmış, işlemler başka bir çalışmamızda detaylı şekilde anlatılmıştır (26,27,28)

Ana Sonuç Parametreleri

Bu çalışmada, ana sonuç ölçüğü olarak, ovulasyon tetikleme günü P4 düzeylerine göre gruplanan olgularda, elde edilen blastokistlerde, euploidi oranları değerlendirilmiştir.

İstatistiksel Analiz

Veriler, Statistical Package for the Social Sciences for Windows 22.0 software (SPSS, Chicago, IL., USA) kullanılarak analiz edilmiştir. Ovulasyon tetikleme günü serum P4 düzeylerine göre kategorize edilen olgu grupları hasta özellikleri ve yukarıdaki veriler açısından istatistiksel olarak değerlendirilir.

Kategorik değişkenler, vaka sayısı veya yüzde olarak ve sürekli değişkenler, ortalama ve standart sapma veya medyan ve çeyrek aralık olarak sunulmuştur. Sürekli verilerin, normal dağılıma uyması durumunda t-testi, anormal dağılım durumlarında parametrik olmayan testler kullanılmıştır. Kategorik veriler, ki-kare testi kullanılarak analiz edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık eşiği (p) 0,05 olarak kabul edilmiştir. Embriyoların öploid olma olasılıklarını etkileyen faktörleri değerlendirebilme amacıyla generalize lineer mixed model (GLMM) kullanılarak multivaryant analize tabi tutulmuş ve bağımsız değişkenler belirlenmiştir.

BULGULAR

Bu çalışmada, materyal metod kısmında belirlenen kriterlere uyumluluk gösteren 288 olguya uygulanan 288 tedavi siklusu sonucu elde edilen toplam 918 embriyo değerlendirilmiştir. Grup A 180 olgunun 180 siklusundan elde edilen 489 embriyo, Grup B 78 olgunun 78 siklusundan elde edilen 257 embriyo, Grup C 30 olgunun 30 siklusundan elde edilen 172 embriyo içermektedir. Tablo I, grupları demografik özelliklerine göre karşılaştırmaktadır. Karşılaştırılan gruplar arasında; kadın yaşı, erkek yaşı, vücut kitle indeksi (VKİ), antral folikül sayısı (AFS), önceki canlı doğum sayısı, önceki gebelik kayıpları, önceki başarısız IVF denemeleri ve infertilite süresi açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır.

Tablo I: Demografik özellikler

| | Grup A (n=180) | Grup B (n=78) | Grup C (n=30) | p-değeri |
|---|------------------------|---------------------|------------------------|----------|
| Kadın yaşı (ortanca Q1-Q3) | 32 (30-34) | 32 (30-34) | 33 (28.75-34) | 0,066 |
| Erkek yaşı (ortanca Q1-Q3) | 35 (32-38) | 36 (32-38) | 34.50 (31-37.25) | 0,231 |
| VKİ (ortanca Q1-Q3) | 23.83 (21.25-26.33) | 22.50 (20.40-25) | 22.60 (19.96-26.04) | 0,381 |
| Önceki canlı doğum sayısı (ortanca Q1-Q3) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0,92 |
| Önceki gebelik kaybı sayısı (ortanca Q1-Q3) | 0 (0-1) | 0 (0-2) | 0 (0-1) | 0,853 |
| Önceki başarısız IVF deneme sayı (ortanca Q1-Q3) | 3 (2-4) | 3 (2-4) | 3 (2-4) | 0,734 |
| İnfertilite süresi (ortanca Q1-Q3) | 4 (3-7) | 5 (3-9) | 4 (3-9) | 0,306 |

VKİ: Vücut kitle indeksi

Tablo II'de, olguların siklus ve embriyoloji parametreleri karşılaştırılmıştır. Kullanılan toplam gonadotropin dozu, toplanan oosit sayısı, Metafaz II oosit sayısı, normal fertilize olan oosit sayısı veya sperm konsantrasyonları açısından gruplar arasında farklılık gözlenmemiştir. Grup A'da öploid oranı %60.5 (296/489) iken, Grup B ve C'de bu oran sırasıyla %61.4 (158/257) ve %61.6 (106/172) olarak belirlenmiş ve gruplar arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir (p=0.952).

Tablo II: Siklus ve embriyoloji parametreleri

| | Grup A (n=180) | Grup B (n=78) | Grup C (n=30) | p-değeri |
|--|------------------------|------------------------|-------------------------------|--------------|
| Total gonadotropin dozu (ortanca Q1-Q3) | 2025 (1650-2625) | 2100 (1668.75-2700) | 2287.50 (1828.125-2943.75) | 0,163 |
| Toplanan oosit sayısı (ortanca Q1-Q3) | 11 (7-19) | 13 (9.75-21) | 13 (8.75-22) | 0,356 |
| Toplanan MII sayısı (ortanca Q1-Q3) | 9 (5-15) | 10 (7.75-17.25) | 10.50 (5-17) | 0,844 |
| 2PN sayısı (ortanca Q1-Q3) | 7 (4-12) | 8 (5-14) | 8.50 (3-15) | 0,69 |
| Sperm konsantrasyonu (x10⁶/ml) (ortanca Q1-Q3) | 20 (3-47.50) | 17.50 (0.925-38) | 25 (1.375-45.50) | 0,729 |
| Maturasyon oranı (MII/toplanan oosit) (ortanca Q1-Q3) | 84.41 (70.36-95.40) | 84.52 (71.43-91.67) | 78.17 (68.75-89.39) | 0,558 |
| Fertilizasyon oranı (2PN/MI) (ortanca Q1-Q3) | 80 (72.73-95.42) | 80 (68.83-92.45) | 80.91 (66.67-94.53) | 0,948 |
| Blastokist sayısı (ortanca Q1-Q3) | 3 (1-5) | 3 (2-5.25) | 3.50 (1.75-6) | 0,692 |
| Analiz edilen blastokist sayısı (ortanca Q1-Q3) | 3 (1-4) | 3 (2-5) | 3 (1.75-4) | 1 |
| Blastokist/2PN total (ortanca Q1-Q3) | 50 (33.33-66.67) | 40 (25.99-62.06) | 42.22 (33.33-57.86) | 0,376 |
| Trofektoderm Skor | | | | |
| A+B (%) | 430/489 (87.9) | 226/257(87.9) | 152/172 (88.5) | 0,771 |
| C (%) | 59/489 (12.1) | 31/257 (12.1) | 20/172 (11.5) | |
| ICM Skor | | | | |
| A+B (%) | 174/489 (35.6) | 83/257 (32.3) | 58/172(33.7) | 0,676 |
| C (%) | 315/489 (64.4) | 174/257 (67.7) | 114/172 (66.3) | |
| Öploid oranı | | | | |
| öploid blastokist/analiz edilen blastokist (hasta başına ortanca değer) | 64.67 (33.33-100) | 62.67 (36.46-100) | 63.33 (45.83-100) | 0,879 |
| Öploid oranı öploid blastokist/analiz edilen blastokist (%) | 296/489 (60.5) | 158/257 (61.4) | 106/172 (61.6) | 0.952 |

Yapılan multivaryant analizinde embriyolarda öploid olasılığını etkileyebilecek faktörler Tablo III'de değerlendirilmiştir. Bu analizde kadın yaşı, erkek yaşı, daha önceki başarısız IVF denemesi sayısı, daha önceki düşük sayısı, toplam gonadotropin dozu, tetikleme günü P4 düzeyi, tetikleme günü kanda estrodiol düzeyi, embriyo biyopsi günü, trofektoderm skoru ve ICM skoru değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonrası öploid embriyo elde etme olasılığını etkileyen herhangi bağımsız bir değişkene ulaşılamamıştır. Tetikleme günü P4 düzeyleri 3 grupta kategorik olarak değerlendirilmiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Grup C referans olarak alınmıştır ve Grup A için $p=0,643$ OR:1,121 %95 CI: 0,691-1,821, Grup B için $p=0,788$ OR: 1,074 %95 CI: 0,640-1,801 olarak belirlenmiştir.)

Tablo III: GLMM ile yapılan multivaryant analizde embriyolarda öploid olasılığını etkileyen faktörler

| PARAMETER | COEFFICIENT | STD. ERROR | 95% WALD CONFIDENCE INTERVAL | | HYPOTHESIS TEST | | | ODDS RATIO (OR) | 95% WALD CONFIDENCE INTERVAL FOR OR | |
|-----------------------------|----------------|-------------|------------------------------|--------|-----------------|----|---------|-----------------|-------------------------------------|-------|
| | | | Lower | Upper | Wald Chi-Square | df | p-value | | Lower | Upper |
| (INTERCEPT) | -0,386 | 0,8740 | -2,099 | 1,327 | 0,195 | 1 | 0,659 | 0,680 | 0,123 | 3,771 |
| [DONDURMA_GÜNÜ=5. GÜN] | -0,121 | 0,1653 | -0,445 | 0,203 | 0,537 | 1 | 0,464 | 0,886 | 0,641 | 1,225 |
| [DONDURMA_GÜNÜ=6. GÜN] | 0 _a | | | | | | | 1 | | |
| [ICM=A + B] | -0,161 | 0,2378 | -0,627 | 0,305 | 0,459 | 1 | 0,498 | 0,851 | 0,534 | 1,357 |
| [ICM=C] | 0 _a | | | | | | | 1 | | |
| [TE=A + B] | -0,903 | 0,1602 | -1,218 | -0,589 | 31,789 | 1 | 0,000 | 0,405 | 0,296 | 0,555 |
| [TE=C] | 0 _a | | | | | | | 1 | | |
| [GRUP=A] | 0,115 | 0,2474 | -0,370 | 0,600 | 0,215 | 1 | 0,643 | 1,121 | 0,691 | 1,821 |
| [GRUP=B] | 0,071 | 0,2641 | -0,447 | 0,589 | 0,072 | 1 | 0,788 | 1,074 | 0,640 | 1,801 |
| [GRUP=C] | 0 _a | | | | | | | 1 | | |
| YAŞ | -0,021 | 0,0292 | -0,079 | 0,036 | 0,542 | 1 | 0,462 | 0,979 | 0,924 | 1,036 |
| EŞ YAŞI | 0,021 | 0,0184 | -0,015 | 0,057 | 1,276 | 1 | 0,259 | 1,021 | 0,985 | 1,058 |
| YIKAMA SONRASI SPERM SAYISI | -0,001 | 0,0028 | -0,006 | 0,005 | 0,079 | 1 | 0,779 | 0,999 | 0,994 | 1,005 |
| TOPLAM İLAÇ DOZU | 9,470E-05 | ##### ## | ##### ## | 0,000 | 1,203 | 1 | 0,273 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |
| TOPLAM DENEME SAYISI | 0,062 | 0,0393 | -0,015 | 0,139 | 2,501 | 1 | 0,114 | 1,064 | 0,985 | 1,150 |
| TRİGGER GÜNÜ E2 DEĞERİ | -0,011 | 0,0282 | -0,066 | 0,044 | 0,152 | 1 | 0,697 | 0,989 | 0,936 | 1,045 |

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamız, ovulasyon tetikleme günü ölçülen farklı progesteron değerlerinin embriyolardaki öploid oranları ile bir korelasyon göstermediğini, yüksek P4 değerlerinin anöploid oranlarını artırmadığını göstermiştir. Bu çalışma, geç foliküler fazda P4 yüksekliği olan olgularda taze embriyo transferi sonrası gebelik oranlarındaki olumsuz yansımanın, embriyo kalitesinden ziyade endometrial reseptivite kaynaklı olabileceği hipotezini destekler niteliktedir. Daha önce bu hipotezi destekleyen ve embriyo kalitesini farklı perspektiflerden inceleyen birçok araştırmanın yanı sıra, embriyonun kromozomal yapısı açısından irdeleyen tek çalışma da benzer sonuçlar vermiştir (22).

Başarılı bir implantasyon ve gebeliğin olması için iki ana faktör, kaliteli bir embriyo ve reseptif bir endometriumdur. HCG günü yüksek P4 değerleri olan olgularda, implantasyon ve gebelik oranlarını hangi faktörün daha belirgin olarak etkilediğini irdeleyen çalışmalar, daha çok endometriumu işaret etmektedir. Örneğin, oosit donasyon sikluslarında donörün HCG günü progesteron seviyelerinin yüksek olması, oosit kullanıcısının gebelik oranlarını etkilemiyor gibi gözükmektedir (18,29,30,31). Ovulasyon tetikleme günü yüksek P4 düzeylerinin oosit ve embriyo kalitesi üzerine etkileri tartışılan bir konudur. Geçmiş yıllarda bu konuda yayınlanan çalışmalar, oosit ve embriyo kalitesinin yüksek P4 değerlerinden etkilenmediğini göstermesine rağmen, son yıllarda bu konu tekrar gündeme gelmiş ve P4 yüksekliğinin oosit ve gelişen embriyonun kalitesi üzerine olumsuz etkileri olabileceği öne sürülmüştür (13,14,16,32,33). Ancak bu çalışmalar irdelendiğinde, özellikle, Racca ve ark.'larının yayınladığı çalışmada embriyo kalitesi kümülatif gebelikler üzerinden dolaylı olarak değerlendirilmiş ve yüksek P4 seviyeli olgulardaki gebelik oranlarının düşüklüğü, dolaylı olarak embriyo kalitesine bağlanmıştır (16). Ancak bu çalışmada embriyo kalitesi, embriyo morfolojisi veya öploid oranları gibi direk embriyo implantasyonunu etkileyen faktörler üzerinden değerlendirilmemiştir (16). Aynı grubun yakın zamanlarda donör sikluslarında yapmış olduğu bir diğer çalışmada ise, yüksek P4 değerlerinin, embriyoların üçüncü gün ve beşinci gün gelişimlerine ve morfolojik özelliklerine bir etkisi olmadığını göstermiştir (34). Bilindiği gibi normal kromozomlu tek embriyo transferi IVF tedavilerinde altın standart olarak kabul edilmekte, ve bu embriyoların sağlıklı gebelik oluşturabilme potansiyelinin yüksek olduğu belirtilmektedir (35). Çalışmamızda, embriyonun implantasyon potansiyelini belirleyen önemli bir parametre olan "öploid" olma durumu değerlendirilmiş, bu durumun yüksek P4

değerlerinden etkilenmediği gösterilmiştir. Literatürde bu konuyu irdeleyen çalışma sayısı oldukça azdır. Çalışmamızın güçlü yanı, değerlendirmenin genç ve homojen hasta gruplarında yapılmış olması ve embriyolarda öploid oranlarını etkilemesi beklenen bütün parametrelerin, GLMM multivaryant analizi ile değerlendirilmiş olmasıdır. Yapılan benzer bir çalışmada ise, heterojen hasta grupları kullanılmış ve multivaryant analizi kullanılmadan yüksek P4 değerlerinin "öploid" durumunu etkilemediği sonucuna varılmıştır (22). Aynı şekilde çalışmamızda, öploid embriyo oranlarına hem hasta, hem de embriyo başına değerlendirme yapılmıştır. Benzer başka bir çalışmada ise, gruplar arasında öploid embriyo oranları yerine, elde edilen öploid embriyo sayıları karşılaştırılmıştır. Çalışmanın zayıf yanı ise, retrospektif karakteridir. Bu durum, önemi belirlenememiş bazı değişkenlerin gözden kaçmasına neden olabilir.

Sonuç olarak çalışmamızda, kontrollü ovaryan hiperstimulasyon tedavilerinde ovulasyon tetikleme günü ölçülen yüksek P4 düzeylerinin öploid embriyo oranlarına etkisi olmadığı gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

- 1 - Felberbaum R, Diedrich K. Ovarian stimulation for in-vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection with gonadotrophins and gonadotrophin-releasing hormone analogues: agonists and antagonists. Hum Reprod. 1999 Sep;14 Suppl 1:207-21- Bosch E, Labarta E, Crespo J, Simón C, Remohí J, Jenkins J, Pellicer A. Circulating progesterone levels and ongoing pregnancy rates in controlled ovarian stimulation cycles for in vitro fertilization: analysis of over 4000 cycles. Hum Reprod. 2010 Aug;25(8):2092-100.
- 2 - Simon C, Branet L, Moreau J, Gatimel , Cohade C, Lesourd F, Parinaud J, Leandri R. Association between progesterone to number of mature oocytes index and live birth in GnRH antagonist protocols. Reprod Biomed Online. 2019 Jun;38(6):901-907.
- 3 - Venetis CA, Kolibianakis EM, Bosdou JK, Tarlatzis BC. Progesterone elevation and probability of pregnancy after IVF: a systematic review and meta-analysis of over 60 000 cycles. Hum Reprod Update. 2013 Sep-Oct;19(5):433-57.
- 4 - Papanikolaou EG, Kolibianakis EM, Pozzobon C, Tank P, Tournaye H, Bourgain C, Van Steirteghem A, Devroey P Progesterone rise on the day of human chorionic gonadotropin administration impairs pregnancy outcome in day 3 single-embriyo transfer, while has no effect on day 5 single blasto-

cyst transfer. *Fertil Steril.* 2009 Mar;91(3):949-52.

5 - Venetis CA(1), Kolibianakis EM, Papanikolaou E, Bontis J, Devroey P, Tarlatzis BC. Is progesterone elevation on the day of human chorionic gonadotrophin administration associated with the probability of pregnancy in in vitro fertilization? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2007 Jul-Aug;13(4):343-55.

6 - Kolibianakis EM(1), Venetis CA, Bontis J, Tarlatzis BC. Significantly lower pregnancy rates in the presence of progesterone elevation in patients treated with GnRH antagonists and gonadotrophins: a systematic review and meta-analysis. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012 Mar; 13(3):464-70.

7 - Labarta E, Martínez-Conejero JA, Alamá P, Horcujadas JA, Pellicer A, Simón C, Bosch E. Endometrial receptivity is affected in women with high circulating progesterone levels at the end of the follicular phase: a functional genomics analysis. *Hum Reprod.* 2011 Jul;26(7): 1813-25

8 - Li R, Qiao J, Wang L, Li L, Zhen X, Liu P, Zheng X. MicroRNA array and microarray evaluation of endometrial receptivity in patients with high serum progesterone levels on the day of hCG administration. *Reprod Biol Endocrinol.* 2011 Mar 6;9:29.

9 - Xiong Y, Wang J, Liu L, Chen X, Xu H, Li TC, Wang CC, Zhang S. Effects of high progesterone level on the day of human chorionic gonadotrophin administration in in vitro fertilization cycles on epigenetic modification of endometrium in the peri-implantation period. *Fertil Steril.* 2017 Aug;108(2):269-276.

10 - Van Vaerenbergh I, Fatemi HM, Blockeel C, Van Lommel L, In't Veld P, Schuit F, Kolibianakis EM, Devroey P, Bourgain C. Progesterone rise on HCG day in GnRH antagonist/rFSH stimulated cycles affects endometrial gene expression. *Reprod Biomed Online.* 2011 Mar;22(3):263-71.

11 - Huang B, Li Z, Zhu L, Hu D, Liu Q, Zhu G, Zhang H. Progesterone elevation on the day of HCG administration may affect rescue ICSI. *Reprod Biomed Online.* 2014 Jul;29(1):88-93.

12 - Huang B, Ren X, Wu L, Zhu L, Xu B, Li Y, Ai J, Jin L. Elevated progesterone levels on the day of oocyte maturation may affect top quality embryo IVF cycles. *PLoS ONE* 2016;11.

13 - Vanni VS, Somigliana E, Reschini M, Pagliardini L, Marotta E, Faulisi S, Paffoni A, Viganò P, Vegetti W, Candiani M. Top quality blastocyst formation rates in relation to progesterone levels on the day of oocyte maturation in GnRH antagonist IVF/ICSI cycles. *PLoS ONE* 2017;12.

14 - Bu Z, Zhao F, Wang K, Guo Y, Su Y, Zhai J, Sun Y. Serum progesterone elevation adversely affects cumulative live birth rate in different ovarian responders during in vitro fertilization and embryo transfer: a large retrospective study. *PLoS One.* 2014 Jun 13;9(6).

15 - Racca A, Santos-Ribeiro S, De N, Mackens S, Drakopoulos P, Camus M, Verheyen G, Tournaye H, Blockeel C. Impact of late-follicular phase elevated serum progesterone on cumulative live birth rates: is there a deleterious effect on embryo quality? *Hum Reprod* 2018;33:860–868.

16 - Lahoud R, Kwik M, Ryan J, Al-Jefout M, Foley J, Illingworth P. Elevated progesterone in GnRH agonist down regulated in vitro fertilisation (IVF/ICSI) cycles reduces live birth rates but not embryo quality. *Arch Gynecol Obstet.* 2012 Feb;285(2):535-40.

17 - Melo M, Meseguer M, Garrido N, Bosch E, Pellicer A, Remohí J. The significance of premature luteinization in an oocyte-donation programme. *Hum Reprod.* 2006;21(6):1503–1507.

18 - Turgut EN, Ecemis S, Boynukalin KF, Gultomruk M, Yarkiner Z, Findikli N, Bahceci M. Being on the side of old findings: progesterone elevation on the day of oocyte maturation induction does not affect embryological parameters throughout the blastocyst culture period. *Arch Gynecol Obstet.* 2021 Feb;303(2):581-587.

19 - Forman EJ, Hong KH, Franasiak JM, Scott RT., Jr. Obstetrical and neonatal outcomes from the BEST Trial: single embryo transfer with aneuploidy screening improves outcomes after in vitro fertilization without compromising delivery rates. *Am J Obstet Gynecol.* 2014;210(2):157

20 - Neal SA, Morin SJ, Franasiak JM, Goodman LR, Juneau CR, Forman EJ, Werner MD, Scott RT., Jr. Preimplantation genetic testing for aneuploidy is cost-effective, shortens treatment time, and reduces the risk of failed embryo transfer and clinical miscarriage. *Fertil Steril.* 2018;110(5):896–904.

21 - Kofinas JD, Mehr H, Ganguly N, Biley Y, Bochkovsky S, McCulloh D, Grifo J. Is it the egg or the endometrium? Elevated progesterone on day of trigger is not associated with embryo ploidy nor decreased success rates in subsequent embryo transfer cycles. *J Assist Reprod Genet.* 2016 Sep;33(9):1169-74.

22 - Boynukalin FK, Yarkiner Z, Gultomruk M, Turgut NE, Ecemis S, Findikli N, Bahceci M. Elevation of progesterone on the trigger day exerts no carryover effect on live birth in freeze-

all cycles. *Gynecol Endocrinol.* 2021 Apr;37(4):367-371.

23 - Gardner DK, Schoolcraft WB. Culture and transfer of human blastocysts. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1999 11(3):307-311

24 - Zhao H, Tao W, Li M, Liu H, Wu K, Ma S. Comparison of two protocols of blastocyst biopsy submitted to preimplantation genetic testing for aneuploidies: a randomized controlled trial. *Arch Gynecol Obstet.* 2019 May; 299(5):1487-1493

25 - Chiang, T., Schultz, R.M., Lampson, M.A. Meiotic origins of maternal age-related aneuploidy. *Biol. Reprod.* 2012; 86: 1-7

26 - Wells, D., Kaur, K., Grifo, J., Glassner, M., Taylor, J.C., Fragouli, E., Munne, S. Clinical utilisation of a rapid low-pass whole genome sequencing technique for the diagnosis of aneuploidy in human embryos prior to implantation. *J. Med. Genet.* 2014; 51: 553-562

27 - Karlıkaya G, Boynukalin FK, Gultomruk M, Kavrut M, Abalı R, Demir B, Ecemis S, Yarkiner Z, Bahceci M. Euploidy rates of embryos in young patients with good and low prognosis according to the POSEIDON criteria. *Reprod Biomed Online.* 2021 Jan 8:S1472-6483(21)00001-8.

28 - Check JH, Hourani C, Choe JK, Callan C, Adelson HG. Pregnancy rates in donors versus recipients according to the serum progesterone level at the time of human chorionic gonadotropin in a shared oocyte program. *Fertil Steril.* 1994;61(2):262-4

29 - Check JH, Wilson C, Choe JK, Amui J, Brasile D. Evidence that high serum progesterone (P) levels on day of human chorionic gonadotropin (hCG) injection have no adverse effect on the embryo itself as determined by pregnancy outcome following embryo transfer using donated eggs. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2010;37(3):179- 80.

30 - Legro RS, Ary BA, Paulson RJ, Stanczyk FZ, Sauer M. Premature luteinization as detected by elevated serum progesterone is associated with a higher pregnancy rate in donor oocyte in-vitro fertilization. *Hum Reprod.* 1993;8(9):1506-11.

31 - Griesinger G, Mannaerts B, Andersen CY, Witjes H, Kolibianakis EM, Gordon K. Progesterone elevation does not compromise pregnancy rates in high responders: a pooled analysis of in vitro fertilization patients treated with recombinant follicle-stimulating hormone/gonadotropin-releasing hormone antagonist in six trials. *Fertil Steril.* 2013 Dec; 100(6):1622-8.

32 - Al-Azemi M, Kyrou D, Kolibianakis EM, Humaidan P, Van Vaerenbergh I, Devroey P, Fatemi HM. Elevated progesterone during ovarian stimulation for IVF. *Reprod Biomed Online.* 2012 Apr;24(4):381-8.

33 - Racca A, De Munck N, Santos-Ribeiro S, Drakopoulos P, Errazuriz J, Galvao A Popovic- Todorovic B, et al. Do we need to measure progesterone in oocyte donation cycles? A retrospective analysis evaluating cumulative live birth rates and embryo quality. *Hum Reprod.* 2020 Jan 1;35(1):167-174.

34 - Colls P, Escudero T, Fischer J, Cekleniak NA, Ben-Ozer S, Meyer B, et al. Validation of array comparative genome hybridization for diagnosis of translocations in preimplantation human embryos. *Reprod BioMed Online.* 2012;24(6):621-9.