

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Vlatka Tomić

**Progesteronska potpora
žutom tijelu u stimuliranim ciklusima
izvantjelesne oplodnje**

DISERTACIJA



Zagreb, 2018.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Vlatka Tomić

**Progesteronska potpora
žutom tijelu u stimuliranim ciklusima
izvantjelesne oplodnje**

DISERTACIJA

Zagreb, 2018.

Ova doktorska disertacija izrađena je u Odsjeku za humanu reprodukciju Klinike za ginekologiju i porodništvo KBC Sestara Milosrdnica i Poliklinike IVF u Zagrebu.

Disertacija je pisana kao skup objavljenih znanstvenih radova popraćen meta-analizom i kritičkim preglednim poglavljem (tzv. skandinavski model), temeljem članka 35 Pravilnika o doktorskim studijima (Medicinski fakultet u Zagrebu, 2014.), te članka 14 Pravilnika o doktorskim studijima na Sveučilištu u Zagrebu (2010.).

Mentor: Prof. dr. sc. Miro Kasum, dr. med.

Posveta

Ovaj doktorat, s puno ljubavi i zahvalnosti, posvećujem baki Eugeniji i djedu Borisu Puškašu, čije su me ruke nesebično, s puno emocija, veselja, pažnje i empatije vodile kroz život. Vaša podrška, blage riječi i iskustvo koje ste utkali u ovaj rad, zadužili su me da stremim plemenitim ciljevima.

Zahvala

Prof. dr. sc. Miri Kasumu, mojem mentoru, na stvaranju poticajne radne atmosfere, diskusijama koje su pisale i popravljale retke ovog rada, korisnim savjetima i nesebičnom stručnom vodstvu.

Stručnom povjerenstvu sastavljenom od vrsnih znalaca ginekološke endokrinologije prof. dr. sc. Velimiru Šimuniću, prof. dr. sc. Dinki Pavičić-Baldani i prof. dr. Marini Šprem-Goldštajn, koji su svojim znanjem, opaskama i uputama pridonijeli poboljšanju kvalitete ovog rada.

Doc. dr. sc. Zoranu Milanoviću, na satima provedenim pred računalom, u zajedničkim nastojanjima da brojke uobličimo u statističke analize koje bi omjerima, postotcima i grafovima najbolje govornile o rezultatima.

Ružici Barać, prof., na pažljivom lektoriranju ovog rada kako bi on zablistao punim sjajem u lijepom ruhu hrvatskog jezika.

Posebnu zahvalnost upućujem svojim osnovnoškolskim i gimnazijskim profesorima iz OŠ Augusta Harambašića i II. Opće gimnazije u Zagrebu, koji su poticali moj istraživački duh i probudili svijest o potrebi ulaganja u znanje.

Svojim roditeljima Verici i Jozi, na nesebičnoj roditeljskoj ljubavi, podršci i poticaju kojim su usmjeravali puteve mog sazrijevanja i ulijevali mi mir i sigurnost u ostvarenju ciljeva.

Svom dragom bratu Hrvoju i prijateljima, velika hvala na podršci u izradi ovog rada, a posebno na strpljenju i razumijevanju za sve trenutke koje smo pritom propustili.

I na kraju, posebna hvala mom sinu Domagoju čije su ručice brljale slova i tipke na računalu, doprinoseći još boljim verzijama rada. Tvoj su osmijeh i ponos moja najveća inspiracija.

SADRŽAJ

1. Uvod i svrha rada	1
1.1. Žuto tijelo	1
1.1.1. Uloga progesterona, estrogena i humanog korionskog gonadotropina u lutealnoj fazi ciklusa.....	1
1.1.2. Utjecaj GnRh agonista i antagonista tijekom kontrolirane ovarijske hiperstimulacije na funkciju žutog tijela i luteinsku fazu.....	2
1.2. Potpora žutom tijelu u stimuliranim ciklusima izvantjelesne oplodnje	3
1.2.1. Humani korionski gonadotropin.....	3
1.2.2. Dodatak estrogena progesteronskoj luteinskoj potpori	5
1.2.3. Progesteron	5
1.2.3.1. Razine progesterona u žena.....	6
1.2.3.2. Put primjene progesterona utječe na učinke progesterona.....	6
1.3. Različiti putevi primjene progesterona u potpori žutom tijelu u stimuliranim ciklusima izvantjelesne oplodnje	7
1.3.1. Oralni progesteron	7
1.3.1.1. Oralni mikronizirani progesteron.....	7
1.3.1.2. Didrogesteron	9
1.3.1.3. Vaginalni progesteron gel i kapsule	10
1.4. Početak lutealne potpore	11
1.5. Trajanje lutealne potpore.....	11
2. Hipoteza i ciljevi rada	13
2.1. Hipoteza	13
2.2. Ciljevi rada	13
3. Ispitanice i metode rada.....	14
3.1. Ispitanice	14
3.2. Protokol kontinuirane ovarijske stimulacije.....	15
3.3. Utvrđivanje ishoda IVF postupka	16
3.4. Određivanje ostalih IVF relevantnih parametara	17
3.5. Opći demografski podaci pacijentica	17
3.6. Karakteristike stimuliranog ciklusa.....	17

3.7. Metodologija rada	17
3.8. Statističke metode.....	18
4. Rezultati	20
4.1. Zadovoljstvo korištenim progesteronskim preparatima u potpori žutom tijelu tijekom stimuliranih ciklusa izvantjelesne oplodnje	20
4.2. Podnošljivost progesteronskih preparata u potpori žutom tijelu u stimuliranim ciklusima izvantjelesne oplodnje	24
4.3. Analiza učinkovitosti progesteronske potpore žutom tijelu mjerena brojem kliničkih nastavljaćih trudnoća i ranih pobačaja.....	29
4.4. Karakteristike pacijentica i stimuliranog ciklusa izvantjelesne oplodnje	31
5. Rasprava	36
6. Zaključci.....	50
7. Sažetak (na hrvatskom jeziku)	52
8. Extended summary / Prošireni sažetak (na engleskom jeziku)	53
9. Literatura	56
10. Kratki životopis	70
11. Objavljeni znanstveni radovi.....	71

I. Popis tablica, slika i priloga

Tablice

Tablica 1. Stupanj zadovoljstva pacijentica korištenim progesteronskim preparatima u potpori žutom tijelu tijekom stimuliranih ciklusa izvantjelesne oplodnje	22
Tablica 2. Usporedba podnošljivosti progesteronskih preparata u potpori žutom tijelu.....	27
Tablica 3. Broj pobačaja i kliničkih nastavljućih trudnoća prilikom primjene različitih progesteronskih preparata.....	30
Tablica 4. Opći podaci pacijentica i karakteristike stimuliranog ciklusa.....	34

Slike

Slika 1. Prikaz plana istraživanja.....	14
Slika 2. Standardni protokol indukcije ovulacije.....	15
Slika 3. Stupanj zadovoljstva pacijentica korištenim progesteronskim preparatima u potpori žutom tijelu tijekom stimuliranih ciklusa izvantjelesne oplodnje	20
Slika 4a. Usporedba podnošljivosti progesteronskih preparata u potpori žutom tijelu.....	24
Slika 4b. Usporedba podnošljivosti progesteronskih preparata u potpori žutom tijelu (nastavak)	25
Slika 5. Kliničke nastavljuće trudnoće i rani pobačaji prilikom primjene različitih progesteronskih preparata.....	29
Slika 6a. Opći podaci pacijentica i karakteristike stimuliranog ciklusa.....	31
Slika 6b. Opći podaci pacijentica i karakteristike stimuliranog ciklusa (nastavak)	31

Prilozi

- Prilog 1. Simunic V, Tomic V, Tomic J, Nizic D. Comparative study of the efficacy and tolerability of two vaginal progesterone formulations, Crinone 8% gel and Utrogestan capsules, used for luteal support. *Fertil Steril.* 2007;87(1):83-7. Erratum in: *Fertil Steril.* 2007;88(1):254 71
- Prilog 2. Tomic V, Tomic J, Klaic DZ. Oral micronized progesterone combined with vaginal progesterone gel for luteal support. *Gynecol Endocrinol.* 2011;27(12):1010-3. doi: 10.3109/09513590.2011.569791 72
- Prilog 3. Tomic V, Tomic J, Klaic DZ, Kasum M, Kuna K. Oral dydrogesterone versus vaginal progesterone gel in the luteal phase support: randomized controlled trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015;186:49-53. doi: 10.1016/j.ejogrb.2014.11.002..... 73

II. Popis kratica i oznaka

ART (MPO)	Assisted reproductive technologies	Metode pomognute oplodnje
BMI	Body mass index, weight (kg) / height ² (m ²)	Indeks tjelesne mase, težina (kg) / visina (m ²)
CI	Confidence interval	Interval pouzdanosti
E2	Oestradiol	Estradiol
ESHRE	European Society of Human Reproduction and Embryology	Europska udruga za humanu reprodukciju i embriologiju
FSH	Follicle-stimulating hormone	Folikulstimulirajući hormon
ET	Embryo transfer	Embriotransfer
FET	Frozen embryo transfer	Transfer odmrznutog zametka
GC	Granulosa cell	Stanice granuloze
GnRH	Gonadotropin-releasing hormone	Gonadotropin oslobađajući hormon
hCG	Human Chorionic Gonadotropin	Humani korionski gonadotropin
COH (KOH)	Controlled ovarian hyperstimulation	Kontrolirana ovarijska hiperstimulacija
LHCGR	Luteinizing hormone / choriogonadotropin receptor	Luteinski/ korigonadotropinski receptor
ICSI	Intracytoplasmic sperm injection	Intracitoplazmična injekcija spermija
IMP	Intramuskularni progesteron	
IVF	In vitro fertilization	Izvantjelesna oplodnja
IUI	Intra-uterine insemination	
LH	Luteinizing hormone	Luteinizirajući hormon
LP	Luteal Phase	Luteinska faza
OHSS	Ovarian hyperstimulation syndrome	Sindrom ovarijske hiperstimulacije
OMP		Oralni mikronizirani progesteron
OR	Odds ratio	Omjeri šansi
P4	Progesterone	Progesteron
PCOS	Polycystic ovary syndrome	Sindrom policističnih jajnika

PRL	Prolactine	Prolaktin
TSH	Thyroid stimulating hormone	Tireostimulirajući hormon
fT	Free testostorone	Slobodni testosteron
DHEAS	Dehydroisoandrosterone sulphate	Dihidroepiandrosteron-sulfat
AMH	Anti-Müller hormone	Anti-Müllerov hormon
SD	Standard deviation	Standardna devijacija
CC	Current Contents	
ES	Effect size	Veličina utjecaja
RR	Relative risk	Relativni rizik
GIFT	Gamete intrafallopian transfer	Transfer gameta u jajovod
ZIFT	Zygote intrafallopian transfer	Transfer zigote u jajovod
WHO	World Health Organisation	Svjetska zdravstvena organizacija
PVG		Progesteronski vaginalni gel
MVP		Mikronizirani vaginalni progesteron

1. UVOD

Izvantjelesna oplodnja je medicinski postupak koji uključuje pomognutu oplodnju jajne stanice, transfer oplođenih zametaka u maternicu, implantaciju i razvitak trudnoće. Postoji oko dvadeset tehnika pomognute oplodnje, ali najčešće su inseminacija, IVF (eng. in vitro fertilization, izvantjelesna oplodnja), ICSI (eng. intracytoplasmic sperm injection, intracitoplazmatična injekcija spermija) i FET (eng. frozen embryo transfer, transfer odmrznutog zametka). Prva osoba rođena izvantjelesnom oplodnjom je Engleskinja Louise Brown 1978. godine. Prva izvantjelesna oplodnja u Hrvatskoj, a kao sedma u svijetu, nastala je 1983. godine u Petrovoj bolnici u Zagrebu.

1.1. Žuto tijelo

Kontrolirana ovarijska stimulacija (KOH) je iznimno bitan čimbenik uspjeha izvantjelesne oplodnje jer dostupnost višestrukog broja oocita povećava i šansu za uspješnu oplodnju (1). Luteinska faza se definira kao period koji započinje od ovulacije oocite do uspostave trudnoće odnosno pojave menstruacije otprilike dva tjedna kasnije. U pomognutoj oplodnji potpora luteinskoj fazi je pojam koji se koristi kako bi se opisala uporaba lijekova s ciljem potpore procesu implantacije i rane trudnoće.

1.1.1. Uloga progesterona, estrogena i humanog korionskog gonadotropina u lutealnoj fazi ciklusa

Progesteron i estrogen su potrebni kako bi se pripremila sluznica maternice (endometrij) za implantaciju i promijenio endometrij tijekom rane trudnoće. U prirodnoj luteinskoj fazi žena koje nisu trudne, steroidna produkcija doživljava svoj vrhunac 4 dana nakon ovulacije i nastavlja se još tjedan dana, odnosno do pada nekoliko dana iza sljedeće menstruacije. Ukoliko se dogodi trudnoća, progesteron se nastavlja izlučivati djelovanjem endogenog hCG-a (humani korionski gonadotropin). Jednom kad je došlo do ovulacije, folikul kolabira i preostale granulosa stanice koje imaju odgovarajuće receptore za LH (luteinski hormon) ubrzano prolaze luteinizaciju pod djelovanjem LH. Formirano žuto tijelo zahtijeva regularnu stimulaciju putem LH kako bi održao odgovarajuću produkciju progesterona i estradiola.

Izostanak LH, zbog potiskivanja lučenja na razini hipofize od strane GnRh (gonadotropin otpuštajućeg hormona), potiskuje funkciju žutog tijela.

1.1.2. Utjecaj GnRh agonista i antagonista tijekom kontrolirane ovarijske hiperstimulacije na funkciju žutog tijela i luteinsku fazu

Uporaba GnRh agonista tijekom KOH vodi ka potiskivanju hipofizne funkcije negativnom povratnom spregom koja se ne oporavlja u potpunosti ni 2 - 3 tjedna nakon završetka terapije s GnRH agonistima. Luteinska potpora (LP) smatra se stoga bitnom kako bi se nadišla luteinska insuficijencija i njezin negativan utjecaj na ranu trudnoću (2, 3). Dobro je poznato da je luteinska funkcija kompromitirana u ciklusima izvantjelesne oplodnje (4, 5). Razlozi abnormalnosti luteinske faze u (stimuliranoj) pomognutoj oplodnji su višestruki. Dokazano je kako je funkcija žutoga tijela kompromitirana procesom folikularne aspiracije kojom se dobivaju oocite jer dolazi do mehaničkog oštećenja i aspiracije granulosa stanica. Težina oštećenja čini se povezanom s načinom i brojem aspiracija te stoga brojem granulosa stanica koje se izbace iz membrana granulosa sloja (6). Luteinska faza je dokazano defektna u dugim protokolima stimulacije s GnRh agonistima (7).

Zbog trenutnog oporavka hipofiznog lučenja gonadotropina nakon prekida terapije s GnRh antagonistima, pretpostavljalo se da će luteinska faza u tim ciklusima biti manje poremećena (8). Međutim, radovi su pokazali da je u postupku IVF-a došlo do značajne redukcije u stopi trudnoća bez LP i u ciklusima s GnRh antagonistima (9).

Serumska razina progesterona u ranoj i srednjoj luteinskoj fazi hiperstimulacije s GnRh antagonistima je niska bez obzira na korišteni protokol sazrijevanja oocita (10). Uz izostanak LP razina progesterona bila je suboptimalna, praćena preranom luteolizom (11). U ciklusima koji nisu imali LP, dužina luteinske faze bila je skraćena i rano krvarenje se češće javljalo (12).

Zbog toga je luteinska potpora potrebna kako u ciklusima s GnRh agonistima tako i u ciklusima s GnRh antagonistima. Razlog defektne luteinske faze u stimuliranim IVF ciklusima je povezan nadalje s multifolikularnim razvojem tijekom ovarijske hiperstimulacije. To vodi ka suprafiziološkim koncentracijama steroida (estradiola i progesterona) koji se izlučuju iz velikog broja žutih tijela tijekom rane luteinske faze što direktno inhibira LH otpuštanje negativnom povratnom spregom na razini hipotalamičko-hipofizne osi više nego centralni učinak na hipofizu ili steroidogenetske abnormalnosti u samom žutom tijelu (13).

Uspjeh rane trudnoće ovisi o progesteronu koji se prije 7. tjedna trudnoće izlučuje primarno iz žutog tijela, a gotovo potpuno iz trofoblasta nakon 9. tjedna trudnoće. U razdoblju između 7. i 9. tjedna trudnoće (računajući tradicionalno po datumu zadnje menstruacije) u različitom omjeru iz obadva izvora, razdoblju poznatom pod nazivom „luteinsko-posteljični pomak“ (14).

Luteinska faza je defektna u IVF-u uz prisutnost bilo GnRh agonist ili GnRh antagonist stimulacije sazrijevanja folikula (15). Meta-analize potvrdile su da potpora žutom tijelu pospješuje ishod IVF postupka (16-18).

Najnoviji Cochrane review (19) zaključio je, na temelju 94 randomizirana istraživanja, da je progesteron u luteinskoj potpori povezan s većim postotkom nastavljanja trudnoća i poroda nego placebo. Nema dokaza da je hCG učinkovitiji od placeba odnosno učinkovitiji od izostanka terapijske podrške lutealnoj fazi. Dodatak GnRh agonista progesteronu čini se vodi ka poboljšanju ishoda. hCG s druge strane dovodi do povećanja OHSS (eng. ovarian hyperstimulation syndrome, ovarijski sindrom hiperstimulacije) u usporedbi s placebo. Osim toga hCG sam uz dodatak progesterona ili bez njega vodi ga povećanju OHSS. Niti dodatak estrogena niti način primjene progesterona čini se nemaju utjecaj na poboljšanje ishoda LP.

1.2. Potpora žutom tijelu u stimuliranim ciklusima izvantjelesne oplodnje

U potpori žutom tijelu u stimuliranim ciklusima izvantjelesne oplodnje (IVF/ICSI) može se koristiti progesteron i/ili humani korionski gonadotropin hCG. Danas je uporaba progesterona u potpori žutom tijelu postala standard jer, iako jednako učinkovit, egzogeni hCG dovodi do povećanog rizika nastanka sindroma hiperstimulacije jajnika (16).

1.2.1. Humani korionski gonadotropin

Humani korionski gonadotropin djeluje na LHCGR (eng. luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor, luteinski/koriongonadotropinski receptor) na jajniku i potiče održavanje žutog tijela tijekom rane trudnoće. To omogućuje žutom tijelu izlučivanje hormona progesterona tijekom prvog tromjesečja trudnoće.

Istraživanja na 32 normalne trudnoće došle su do rezultata da se gestacijska vrećica od 1 do 3 mm vidi kada je prosječna razina hCG 1150 UI/l (raspon 800 - 1500), a žumanjčana

vrećica se detektira kod razina hCG od 6000 UI/l (raspon 4500 - 7500), dok se pozitivna srčana akcija vidi na prosječnoj razini hCG od 10,000 UI/l (raspon 8650 - 12, 200) (20).

Pretpostavlja se i da hCG djeluje na imunološke stanice majke i moguća je posteljica poveznica za razvoj lokalne majčinske imunotolerancije na način da endometrijske stanice pod njegovim utjecajem pojačavaju apoptozu T-stanica. Ovi rezultati daju naslutiti ulogu hCG-a i u trofoblastičnoj invaziji endometrija, bitnoj stavki uspješne implantacije i kasnije trudnoće (8). Zbog sličnosti svoje građe s LH može se koristiti i za indukciju ovulacije (završnog sazrijevanja oocita u jajnicima). hCG u potpori žutom tijelu nastao je kao činjenica da hCG podupire žuto tijelo i da njegova primjena dovodi do povećanja produkcije progesterona i estrogena. Neka randomizirana, ali starija istraživanja podržavaju uporabu hCG-a u potpori žutom tijelu (21,22) jer je stopa živorođenih viša, a stopa spontanih pobačaja niža kada se koristila suplementacija s hCG-om nego kada nije korištena u GnRH agonist/antagonist ciklusima (16, 23).

S druge strane, jedna je randomizirana studija pokazala kako nema razlike u postotku kliničkih trudnoća između progesterona, hCG-a i kombinacije progesterona i hCG-a, međutim razina nelagode pacijentica prilikom primjene injekcija hCG za razliku od primjene progesterona bila je statistički značajna (24). Najnoviji Cochrane pregledni članak i meta-analiza van der Lindena iz 2015. godine pokazuje s druge strane da nema dokaza da je hCG učinkovitiji od placeba odnosno učinkovitiji od izostanka terapijske podrške luteinskoj fazi. hCG osim toga povećava rizik od razvoja OHSS za više od 4 puta u usporedbi s placebom (OR 4.28, 95 % CI 1.91 - 9.60) i u usporedbi s progesteronom (OHSS progesteronska grupa vs. hCG grupa: RR 0.50, 95 % CI 0.34 - 0.76) (19).

Nisko-dozirani hCG (500 IU svaki drugi dan) mogao bi pružiti primjerenu luteinsku potporu s minimalnim rizicima razvoja OHSS (25). Zbog izjednačene kliničke uspješnosti s intramuskularnim i vaginalnim progesteronom u potpori žutom tijelu, implantaciji i ranoj trudnoći, uz povećani broj nuspojava od strane hCG-a, od kojih je najznačajniji OHSS, progesteron je danas metoda izbora u GnRH agonist/antagonist IVF/ICSI ciklusima.

1.2.2. Dodatak estrogena progesteronskoj luteinskoj potpori

Osim progesterona žuto tijelo sintetizira i umjerene količine estradiola (E2), čija uloga u regulaciji luteinske faze nije do sada razjašnjena. Serumska koncentracija estradiola niža je od prosječnih vrijednosti tijekom luteinske faze u značajnom broju pacijentica koje primaju progesteronsku luteinsku potporu. Suboptimalna fiziološka razina E2 čini se povezanom s odgođenom maturacijom endometrija i time lošom endometrijskom receptivnošću za vrijeme implantacijskog prozora (26). Stoga su znanstvenici pretpostavljali da je moguća neravnoteža estrogeno-progesteronskog odnosa tijekom srednje luteinske faze prediktor lošeg ishoda u izvantjelesnoj oplodnji (27). Tragom tih pretpostavki, neki su autori u svojim istraživanjima došli do rezultata kako dodatak 6mg E2 u ICSI ciklusima dovodi do značajno višeg postotka trudnoća (28, 29).

S druge strane, rezultati nekih istraživača (30, 31) kao i rezultati meta-analiza (18) nisu pokazali statistički značajnu razliku u stopi nastavljujućih trudnoća kada se estrogen dodavao progesteronu u odnosu na samu progesteronsku luteinsku potporu.

Dodatak estradiola u progesteronskoj luteinskoj potpori, unatoč brojnim raspravama i nekolicini randomiziranih istraživanja, nije u rutinskoj uporabi zbog izostanka podataka dostupnih u literaturi o njegovoj uspješnosti.

1.2.3. Progesteron

Progesteronski preparati mogu se podijeliti na dvije skupine: prirodni progesteron i sintetski progesteron-gestagen. Sintetski derivati ili gestageni su 17-hydroxyprogesterone i 19- nortestosterone. Njihove nuspojave, povezane s različitom učestalošću (kod nekih više kod nekih preparata manje izraženim) promjena raspoloženja, depresije, virilizacije, luteolize i mogućeg teratogenog učinka, ograničavaju njihovu uporabu u ciklusima kod kojih se očekuje trudnoća – odnosno ciklusima pomognute oplodnje. Prirodni progesteron, s druge strane, nema teratogenog učinka i efikasniji je od derivata u indukciji sekretorne promjene endometrija (32).

Progesteron se nekada naziva i „hormon trudnoće“ i posjeduje mnoge uloge povezane s razvojem embrija i kasnijeg fetusa (33):

- a) Progesteron dovodi do promjene endometrija u sekrecijski, pripremajući uterus za implantaciju. U isto vrijeme djeluje i na vaginalni epitel i cervikalnu sluz, stanjujući ju

i omogućujući penetraciju spermija. Progesteron je anti-mitogen u endometrijskim epitelnim stanicama i kao takav ublažava tropički efekt estrogena (34). Ukoliko ne dođe do trudnoće, razina progesterona se snižava, vodeći u žena do menstruacije.

- b) Tijekom implantacije i gestacije progesteron čini se snižava maternalni imuni odgovor koji omogućuje prihvaćanje trudnoće.
- c) Progesteron snižava kontraktilnost uterine glatke muskulature
- d) Progesteron inhibira laktaciju tijekom trudnoće. Pad progesterona koji se događa nakon poroda jedan je od trigerata za produkciju majčina mlijeka
- e) Sniženje progesteronske razine jedan je od pokretača poroda

1.2.3.1. Razine progesterona u žena

U žena su razine progesterona relativno niske tijekom preovulacijske faze menstrualnog ciklusa i dižu se nakon ovulacije te ostaju povišene tijekom luteinske faze. Progesteronske razine se nalaze na razini < 2 ng/ml prije ovulacije, a nakon ovulacije > 5 ng/ml. Ukoliko se dogodi trudnoća, hCG se otpušta iz žutog tijela, omogućujući održavanje razine progesterona u ranoj trudnoći. Između 7. - 9. tjedna trudnoće placenta počinje producirati progesteron umjesto žutog tijela u procesu koji se naziva luteinsko-posteljini pomak (14). Nakon luteinsko-posteljičnog pomaka, progesteronska razina dalje raste i dostiže koncentraciju od 100 do 200 ng/ml u terminskom porodu. Nakon poroda placente i tijekom laktacije progesteronske razine su ponovno vrlo niske (35).

1.2.3.2. Put primjene progesterona utječe na učinke progesterona

Progesteron se može primijeniti oralno, intramuskularno, vaginalno ili rjeđe rektalno sa sličnom efikasnošću (19, 24, 35). Međutim oralni progesteron je podložan razgradnji tijekom prvog prolaska kroz jetru, što rezultira u njegovoj slaboj biodostupnosti < 10 % (36, 37) i u potpori žutom tijelu koristi ga samo oko 1 % IVF centara u svijetu (24). Iznimka je didrogesteron koji ima dobru biodostupnost, zahvaljujući aktivnom metabolitu dihidroprogesteronu.

Vaginalna primjena progesterona u dozi od 100 mg rezultira vrhuncem razine 4 h nakon primjene, s koncentracijom koja je u razini serumske luteinske faze (38). Nakon

vrhunca serumske koncentracije, dolazi do polaganog sniženja u plazmi i nakon 24 h serumske razine su tipične za folikularnu fazu ciklusa (38).

Intramuskularna injekcija 10 mg progesterona suspendirana u biljnom ulju dostiže max.plazmatsku koncentraciju 8 h nakon primjene, a serumska razina ostaje iznad bazne linije još 24 h (39).

Doze od 10 mg, 25 mg i 50 mg IM progesterona rezultiraju u vrhuncima max.serumske koncentracije od 7 ng/ml, 28 ng/ml, 50 ng/ml (39). IM injekcija 25 mg P4 rezultira u normalnoj luteinskoj serumskoj koncentraciji P4 unutar 8 h, a doza od 100 mg producira srednju koncentraciju P4 u trudnoći (40). U tim dozama serumska razina P4 ostaje povišena iznad bazne linije najmanje 48 h (40). Za usporedbu srednja-luteinska serumska koncentracija P4 je iznad 5 – 9 ng/ml (40), plazmatska razina u prvih 4 - 8 tj trudnoće je 25 – 75 ng/ml (41) a serumska razina P4 u terminskoj trudnoći je 200 ng/ml.

Intramuskularni i vaginalni progesteron povezani su s učestalim nuspojavama. Glavne nuspojave intramuskularnog progesterona sadržane su u bolnim dnevnim aplikacijama, upalnim reakcijama i lokalnim apscesima (42, 43). Manje nuspojava uočeno je uz uporabu vaginalnog progesterona (44), ali je on povezan s vaginalnim iritacijama, iscjetkom iz rodnice, krvarenjima i smetnja pri spolnom odnosu (45). Također savjetuje se suzdržavanje nekoliko sati od spolnog odnosa nakon primjene vaginalnog progesteronskog gela jer dolazi do smetnji pri apsorpciji progesterona.

1.3. Različiti putevi primjene progesterona u potpori žutom tijelu u stimuliranim ciklusima izvantjelesne oplodnje

1.3.1. Oralni progesteron

1.3.1.1. Oralni mikronizirani progesteron

Oralni mikronizirani progesteron bio je izbor u luteinskoj potpori 1980-ih godina. Međutim pokazao se kao slaba terapijska opcija (46). Iako je najjednostavniji od svih progesterona za uporabu, oralni mikronizirani progesteron ima slabu i nestalnu biodostupnost. Nakon ingestije apsorbira se u crijevima i prolazi tzv. prvu razgradnju u jetri i izlučuje se bubrezima, rezultirajući u biodostupnosti od samo 10 % u odnosu na IM progesteron (47). Serumska razina dostiže maksimum za 2 do 4 sata i ostaje značajno povišena samo 6 - 7 sati

zahtijevajući time učestalo doziranje (obnavljanje doze) ukoliko nije mikroniziran (48-50). Kao takav nalazi se na tržištu u obliku uljno napunjenih kapsula koje sadrže mikronizirani progesteron za oralnu uporabu (OMP) Utrogestan, Prometrium, Microgest (51). Progesteron je također dostupan u obliku vaginalnih ili rektalnih suppositorija ili pesara (Cyclogest), vaginalnih gelova i krema (51) (Crinone, Progestogel, Endometrin) odnosno intramuskularnih injekcija.

OMP imaju široku inter-individualnu varijabilnost u apsorpciji i biodostupnosti u odnosu na gestagene koji se rapidno apsorbiraju s dužim poluvremenom raspada nego progesteron i mogu održati stabilnu koncentraciju u krvi (52).

Apsorpcija i biodostupnost OMP-a povećava se dvostruko kada se uzimaju s hranom (53). Progesteron ima relativno kratak poluživot i zbog toga se OMP obično prepisuje 2 – 3 x dnevno ili u jednokratnoj dozi putem i.m. injekcije. Oralnim putem vrh koncentracije je 2 – 3 h nakon ingestije, a poluvrijeme raspada je 16 – 18 h. Značajno povišena serumska razina progesterona održava se 12 h i potom se vraća na baznu liniju nakon 24 h.

OMP se obično prepisuje u razdvojenim dozama od 25 do 400 mg dnevno (54). Uobičajeno je u dozi od 100 do 300 mg dnevno. Oralna doza od 100 do 200 mg dnevno rezultira u progesteronskoj razini > 10 ng/ml (55). Također, P4 se konvertira u 5α -dihidroprogesteron i alopregnanolon čija konverzija je katalizirana enzimima 5α -reduktaza i 3α -hidroksisteroid-dehidrogenaza i događa se u jetri, reproduktivnom endokrinom sustavu, koži i mozgu (56). Navedeni metaboliti progesterona su ujedno i neurosteroidi koji djeluju na GABA receptore (57). Zbog tog učinka uobičajene nuspojave P4 uključuju vrtoglavicu, pospanost, sedaciju i umor (57). Zbog toga ga neki liječnici prepisuju pacijentima navečer prije spavanja. Oba, i oralni i intramuskularni progesteron produciraju sedativni efekt, pokazujući da prvi prolazak kroz jetru nije esencijalan za konverziju (58).

S druge strane, medroxyprogesteron acetat inhibira konverziju P4 u neurosteroidne i zbog toga blokira ili reducira njegov sedativni učinak (59)

U istraživanju u kojem se uspoređivao vaginalni mikronizirani progesteron i oralni mikronizirani progesteron ponovo se očitovala razlika u stopi implantacija (10,7 % vs 30,7 % $p < 0,01$), ali i stopi kliničkih trudnoća (47,0 versus 33,3 %) i nastavljaćih trudnoća (41,1 versus 20,0 %) nije pokazivala statistički značajne razlike u odnosu na oralni P preparat (60). U randomiziranom kontroliranom istraživanju korisnice oralne mikronizirane terapije progesteronom imale su značajno nižu stopu implantacije od korisnica intramuskularnog

progesterona (18,1 vs 40,9 % $p = 0,004$) (61). Osim toga, njegovi metaboliti djelovali su preko GABA receptora na sedativni i hipnotički učinak progesterona (62) .

Uslijed navedenih nedostataka i nuspojava u potpori žutom tijelu, ubrzo su ga smijenili efikasniji preparati, prvo intramuskularni, a potom od 1990-ih i vaginalni progesteron.

1.3.1.2. Didrogesteron

Didrogesteron (6-dehydro-retroprogesteron) je hormonski aktivan ne-androgeni steroid retroprogesteronske skupine (63) koji je razvijen u 1950-im godinama i u kliničkoj je praksi desetljeće kasnije.

Selektivan je (64) a kao posljedica njegove bolje biodostupnosti i progestagenske aktivnosti njegovih glavnih metabolita (20-, 21- i 16-hidroksi derivata), ekvivalent doze didrogesterona je 10 - 20 puta niži od one oralnog mikroniziranog progesterona.

Njegov manjak kortikosteroidnog, androgenog, estrogenog i anaboličkog učinka daje didrogesteronu prednost pred ostalim sintetskim progesteronima (64). Te male promjene u kemijskoj strukturi odgovorne su za poboljšanu oralnu aktivnost, metaboličku stabilnost i izostanak prethodno navedenih hormonskih i anaboličkih utjecaja (65).

Didrogesteron se apsorbira nakon oralne primjene. Iako se metabolizira u jetri, metabolit 20-dihidrodidrogesteron je biološki aktivan, za razliku od metabolita progesterona (pregnanediol, pregnanetriol i pregnanolon) koji su neaktivni (66). Razina metabolita dihidrodidrogesterona postiže vrhunac svoje aktivnosti 1.5 h nakon uzimanja doze (67). Didrogesteron i njegovi metaboliti se uglavnom izlučuju preko mokraćne. Unutar 72 h izlučivanje je potpuno. Otprilike 85 % oralne doze didrogesterona uspješno se izluči iz tijela unutar 24 h. Farmakokinetika mu je stabilna i linearna u dozama 2,5 – 10 mg, a ne mijenja se ni nakon primijenjene jednokratne doze od 20 mg (67). Za razliku od progesterona čiji metaboliti su sedativni neurosteroidni metaboliti, didrogesteron se ne metabolizira na sličan način zahvaljujući svojoj $9\beta,10\alpha$ -retro strukturi i zbog toga nema sedativni učinak (68).

U potpori žutom tijelu relativno je novi pripravak i kako se oralni progesteron koristi u < 1 % IVF centara, a postoji samo nekoliko do sada objavljenih radova o uporabi didrogesterona u IVF ciklusima no koji govore u prilog njegove efektivnosti, dobrog podnošenja i prihvaćenosti od strane pacijentica, jedan od ciljeva ove disertacije bio je ustvrditi i usporediti stopu kliničkih trudnoća (efikasnost), podnošljivost i prihvaćenost u

usporedbi s vaginalnim progesteronskim propravcima koji se već rutinski primjenjuju u lutealnoj potpori u više od 70 % IVF centara u svijetu (69).

1.3.1.3. Vaginalni progesteron – gel i kapsule

Sekretorna transformacija endometrija i njegova receptivnost ovise isključivo o trajanju izlaganja odgovarajućoj koncentraciji progesterona, uz prethodno potrebno djelovanje estrogena na endometrij u folikulinskoj fazi (70). Čini se da progesteron ima i važnu ulogu u razvoju pinopoda, tvorbi koje nastaju u vrijeme »implantacijskog prozora« na površini endometrijskih stanica, a imaju važnu ulogu u implantaciji embrija (71).

Terapijska primjena prirodnog progesterona vaginalnim putem, u humanoj reprodukciji, ima prednost u odnosu na gestagene (72), ali i u odnosu na progesteronske derivate, kao što je dehidrogesteron, jer je najdjelotvornija u indukciji sekrecijskih obilježja endometrija (70).

Mikroniziranjem progesterona smanjena je veličina čestica, što omogućuje povećanu apsorpciju progesterona i njegovu veću biološku iskoristivost. Kombinacija mikroniziranog progesterona s polikarbofilnim gelom omogućila je polagano i produženo oslobađanje lijeka vaginalnim putem (70). Vaginalno primijenjen progesteron će inducirati odgovarajuću sekrecijsku transformaciju endometrija unatoč koncentraciji progesterona u serumu koja je niža od one u luteinskoj fazi ciklusa. Taj nesrazmjer razine progesterona u serumu i histoloških nalaza endometrija, poslije vaginalne primjene progesterona, ukazuje na učinak prvog prolaza kroz uterus, te direktni učinak na endometrij, bez prethodnog ulaska u (opću) cirkulaciju (73).

Sposobnost prirodnog progesterona, primijenjenog vaginalno, da izazove transformaciju endometrija koja je bliža fiziološkoj, u odnosu na peroralni put potvrđena je biopsijom endometrija između 20. i 24. dana ciklusa, u žena bez funkcije ovarija, poslije vaginalne terapije progesteronom, od 300 mg dnevno (uz prethodnu terapiju estrogenom) u trajanju od 14 dana (74). U većini slučajeva nađen je endometrij u odgovarajućoj fazi ciklusa, a raspored estrogenih i progesteronskih receptora bio je tipičan za te dane ciklusa (75). Abnormalna obilježja endometrija, poput odgođene maturacije, te asinkronija između endometrijskih žlijezda i strome, nađeni su u pacijentica u programu donacije oocita, koje su dobivale progesteron intramuskularno.

Serumska koncentracija progesterona je gotovo sedam puta niža nakon vaginalne primjene (600 mg/dan) u odnosu na intramuskularnu (100 mg/dan), dok je koncentracija u endometriju bila gotovo deset puta viša poslije vaginalne primjene, u odnosu na intramuskularnu (72).

1.4. Početak lutealne potpore

U stimuliranim ciklusima izvantjelesne oplodnje steroidna produkcija u prvom tjednu nakon aspiracije oocita je više nego dovoljna, tako da se egzogena potpora ne smatra kritičnom u okviru tog perioda. Podaci govore da je stopa trudnoća u IVF viša ako se započne s luteinskom potporom 3 dana nakon aspiracije oocita u odnosu na start 6-og dana (76). Randomizirana kontrolirana studija (77), koja je uključivala 130 pacijentica koje su primile luteinsku potporu na dan hCG-a, 128 na dan aspiracije oocita i 127 na dan embrio transfera, pokazala je stopu nastavljujućih trudnoća od 20,8 % u hCG grupi, 22,7 % u drugoj i 23,6 % u trećoj grupi.

Istraživanje je pokazalo kako ne postoje razlike u tri ispitivana vremena starta luteinske potpore. Jednako tako, novije istraživanje iz 2011. na 1111 IVF/ICSI ciklusa, u kojima su pacijentice randomizirane tako da je jedna grupa primala luteinsku potporu dan nakon aspiracije oocita, a druga grupa 4 dana od aspiracije oocita, pokazalo je gotovo identične rezultate 29,3 % u prvoj odnosno 31,2 % u drugoj grupi ($p = 0,48$), neovisno o tomu jesu li bili korišteni antagonistički ili agonistički protokoli stimulacije ovulacije (78).

Jednako tako, dva su istraživanja pokazala da nije bilo razlike u stopi trudnoća ako bi luteinska potpora bila započeta na dan aspiracije oocita ili na dan ET (2. dan) (79) odnosno na dan aspiracije oocita ili dan ET (3. dan) (77).

Najviše IVF centara (80.1 %) počinje ipak sa progesteronskom lutealnom potporom na dan aspiracije oocita (80).

1.5. Trajanje lutealne potpore

Progesteron u luteinskoj potpori ima ulogu popuniti prazninu odnosno disbalans nakon egzogeno primijenjenog hCG-a i povećanja endogene produkcije hCG-a. Kada dođe do povećanog lučenja endogenog hCG-a, žuto tijelo producira odgovarajuću količinu progesterona (81). Isti su autori usporedili dvije skupine pacijentica koje su primale luteinsku

potporu dva odnosno pet tjedana. Stopa nastavljanja trudnoća i stopa živorođene djece nije se statistički značajno razlikovala. Jednako tako, danska studija (82) usporedila je povlačenje progesteronske LP na dan pozitivnog hCG testa s kontrolnom skupinom koja je nastavila uzimati progesteron iduća tri tjedna trudnoće.

Rezultati istraživanja su pokazali da je broj pobačaja prije i nakon 7. tjedna trudnoće 4,6 % vrs 10,0 % u ispitivanoj skupini odnosno 3,3 % i 8,5 % u kontrolnoj skupini. Jednako tako, broj poroda je bio 78,7 % u ispitivanoj skupini odnosno 82,4 % u kontrolnoj skupini. Razlike nisu bile statistički značajne. U meta-analizi kineskih autora temeljem šest radova i 1201 pacijentice, utvrđeno je da nema statistički značajne razlike između pacijentica kojima je progesteronska LP povučena rano (nakon pozitivnog hCG testa trudnoće) i onih koji su je primali kontinuirano u potpori žutom tijelu tijekom rane trudnoće (RR 0,95 95 % CI 0,86 - 1,05), jednako tako, niti u stopi pobačaja (RR 1,01 95 % 0,74 - 1,38) odnosno u stopi nastavljanja trudnoća (RR 0,97 95 % CI 0,90 - 1,05) (83).

Autori su zaključili da sadašnji dokazi pokazuju da je možda nepotrebna luteinska potpora nakon prvog pozitivnog hCG testa trudnoće nakon IVF/ICSI ciklusa, ali je potrebna veća količina randomiziranih studija kako bi se potvrdili prvotni zaključci na temelju relativno malog broja radova. Međutim, klinička praksa u IVF centrima je nešto drugačija. Od 408 IVF centra iz 82 države s ukupno 284,600 IVF ciklusa godišnje, 72 % pruža luteinsku progesteronsku potporu do 8 odnosno 10 tjedna trudnoće (80).

2. HIPOTEZA I CILJEVI RADA

2.1. Hipoteza

Meta-analizom tri prospektivna vlastita randomizirana klinička istraživanja ustvrdit će se jednaka učinkovitost kliničkih nastavljućih trudnoća odnosno stopa ranih pobačaja primjenom različitih progesteronskih pripravaka (oralne progesteronske tablete, vaginalne progesteronske kapsule, vaginalni progesteronski gel i kombinirana uporaba oralnih progesteronskih kapsula i vaginalnog progesteronskog gela) u potpori žutom tijelu. Usporedbom podnošljivosti, prihvaćenost odnosno zadovoljstva korištenjem navedenih progesteronskih preparata, ustvrdit će se razlike koje će pomoći u izboru terapijskih smjernica u potpori žutom tijelu tijekom stimuliranih ciklusa izvantjelesne oplodnje.

2.2. Ciljevi rada

Ciljevi rada su podijeljeni u opći cilj i specifične ciljevi koji su u nastavku sljedeće definirani:

Opći cilj ovog rada je meta-analizom istražiti i usporediti uspješnost mjerenu stopom kliničkih/nastavljućih trudnoća i ranih pobačaja, te podnošljivost i prihvaćenost različitih načina i oblika progesteronske potpore žutom tijelu u stimuliranim ciklusima izvantjelesne oplodnje.

Specifični ciljevi su:

1. Analizirati učinkovitost (stopa kliničkih/nastavljućih trudnoća i ranih pobačaja) različitih progesteronskih preparata korištenih u potpori žutom tijelu u stimuliranim ciklusima izvantjelesne oplodnje
2. Usporediti podnošljivost različitih progesteronskih preparata u potpori žutom tijelu u stimuliranim ciklusima izvantjelesne oplodnje
3. Ustvrditi prihvaćenost odnosno zadovoljstvo tijekom primjene različitih progesteronskih preparata po mišljenju pacijentica

3. ISPITANICE I METODE RADA

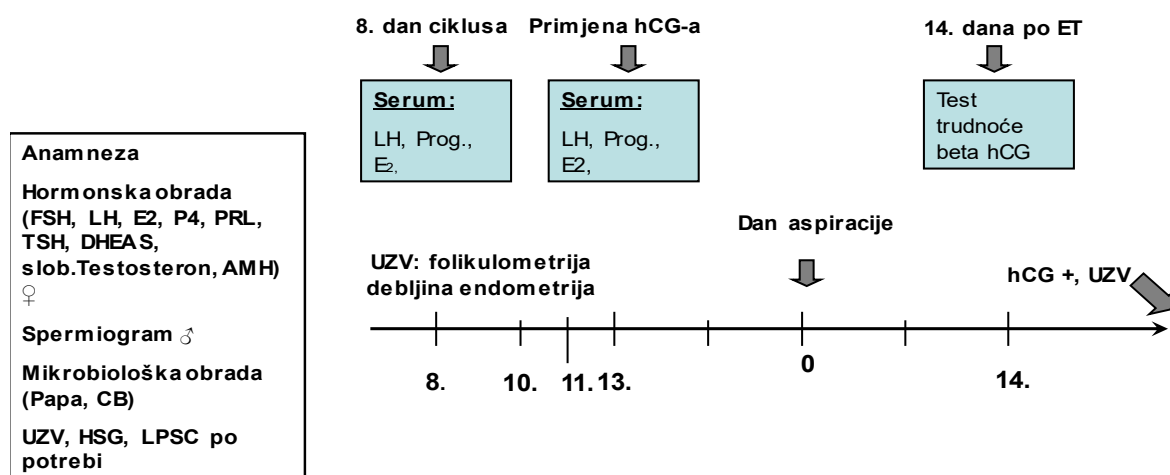
Hipoteza će biti testirana meta-analizom koja obuhvaća tri prospektivna provedena vlastita klinička istraživanja. U ovom radu analizirat će se i usporediti kao primarni cilj stopa kliničkih/nastavljajućih trudnoća i ranih pobačaja, a kao sekundarni ciljevi podnošljivost, prihvatljivost odnosno zadovoljstvo ispitanica primjenom različitih progesteronskih preparata u potpori žutom tijelu u stimulanim ciklusima izvantjelesne oplodnje.

3.1. Ispitanice

Ispitanice u obje skupine (ispitivana i kontrolna) u sva tri prospektivna klinička istraživanja sačinjavale su žene koje su bile podvrgnute liječenju neplodnosti u IVF ili ICSI postupku u stimuliranim ciklusima.

Istraživanja su provedena u Kliničkom bolničkom centru Sestara Milosrdnica i u Poliklinici IVF, Odsjeku za humanu reprodukciju, u Zagrebu u periodu od 6 godina (2007. – 2013.) na ukupnom broju od 1508 ispitanica.

U ispitivanoj populaciji primjenjivan je protokol rutinske obrade neplodnosti standardiziran u gore navedenoj instituciji i prema preporukama Europske udruge za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju (ESHRE) (Slika 1.)

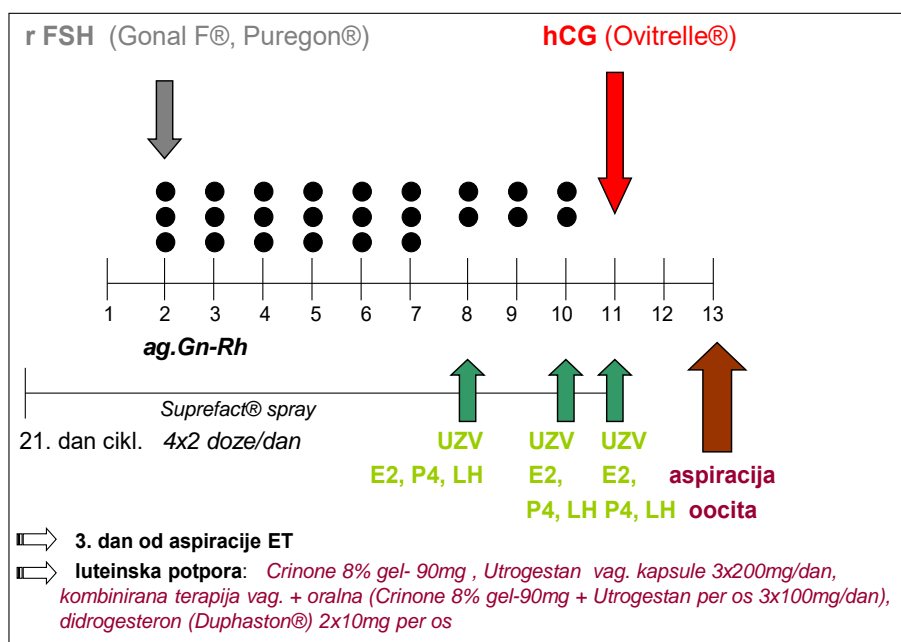


Slika 1. Prikaz plana istraživanja

3.2. Protokol kontrolirane ovarijske stimulacije

U kontroliranoj ovarijskoj hiperstimulaciji korišten je standardni dugi i kratki tzv. „step down“ stimulacijski protokol s GnRH agonistima. U dugom protokolu od 21. dana prethodnog ciklusa Buserelin nosni sprej (Suprefact; Aventis Pharma, Frankfurt, Njemačka) 4 x 2 mg dnevno. Drugog dana tekućeg ciklusa pridružuje mu se rFSH (Gonal-F, Serono, Geneva, Švicarska; Puregon, Organon, Oss, Nizozemska) u dozi 225 IU i postupno smanjuje na 150 IU u „step down“ načinu do primjene hCG. Odgovor jajnika mjereno je serumskom razinom E2 i ultrazvučnim mjerenjem rasta folikula.

U kratkom protokolu FSH korišten je od 2. dana tekućeg ciklusa. Debljina endometrija mjerena pri istim ultrazvučnim pregledima i izražena u milimetrima. Gonadotropinska stimulacija je prekinuta kada su bar dva folikula bila 16 – 17 mm promjera. Za završno sazrijevanje folikula korišten je rekombinantni hCG (Ovitrelle; Serono, Genova, Švicarska) u dozi 6500 IU. Nakon uspješne in vitro oplodnje, embriji (maksimalno tri) su transferirani u šupljinu maternice.



Slika 2. Standardni protokol indukcije ovulacije

Aspiracija jajnih stanica uslijedila je 36 - 38 sati nakon aplikacije hCG-a pod kontrolom transvaginalnog ultrazvuka.

Oocyte su potom numerirane i kultivirane u IVF mediju, a 3 - 5 sati nakon toga udružene sa spermijima. U slučaju fertilizacije zameci su ocjenjivani prema broju blastomera, obliku i fragmentaciji (gradus 1 - 4). Embrio s jednakim blastomerama, idealnom diobom (8-staničnog oblika, trećeg dana) s < 10 % fragmentacije bit će definirana kao gradus 1, odnosno embrio vrhunske kvalitete (eng. top-quality embryo).

Embriotransfer (ET) s najbolje ocijenjenim zamecima učinjen je 72 sata od aspiracije oocita. Progesteronska potpora žutom tijelu trajala je od aspiracije oocita do dana utvrđivanja trudnoće (17 dana od aspiracije oocita), odnosno u slučaju trudnoće do 10-og odnosno 12. tjedna trudnoće.

Primarni cilj istraživanja bio je ustvrditi i usporediti uspješnost progesteronskih preparata mjenjenih kliničkim nastavljujućim trudnoćama i stopom ranih pobačaja, a sekundarni cilj je bio ustvrditi i usporediti podnošljivost i prihvaćenost progesteronskih preparata u potpori žutom tijelu.

3.3. Utvrđivanje ishoda IVF postupka

Uspješnost postupka odnosno trudnoća utvrđivala se 14 dana nakon ET, pozitivnim nalazom serumske razine β hCG-a 10 mIU/L, dok je se klinička potvrda trudnoće učinjena potvrdnim ultrazvučnim nalazom gestacijske vreće s pozitivnim kucajima čedova srca u 6. tjednu trudnoće. Nastavljuća trudnoća definirana je pozitivnim kucajima čedova srca potvrđenim ultrazvučnim nalazom u 12. tjednu trudnoće. Ranim pobačajem smatrao se gubitak ploda koji je uslijedio unutar prvih 12 tjedana trudnoće.

Podnošljivost i prihvaćenost progesteronskih preparata bila je ispitana upitnicima koji su podijeljeni pacijenticama na dan ET. Podnošljivost preparata ispitana je pitanjima koja su se odnosila na prisutnost mučnine, povraćanja, opstipacije, bolova u trbuhu, vrtoglavice, glavobolje, napetosti u grudima, vaginalnog krvarenja, perianalne iritacije, pečenja i curenja preparata prilikom primjene. Odgovori su bili ponuđeni kao potvrdni („da“ odgovor) ili niječni („ne“ odgovor) za odgovarajuće simptome koje bi preparat mogao izazvati. Prihvaćenost preparata ispitana je upitnikom sa skalom od 1 do 5 pri čemu je 1 označavao „apsolutno nezadovoljan“, a 5 „apsolutno zadovoljan“.

Kriteriji uključivanja u istraživanja bili su: sve pacijentice podvrgnute stimulacijskim IVF/ICSI ciklusima, dob 18 - 45 godina, BMI (eng. body mass indeks, indeks tjelesne težine)

< 35 kg/m², rutinski „down regulation“ stimulacijski protokol s GnRH agonistima, manje od 3 prethodna IVF ciklusa i s barem jednom aspiriranom odnosno oplodjenom oocitom.

Kriteriji isključivanja iz istraživanja bili su: povijest disfunkcijskih uterinih krvarenja, ponavljani pobačaji (tri i više), akutna urogenitalna bolest, transfer smrznutih zametaka i prethodne alergijske reakcije na progesteronske preparate.

3.4. Određivanje ostalih IVF relevantnih parametara

U serumu ispitivane populacije određivan je: folikulstimulirajući hormon (FSH) i luteinizirajući hormon (LH), kao i njihov omjer, estradiol (E2), progesteron (P4), prolaktin (PRL), TSH (tireostimulirajući hormon), slobodni testosteron (fT), dihidroepiandrosteron-sulfat (DHEAS) i AMH (Anti-Müllerov hormon).

3.5. Opći demografski podaci pacijentica

Dob, BMI, primarni odnosno sekundarni uzrok neplodnosti, trajanje neplodnosti i prethodni broj stimuliranih ciklusa izvantjelesne oplodnje.

3.6. Karakteristike stimuliranog ciklusa

Uzrok neplodnosti, broj prethodnih IVF postupaka, broj utrošenih ampula gonadotropina, debljina endometrija, broj aspiriranih oocita, broj fertiliziranih oocita, broj transferiranih embrija, broj transferiranih embrija vrhunske kvalitete, stopa ranih pobačaja, stopa implantacija, serumska razina estradiola na dan hCG-a i stopa nastavljujućih kliničkih trudnoća.

3.7. Metodologija rada

- a) U prvom istraživanju nakon uspješne aspiracije oocita, pacijentice su podijeljene u dvije skupine, gdje je potpora žutom tijelu bila pružena u obliku progesteronskog vaginalnog gela Crinone 8 % 1 x 90 mg dnevno (Fleet Laboratories Ltd, Watford, Ujedinjeno Kraljevstvo), n = 140, odnosno Utrogestan 3 x 2 a 100 mg vaginalnih

kapsula mikroniziranog progesterona (Laboratories Besins International, Paris, Francuska), n = 145.

- b) U drugom istraživanju nakon uspješne aspiracije oocita, pacijentice su podijeljene u dvije skupine, gdje je potpora žutom tijelu u ispitivanoj skupini, n = 185, pružena u obliku kombinacije Crinone 8 % vaginalnog gela 1 x 90 mg dnevno i Utrogestan oralnih tableta mikroniziranog progesterona 3 x 100 mg dnevno. Kontrolna grupa, n = 185 primala je Crinone 8 % vaginalni gel 1 x 90 mg dnevno.
- c) U trećem istraživanju nakon uspješne aspiracije oocita, pacijentice su podijeljene u dvije skupine gdje je potpora žutom tijelu u ispitivanoj skupini, n = 415, bila pružena u obliku oralnog didrogesterona (Duphastone, Abbot Biologicals B.V., Olst, Nizozemska) 2 x 10 mg dnevno. Kontrolna grupa, n = 416, primala je Crinone 8 % vaginalni gel 1 x 90 mg dnevno.

3.8. Statističke metode

Standardizirana razlika aritmetičkih sredina, relativni rizik i 95 % interval pouzdanosti (95 % CI) su izračunati za svaku uključenu studiju u ovoj meta-analizi.

Za utvrđivanje varijabilnosti (inkonzistencije) između uključenih studija korišten je parametar I² gdje su vrijednosti od 25 %, 50 % i 75 % smatrane kao male, umjerene i visoko heterogene. Rendom efekt meta-analiza je korištena za analiziranje ukupnog efekta u slučajevima da je heterogenost između studija bila veća od 50 %. Veličina utjecaja (ES) je izračunata u slučajevima gdje su prikazani parametri srednje vrijednosti, standardne devijacije i broja ispitanica kako za eksperimentalnu tako i za kontrolnu grupu. U slučajevima gdje su rezultati prikazani kao broj događaja/slučajeva izračunat je relativni rizik (RR) nastanka pojave.

Relativni rizik je izračunat po sljedećoj formuli:

$$RR = (\text{broj rizičnih slučajeva u eksperimentalnoj grupi}) / (\text{broj rizičnih slučajeva u kontrolnoj grupi}) = (Se/Ne) / (Sk/Nk)$$

gdje su Ne i Nk ukupan broj slučajeva (ispitanika) a Se i Sk broj slučajeva koji su se dogodili.

Kod numeričkih podataka veličina utjecaja pojedinačnih studija kao i ukupnog efekta prikazana je kao standardizirana razlika u aritmetičkim sredinama (standardized difference in

means-ES). Veličina utjecaja izračunata je po sljedećoj formuli $ES = (\text{promjene u eksperimentalnoj grupi} - \text{promjene u kontrolnoj grupi}) / \text{SDPost-Pooled}$.

SDPost-Pooled je izračunata po sljedećoj formuli:

$$\text{SDPost-Pooled} = \sqrt{((n_1 - 1) \cdot [SD]_1^2 + (n_2 - 1) \cdot [SD]_2^2) / (n_1 + n_2 - 2)}$$

Izrada meta-analize učinjena je programom Comprehensive Meta-Analysis, verzija 3 (Biostat, Englewood, New Jersey). Statistički nivo značajnosti bio je $p < 0,05$.

Bibliografski podaci koji će biti korišteni obuhvaćaju tri do sada objavljena randomizirana vlastita istraživanja, a koji su imali cilj ispitati utjecaj učinka suplementacije progesteronom na ishod zanošenja u postupcima izvantjelesne oplodnje.

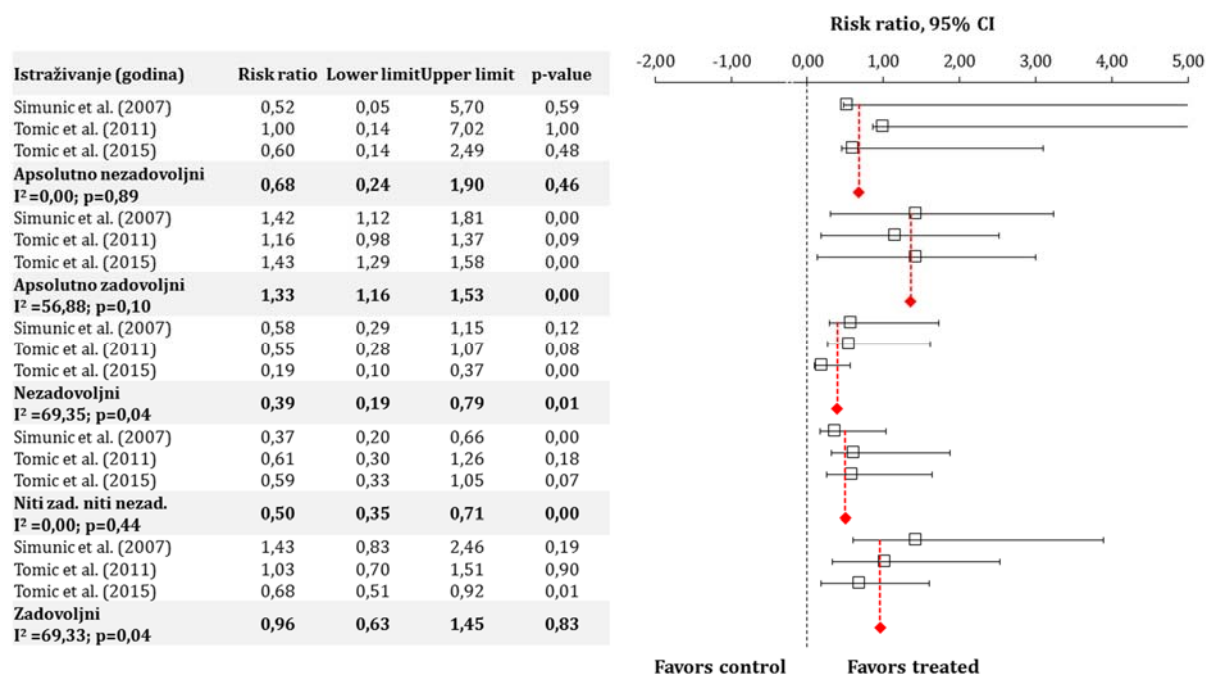
U meta-analizu ove doktorske disertacije uključena su istraživanja objavljena poslije postupka međunarodne recenzije i citirana u Current Contents (CC) bazi podataka. Randomizirana istraživanja uključena u predmetnu meta-analizu zadovoljavaju kriterij da je njima utvrđena i uspoređena uspješnost zanošenja (mjerena kliničkim trudnoćama) i stopa ranih pobačaja do 12. tjedna trudnoće između ispitanica koje su poslije embryo-transfera primale različite progesteronske preparate u svrhu potpore žutog tijela, a jednako tako i usporedba podnošljivosti, praktičnosti i jednostavnosti primjene po mišljenju pacijentica u postupku izvantjelesne oplodnje.

Uključena istraživanja u meta-analizu sadrže relevantne opće podatke o ispitanicama, količinu, vrstu, način i trajanje same progesteronske potpore žutom tijelu. U meta-analizi su opisani svi podaci za koje se smatralo da mogu utjecati na ispravnost dobivenih rezultata. Kategorijski podaci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Numerički podaci su opisani srednjom vrijednosti (aritmetičkom sredinom) i standardnom devijacijom (SD) u slučaju raspodjele koje slijede normalnu, a u ostalim slučajevima središnjom vrijednosti (medijanom) i granicama interkvartilnog raspona. Rezultati meta-analize, za varijable koje su kategorijske, prikazani su vrijednostima relativnog rizika.

4. REZULTATI

4.1. Zadovoljstvo korištenim progesteronskim preparatima u potpori žutom tijelu tijekom stimuliranih ciklusa izvantjelesne oplodnje

U niže navedenom prikazu (Slika 3.) analizirani su podaci promatranih randomiziranih kliničkih istraživanja o stupnju zadovoljstva pacijentica korištenim progesteronskim preparatom odnosu u slučaju kombinirane progesteronske potpore žutom tijelu – korištenim progesteronskim preparatima.



Slika 3. Stupanj zadovoljstva pacijentica korištenim progesteronskim preparatima u potpori žutom tijelu tijekom stimuliranih ciklusa izvantjelesne oplodnje

Skupina pacijentica koja je oralno uzimala progesteronske tablete (didrogesteron; Duphaston®) je 1,43 puta apsolutno zadovoljnija u usporedbi s promatranom skupinom pacijentica koje su imale terapiju vaginalnim progesteronskim gelom (Crinone 8 %®) (RR = 1,43; 95 % CI 1,29 – 1,58; p < 0,01). Gotovo identični rezultati (RR = 1,42; 95 % CI 1,12 – 1,81; p < 0,01) su zabilježeni i u usporedbi s uporabom vaginalnih P kapsula (Utrogestan®) i vaginalnog P gela, gdje je ostvaren puno viši stupanj apsolutnog zadovoljstva kod pacijentica koje su koristile vaginalni P gel u usporedbi s onima koje su koristile vaginalne P kapsule.

Statistički značajno ($p < 0,05$) više vrijednosti u stupnju zadovoljstva u svim promatranim istraživanjima su zabilježene kod pacijentica koje su primale vaginalni P gel, kombiniranu terapiju (oralne P kapsule Utrogestana + vaginalni P gel Crinone 8 %) odnosno oralne P tablete u odnosu na grupu koja je koristila vaginalni P kapsule. Jednako tako kombinacija P oralno primijenjenih kapsula i vaginalnog P gela je daleko prihvatljivija u pogledu apsolutnog zadovoljstva kod pacijentica u usporedbi s uporabom samo vaginalnog P gela (RR = 1,16; 95 % CI 0,98 – 1,37; $p < 0,01$).

S druge strane, stupanj apsolutnog nezadovoljstva je identičan prilikom kombinirane uporabe oralnih P kapsula i vaginalnog P gela i monoterapije vaginalnim P gelom (RR = 1,00; 95 % CI 0,14 – 7,07; $p = 1,00$). Također, vrlo slični rezultati u stupnju apsolutnog nezadovoljstva su zabilježeni u direktnoj usporedbi uporabe vaginalnih P kapsula u vag P gela (Utrogestan® vs. Crinone® 8 %; RR = 0,52). Najmanje nezadovoljnih pacijentica bilo je nakon oralne uporabe progesteronskih tableta, zatim kombinirane terapije (oralnih P kapsula i vaginalnog P gela), dok je najveći broj pacijentica bio nezadovoljan nakon uporabe vaginalnog P gela (Slika 3).

Rezultati u pogledu zadovoljstva pacijentica variraju od istraživanja do istraživanja s različitim podacima vezanim za uporabu progesteronskog gela, kapsula ili tableta bilo da se radi o oralnoj ili vaginalnoj uporabi istih. Ukupni učinak zadovoljstva je bez statistički značajnih ($p > 0,05$) razlika između promatranih načina aplikacije progesterona, gdje je RR = 0,96 (95 % CI 0,63 – 1,45; $p < 0,01$).

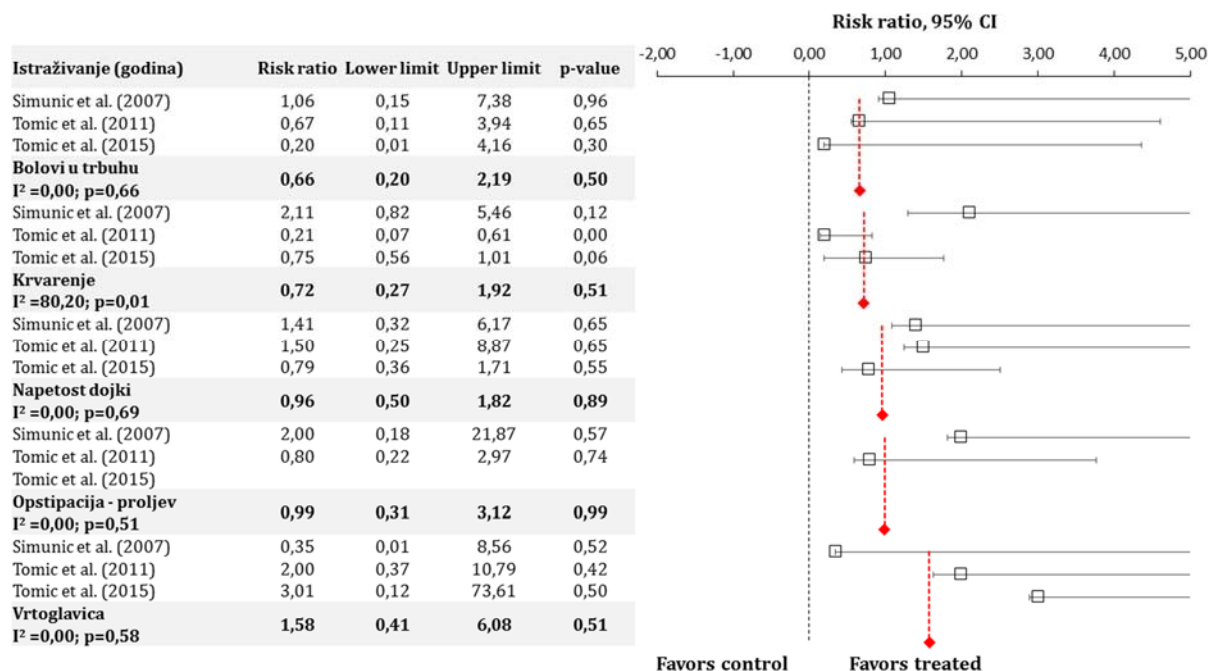
Tablica 1. Stupanj zadovoljstva pacijentica korištenim progesteronskim preparatima u potpori žutom tijelu tijekom stimuliranih ciklusa izvantjelesne oplodnje

	Effect size and 95 % interval			Test of null (2-Tail)		Heterogeneity		I-square	d	
	Risk ration	Lower limit	Upper limit	Z-value	P-value	Q-value	df (Q)			P-value
Fixed effect analysis										
Apsolutno nezadovoljni	0.68	0.24	1.90	-0.74	0.46	0.23	2.00	0.89	0.00	
Apsolutno zadovoljni	1.36	1.25	1.47	7.42	0.00	4.64	2.00	0.10	56.88	
Nezadovoljni	0.39	0.26	0.57	-4.77	0.00	6.52	2.00	0.04	69.35	
Niti zadovoljni niti nezadovoljni	0.50	0.35	0.71	-3.83	0.00	1.65	2.00	0.44	0.00	
Zadovoljni	0.87	0.70	1.08	-1.23	0.22	6.52	2.00	0.04	69.33	
							10.0			
Total within						19.56	0	0.03		
Total between						73.93	4.00	0.00		
Ukupno	1.18	1.10	1.27	4.54	0.00	93.49	14.00	0.00	85.02	

Tablica 1. nastavak

Mixed effects analysis								
Apsolutno nezadovoljni	0.68	0.24	1.90	-0.74	0.46			
Apsolutno zadovoljni	1.33	1.16	1.53	3.96	0.00			
Nezadovoljni	0.39	0.19	0.79	-2.61	0.01			
Niti zadovoljni niti nezadovoljni	0.50	0.35	0.71	-3.83	0.00			
Zadovoljni	0.96	0.63	1.45	-0.21	0.83			
Total within								
Total between						35.45	4.00	0.00
Ukupno	1.10	0.97	1.24	1.52	0.13			

4.2. Podnošljivost progesteronskih preparata u potpori žutom tijelu u stimuliranim ciklusima izvantjelesne oplodnje



Slika 4a. Usporedba podnošljivosti progesteronskih preparata u potpori žutom tijelu

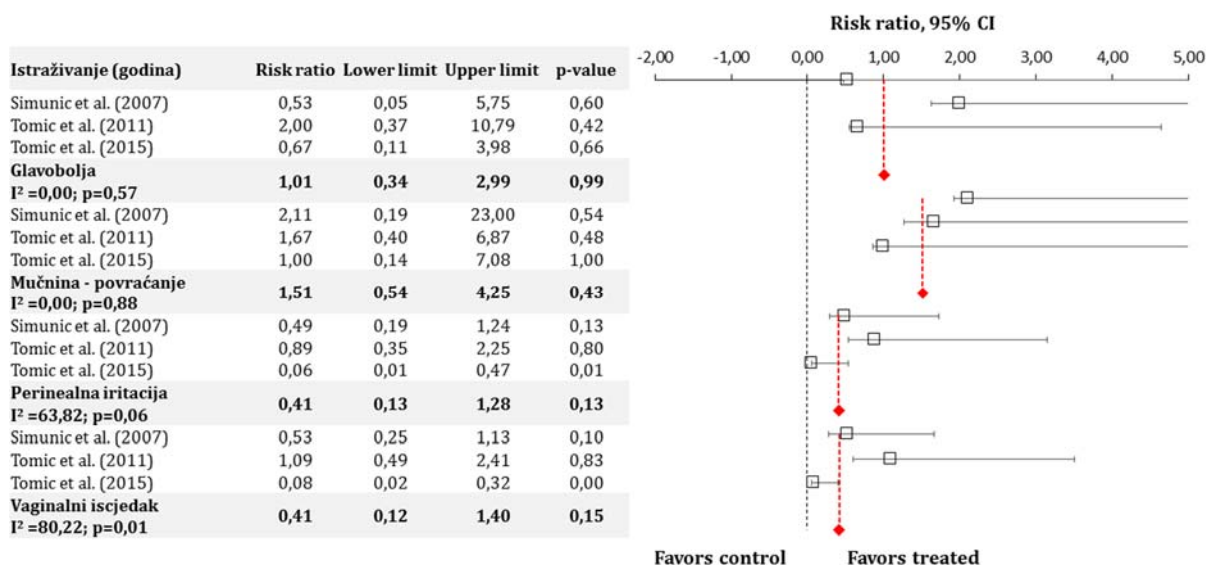
Rezultati pokazuju da je primjetan neznatno veći broj bolova u trbuhu nakon uporabe vaginalnog P gela u usporedbi s oralnom uporabom progesteronskih tableta (RR = 0,20; 95 % CI 0,01 – 4,16; p = 0,30), ali ove vrijednosti nisu statistički značajne jer je apsolutni broj zabilježenih slučajeva jako mali (0 vs 2). S druge strane, kada je riječ o uporabi vaginalnih P kapsula ili vag P gela rezultati u pogledu abdominalnog bola su gotovo identični (RR = 1,06; 95 % CI 0,15 – 7,38; p = 0,96). Ukupno gledano, ne postoji statistički značajna razlika (p < 0,05) između promatranih slučajeva oralne uporabe P tableta, vaginalne uporabe P kapsula, kombinacije oralnih P kapsula i vaginalnog P gela i samog vaginalnog P gela (RR = 0,66; 95 % CI 0,20 – 2,19; p = 0,50).

Krvarenje je 2,11 puta učestalije kod pacijentica koje su koristile vaginalni P gel u usporedbi s pacijenticama koje su koristile Utrogestan vaginalne P kapsule (RR = 2,11; 95 % CI 0,82 – 5,46; p = 0,12), ali ove vrijednosti nisu statistički značajno različite (p > 0,05). Za razliku od toga, statistički značajna razlika (p < 0,05) je utvrđena između kombinirane uporabe oralnih P kapsula i vaginalnog P gela u odnosu na monoterapiju vaginalnim P gelom gdje je pojavnost krvarenja 79 % veća u slučaju kada se koristi samo vaginalni P gel (RR = 0,21; 95 % CI 0,07 – 0,61; p < 0,01). Jednako tako krvarenja su puno učestalija kod uporabe vaginalnog P gela u usporedbi s uporabom oralnih P tableta didrogesterona.

Rezultati podnošljivosti primijenjenih progesteronskih preparata, po pitanju napetosti dojki, su kontradiktorni od istraživanja do istraživanja, tako da je ukupni rezultat bez nekih statistički značajnih razlika ($p > 0,05$) između promatranih načina uporabe progesteronske potpore žutom tijelu (RR = 0,96; 95 % CI 0,50 – 1,82; $p = 0,89$). Isto tako, ukupan broj zabilježenih slučajeva je vrlo sličan između vaginalnog progesteronskog gela (N = 20) i ostalih načina primjene progesteronske potpore žutom tijelu (N = 17).

Zanimljivo je kako u istraživanju Tomić et al. (2015.) (Slika 4a) nije zabilježen niti jedan slučaj opstipacije/proljeva niti kod oralne uporabe P tableta niti kod uporabe vaginalnog progesterona gela. No pojava meteorizma crijeva ipak je evidentirana (N = 4 uz uporabu oralnih P tbl., N = 5 uz uporabu vaginalnog P gela, vidi Prilog 3). Pored toga, u analizama ostalih istraživanja uočen je nesignifikantan broj zabilježenih slučajeva pojave opstipacije/proljeva: uz vaginalni P gel šest slučajeva, četiri slučaja uz uporabu oralnih P tbl. i dva uz uporabu kombinirane P terapije, što čini RR = 0.99.

Najveći je broj slučajeva vrtoglavice zabilježen kada su pacijentice uzimale kombiniranu terapiju, uključujući oralnu uporabu progesteronskih kapsula (Utrogestan) i vaginalnog progesteronskog gela (Crinonin 8 %) koji je dovodio do 2 puta veće učestalosti vrtoglavice u usporedbi s monoterapijom vaginalnim P gelom (RR = 2,00; 95 % CI 0,37 – 10,79; $p = 0,42$). Ukupno gledano, vrtoglavica je 1,58 puta učestalija uz primjenu kombinirane (oralno-vaginalne P) odnosno vaginalnih P kapsula u odnosu na primjenu samog vaginalnog P gela. Zanimljivo, primjena oralnih P tableta dovela je u samo jednom slučaju do pojave simptoma vrtoglavice (Slika 4a.).



Slika 4b. Usporedba podnošljivosti progesteronskih preparata u potpori žutom tijelu

Identični rezultati kao i kod vrtoglavice u radu Tomić et al. (2011.), zabilježeni su i u parametru glavobolje gdje je stupanj ispoljavanja glavobolje dva puta veći kod kombinirane uporabe oralnih progesteronskih kapsula (Utrogestan) i vaginalnog progesteronskog gela (Crinonin 8 %) u usporedbi s monoterapijom vaginalnim progesteronskim gelom (Slika 5). Međutim, nije zabilježena statistički značajna razlika u ukupnom rezultatu kada se zbroje pojedinačni učinci uključenih studija u meta-analizu (RR = 1,01; 95 % CI 0,34 – 2,99; p = 0,99).

Jednako tako, kod pacijentica nije zabilježena statistički značajna razlika u ukupnom rezultatu pojave simptoma mučnine i povraćanja kada se zbroje učinci uključenih istraživanja u meta-analizu (RR = 1,13; 95 % CI 0,41 – 3,11; p = 0,81). Broj zabilježenih slučajeva nakon uporabe vaginalnog P gela (N = 7) nešto je manji u odnosu na sve ostale primijenjene puteve aplikacije progesterona (N = 8). Rezultati pokazuju da je nešto veći broj slučajeva utvrđen nakon kombinirane uporabe oralnih P kapsula i vaginalne progesteronskog gela (N = 5), ali isto bez statistički značajnih razlika.

Statistički značajna razlika (p < 0,01) utvrđena je kod perinealne iritacije nakon uporabe vaginalnog progesteronskog gela (Crinone 8 %) gdje je relativni rizik nastanka iritacije 94 % veći kada se usporedi s oralnim P tabletama didrogesterona (RR = 0,06; 95 % CI 0,01 – 0,47; p < 0,01). S druge strane, rezultati nisu statistički značajni (p > 0,05) ako usporedimo apsolutni rizik između kombinirane terapije oralnih P kapsula i vaginalnog P gela (N = 8), i samog vaginalnog P gela (N = 9). Jednako tako nije utvrđena statistički značajna razlika ni između vaginalnih progesteronskih kapsula i vaginalnog P gela u perinearnoj iritaciji (RR = 0,49; 95 % CI 0,19 – 1,24; p > 0,05).

Vrlo slični rezultati uočeni su i kod pojavnosti vaginalnog iscjetka, gdje je statistički značajno (p < 0,01) veća razlika u ovom parametru kod grupe koja je koristila vaginalni progesteronski gel u odnosu na oralne P tablete didrogesterona s vrijednostima relativnog rizika većim od 90 %. Zanimljivo je kako su samo dva slučaja vaginalnog iscjetka primijećena kod grupe pacijentica koja je koristila oralne P tablete u odnosu na 26 slučajeva prilikom primjene vaginalnog P gela (Slika 4b; Tablica 2).

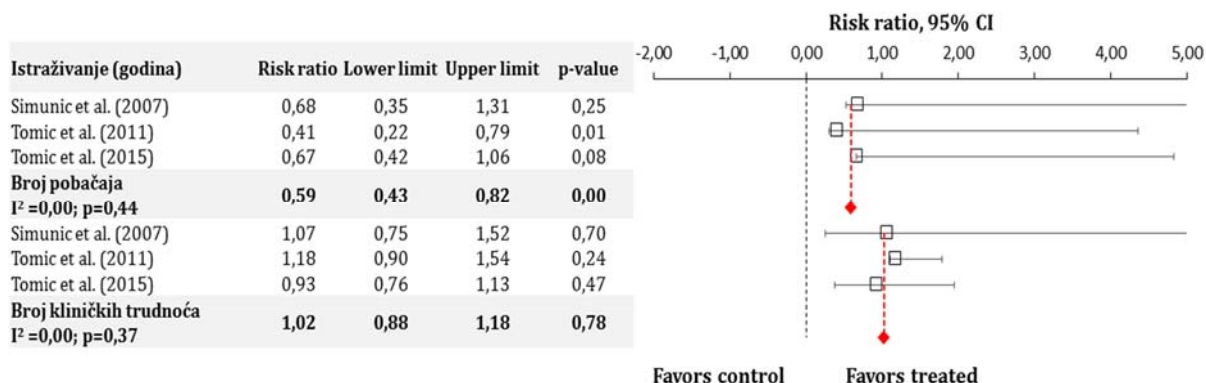
Ukupno gledano, relativni rizik nastanka vaginalnog iscjetka je 30 % veći kod primjene vaginalnog progesteronskog gela (Crinonin 8 %) u usporedbi sa svim ostalim primijenjenim metodama progesteronske potpore žutom tijelu.

Tablica 2. Usporedba podnošljivosti progesteronskih preparata u potpori žutom tijelu

	Effect size and 95 % interval			Test of null (2-Tail)		Heterogeneity		P-value	I-squared
	Risk ratio	Lower limit	Upper limit	Z-value	P-value	Q-value	df (Q)		
Fixed effect analysis									
Bolovi u trbuhu	0.66	0.20	2.19	-0.68	0.50	0.82	2.00	0.66	0.00
Krvarenje	0.75	0.57	0.99	-2.04	0.04	10.10	2.00	0.01	80.20
Napetost dojki	0.96	0.50	1.82	-0.14	0.89	0.75	2.00	0.69	0.00
Opstipacija-proljevi	0.99	0.31	3.12	-0.02	0.99	0.43	1.00	0.51	0.00
Vrtoglavica	1.58	0.41	6.08	0.66	0.51	1.08	2.00	0.58	0.00
Glavobolja	1.01	0.34	2.99	0.01	0.99	1.12	2.00	0.57	0.00
Mučnina-povraćanje	1.51	0.54	4.25	0.78	0.43	0.26	2.00	0.88	0.00
Perinealna iritacija	0.53	0.28	0.98	-2.01	0.04	5.53	2.00	0.06	63.82
Vaginalni iscjedak	0.56	0.33	0.93	-2.22	0.03	10.11	2.00	0.01	80.22
Total within						30.20	17.00	0.02	
Total between						6.53	8.00	0.59	

Ukupno	0.75	0.62	0.91	-2.85	0.00	36.73	25.00	0.06	31.94	
<hr/>										
Mixed effects analysis										
Bolovi u trbuhu	0.66	0.20	2.19	-0.68	0.50					
Krvarenje	0.72	0.27	1.92	-0.66	0.51					
Napetost dojki	0.96	0.50	1.82	-0.14	0.89					
Opstipacija-proljev	0.99	0.31	3.12	-0.02	0.99					
Vrtoglavica	1.58	0.41	6.08	0.66	0.51					
Glavobolja	1.01	0.34	2.99	0.01	0.99					
Mučnina-povraćanje	1.51	0.54	4.25	0.78	0.43					
Perinealna iritacija	0.41	0.13	1.28	-1.53	0.13					
Vaginalni iscjedak	0.41	0.12	1.40	-1.43	0.15					
<hr/>										
Total within										
Total between						5.51	8.00	0.70		
Ukupno	0.85	0.61	1.20	-0.92	0.36					
<hr/>										

4.3. Analiza učinkovitosti progesteronske potpore žutom tijelu mjerena brojem kliničkih nastavljaćih trudnoća i ranih pobačaja



Slika 5. Kliničke nastavljaće trudnoće i rani pobačaji prilikom primjene različitih progesteronskih preparata

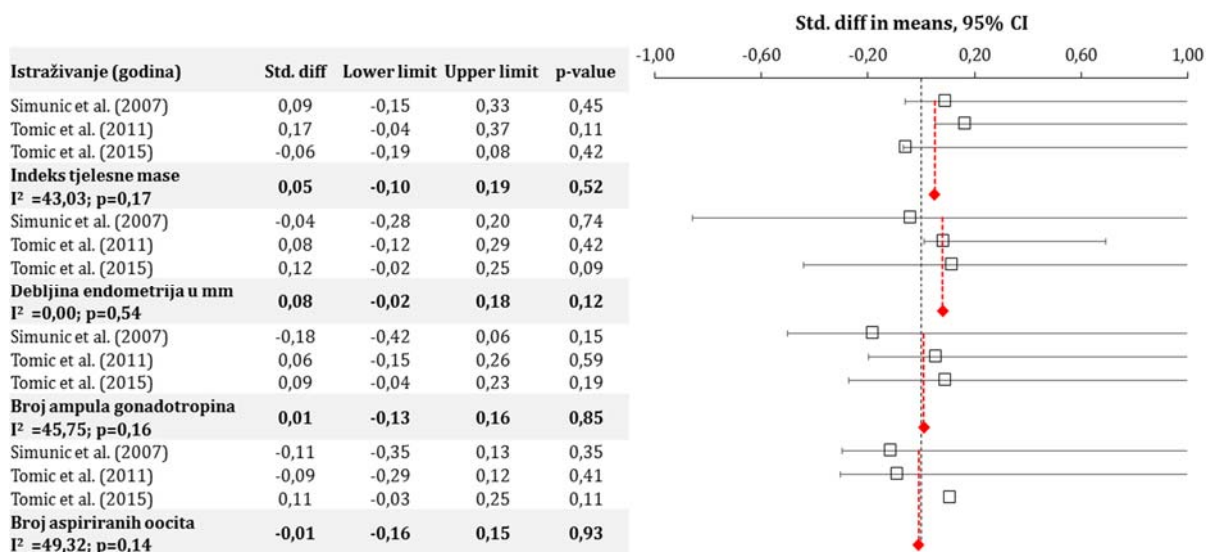
Statistički značajno manji broj ranih pobačaja utvrđen je kod pacijentica koje su uzimale kombiniranu terapiju (oralne progesteronske kapsule + vaginalni progesteronski gel) u usporedbi s vaginalnim progesteronskim gelom (Crinone 8 %) (RR = 0,41; 95 % CI 0,22 – 0,79; $p < 0,01$). Ovi rezultati pokazuju da je relativni rizik nastanka pobačaja za 60 % manji kod pacijentica koje su primale kombiniranu P terapiju u usporedbi s monoterapijom vaginalnim P gelom. Nasuprot tome, vaginalni progesteronski gel pokazuje bolje rezultate, odnosno manji broj ranih pobačaja, u usporedbi s vaginalnim progesteronskim kapsulama (Utrogestan) gde je relativni rizik 30 % manji kod uporabe gela. Oralne progesteronske tablete, s druge strane, pokazuju manji relativni rizik za nastanak ranog pobačaja od 33 % u usporedbi s uporabom vaginalnog P gela; vrijednost nije statistički značajna, iako relativno blizu iste ($p = 0,08$). Ukupno gledajući postoji statistički značajna razlika ($p < 0,05$) između uporabe vag P gela Crinone i ostalih primijenjenih metoda P potpore, u smislu pojave većeg broja pobačaja.

Kada je riječ o broju kliničkih trudnoća rezultati u svim istraživanjima su ujednačeni, tako da ne postoji statistički značajna ($p > 0,05$) razlika između primijenjenih načina progesteronske potpore žutom tijelu. Drugim riječima, svi primijenjeni progesteronski pripravci, kao i načini njihove primjene, bili su gotovo podjednako uspješni u održavanju i nastavku kliničke trudnoće. Zanimljivo je primijetiti kako su vrijednosti RR (relativnog rizika) približno jednake u svim uključenim istraživanjima i kreću se u rasponu od 0,93 do 1,18 što nedvosmisleno pokazuje da su primijenjene terapijske metode podjednake (Slika 5.).

Tablica 3. Broj pobačaja i kliničkih nastavljujućih trudnoća prilikom primjene različitih progesteronskih preparata

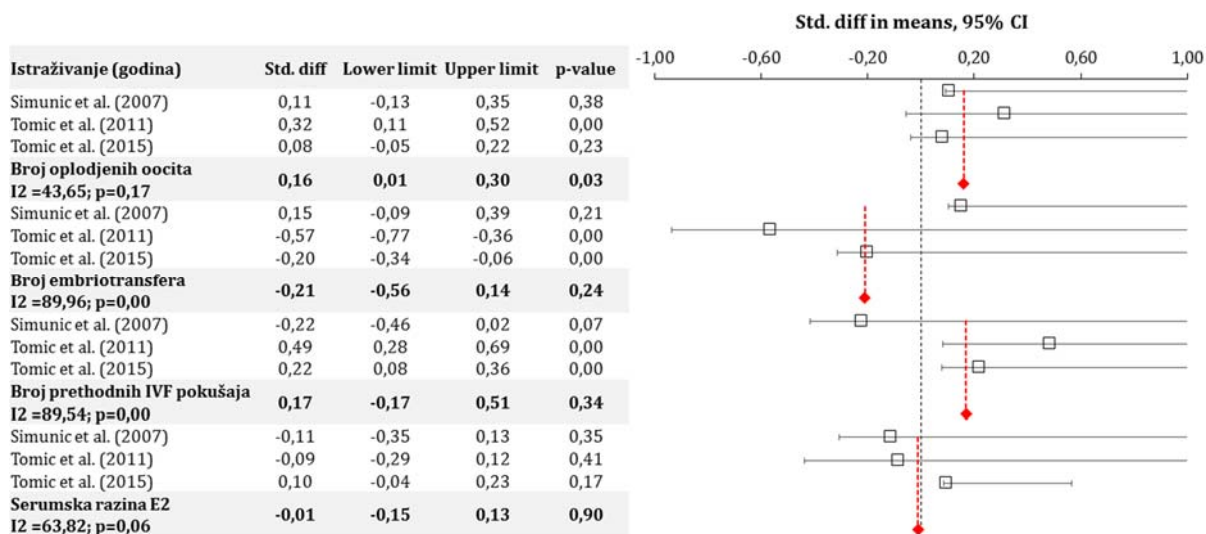
	Effect size and 95 % interval			Test of null (2-Tail)		Heterogeneity		P-value	I-square
	Risk ratio	Lower limit	Upper limit	Z-value	P-value	Q-value	df (Q)		
Fixed effect analysis									
Broj pobačaja	0.59	0.43	0.82	-3.15	0.00	1.64	0	0.44	0.00
Broj kliničkih trudnoća	1.02	0.88	1.18	0.27	0.78	1.99	0	0.37	0.00
Total within						3.63	0	0.46	
Total between						8.92	0	0.00	
Ukupno	0.93	0.82	1.06	-1.05	0.30	5	0	0.03	60.16
Mixed effects analysis									
Broj pobačaja	0.59	0.43	0.82	-3.15	0.00				
Broj kliničkih trudnoća	1.02	0.88	1.18	0.27	0.78				
Total within							1.0		
Total between						8.92	0	0.00	
Ukupno	0.93	0.82	1.06	-1.05	0.30				

4.4. Karakteristike pacijentica i stimuliranog ciklusa izvantjelesne oplodnje



Slika 6a. Opći podaci pacijentica i karakteristike stimuliranog ciklusa

Rezultati ukazuju da ne postoji statistički značajna razlika ($p > 0,05$) u indeksu tjelesne mase kod pacijentica u svim promatranim istraživanjima. Debljina endometrija izražena u mm gotovo je identičnih vrijednosti, odnosno bez statističke značajnosti ($p > 0,05$) između pacijentica ($p = 0,12$). Najveća utvrđena razlika u debljini endometrija je između pacijentica koje su koristile oralne progesteronske tablete i vaginalni progesteronski gel (ES = 0,12; 95 % CI -0,02 – 0,25), ali bez statističke značajnosti ($p = 0,09$). Trivijalni efekt size (ES) utvrđen je i u ostalim promatranim parametrima, kao što su broj ampula gonadotropina (ES = 0,01; $p = 0,85$) i broj aspiriranih oocita (ES = -0,01; $p = 0,93$); odnosno nije bilo statistički značajne razlike.



Slika 6b. Opći podaci pacijentica i karakteristike stimuliranog ciklusa

Broj je oplođenih oocita statistički značajno ($p < 0,05$) veći kod pacijentica koje su primale kombiniranu terapiju, uključujući oralne progesteronske kapsule i vaginalni progesteronski gel u usporedbi s grupom koja je uzimala samo vaginalni progesteronski gel (ES = 0,32; 95 % CI 0,11 – 0,52). Nasuprot tome, u usporedbi između primjene vaginalnih progesteronskih kapsula i vaginalnog progesteronskog gela kao i usporedbi primjene oralnih progesteronskih tableta i vaginalnog progesteronskog gela, nije pronađena statistički značajna razlika ($p > 0,05$; Slika 6b).

Kada je riječ o broju embrio transfera, zabilježen je statistički značajan, umjereni ES (ES = -0,57; $p < 0,05$), u korist grupe koja je primala vaginalni progesteronski gel u usporedbi s grupom koja je primala kombiniranu P terapiju (oralne progesteronske kapsule + vaginalni progesteronski gel). Međutim, u dodatnoj analizi, kada su uspoređivani transferi embrija top kvalitete, došlo je do smanjenja ES (ES = -0,28), odnosno smanjenja statistički značajne razlike između vaginalnog progesteronskog gela u odnosu na kombiniranu P terapiju.

Nešto manji ES, ali statistički značajan ($p < 0,05$) utvrđen je i kada su uspoređivani vaginalni progesteronski gel i oralne progesteronske tablete (Duphaston) i to u korist vaginalnog gela (ES = -0,20; 95 % CI -0,34 – -0,06). Međutim, u provedenoj dodatnoj analizi broja transferiranih embrija top kvalitete, došlo je do obrata učinka odnosno utvrđen je ES = 0,78; (95 % CI 0,64 – 0,92) u korist oralnih progesteronskih tableta u odnosu na vaginalni P gel.

Nasuprot tome, nije zabilježena statistički značajna razlika ($p > 0,05$) kada su uspoređivane vaginalne progesteronske kapsule (Utrogestan) i vaginalni progesteronski gel (Crinone 8 %).

Za razliku od embrionalnih transfera, broj prethodnih IVF/ICSI pokušaja je statistički značajno veći nakon kombinirane terapije oralnim P kapsulama Utrogestana i vaginalnog P gela Crinone 8 % u usporedbi s monoterapijom vaginalnim progesteronskim gelom (ES = 0,49; 95 % CI 0,28 – -0,69, $p < 0,05$). Jednako tako, statistička značajnost ($p < 0,05$) utvrđena je i u korist oralnih progesteronskih tableta u usporedbi s vaginalnim progesteronskim gelom (ES = 0,22; 95 % CI 0,08 – 0,36).

Za razliku od prethodno navedenih statistički značajnih razlika u usporedbi vaginalnih progesteronskih kapsula i vaginalnog progesteronskog gela, nisu utvrđene statistički značajne razlike ($p > 0,05$) u broju prethodnih IVF/ICSI ciklusa.

Ukupan ES serumske razine E2 pokazuje da su sve primijenjene terapije ostvarile gotovo identične rezultate bez statističke značajnosti između: 1) vaginalnih progesteronskih kapsula i vaginalnog progesteronskog gela (ES = -0,11; 95 % CI -0,35 – 0,13; p = 0,35); 2) kombinirane terapije (oralne P kapsule + vaginalni P gel) i monoterapije vaginalnim P gelom (ES = -0,09; 95 % CI -0,29 – 0,12; p = 0,41); 3) oralnih progesteronskih tableta i vaginalnog progesteronskog gela (ES = 0,10; 95 % CI -0,04 – 0,23; p = 0,17).

Tablica 4. Opći podaci pacijentica i karakteristike stimuliranog ciklusa

	Effect size and 95 % confidence interval					Test of null (2-Tail)		Heterogeneity		P-value	I-squared
	Point estimate	Standard error	Variance	Lower limit	Upper limit	Z-value	P-value	Q-value	df (Q)		
Fixed effect analysis											
Indeks tjelesne mase	0.03	0.05	0.00	-0.08	0.13	0.52	0.60	3.51	2.00	0.17	43.03
Debljina endometrija u mm	0.08	0.05	0.00	-0.02	0.18	1.54	0.12	1.25	2.00	0.54	0.00
Broj utrošenih ampula gonadotropina (75IU)	0.03	0.05	0.00	-0.07	0.14	0.66	0.51	3.69	2.00	0.16	45.75
Broj aspiriranih oocita	0.02	0.05	0.00	-0.08	0.12	0.39	0.70	3.95	2.00	0.14	49.32
Broj oplođenih oocita	0.15	0.05	0.00	0.04	0.25	2.79	0.01	3.55	2.00	0.17	43.65
Broj embriotransfera	-0.23	0.05	0.00	-0.33	-0.12	-4.28	0.00	19.93	2.00	0.00	89.96
Broj prethodnih IVF ili ICSI pokušaja	0.21	0.05	0.00	0.10	0.31	3.92	0.00	19.11	2.00	0.00	89.54
Serumska razina estradiola na dan punkcije oocita	0.01	0.05	0.00	-0.09	0.11	0.23	0.82	3.36	2.00	0.19	40.47
Total within								58.34	16.00	0.00	

Total between								40.59	7.00	0.00	
Ukupno	0.04	0.02	0.00	0.00	0.07	2.04	0.04	98.93	23.00	0.00	76.75
<hr/>											
Mixed effects analysis											
Indeks tjelesne mase	0.05	0.07	0.01	-0.10	0.19	0.65	0.52				
Debljina endometrija u mm	0.08	0.05	0.00	-0.02	0.18	1.54	0.12				
Broj utrošenih ampula 75 IU gonadotropina	0.01	0.08	0.01	-0.13	0.16	0.19	0.85				
Broj aspiriranih oocita	-0.01	0.08	0.01	-0.16	0.15	-0.08	0.93				
Broj oplođenih oocita	0.16	0.07	0.01	0.01	0.30	2.15	0.03				
Broj embriotransfera	-0.21	0.18	0.03	-0.56	0.14	-1,17	0.24				
Broj prethodnih IVF ili ICSI pokušaja	0.17	0.17	0.03	-0.17	0.51	0.96	0.34				
	-0.01	0.07	0.01	-0.15	0.13	-0,13	0.90				
<hr/>											
Total within											
Total between								6.49	7.00	0.48	
Ukupno	0.05	0.03	0.00	0.00	0.10	1.81	0.07				
<hr/>											

5. RASPRAVA

Izvantjelesna po definiciji WHO-a je medicinski postupak koji uključuje izvantjelesne postupke s humanim oocitama i humanim spermijima odnosno embrijima u cilju postizanja trudnoće (84).

To uključuje, postupke IVF, ICSI, ET, GIFT, ZIFT, TET, zamrzavanje gameta i zametaka (FET), donaciju oocita i embrija te surogat trudnoće. U ovoj doktorskoj disertaciji bili su uključeni postupci izvantjelesne oplodnje IVF, ICSI i ET. Kontrolirana ovarijska hiperstimulacija započinje u dugom stimulacijskom protokolu od 21. dana prethodnog ciklusa, a u kratkom protokolu od trećeg dana tekućeg ciklusa, trajanje primjene je od 6 do 12 dana, ponekad i dulje ovisno o odgovoru jajnika na stimulaciju. Doza FSH uobičajeno je bila 200 - 225 I.E. na dan u tzv. step-down protokolu. Korištene su ampule gonadotropina u dozi od 75 I.E. odnosno sustavi s mogućom regulacijom doz (Pen od 900 I.E. rFSH). U ovoj doktorskoj disertaciji, odnosno njoj pripadajućim istraživanjima, korišteni su FSH preparati Gonal F i Puregon, između koji do sada nije utvrđena statistički značajna razlika u pogledu učinkovitosti, uspjeha postupka odnosno rizika primjene (85-87).

Luteinska faza KOH započinje od aspiracije oocita (oko 36 sati od primjene egzogenog hCG-a) do pojave menstruacije odnosno u slučaju trudnoće do ukupno 10. odnosno 12. tjedna trudnoće (detaljno opisano u metodologiji istraživanja). U izvantjelesnoj oplodnji potpora lutealnoj fazi je pojam koji se koristi kako bi se opisala uporaba lijekova s ciljem potpore procesu implantacije i rane trudnoće.

Preparati progesterona korišteni u lutealnoj potpori bili su oralne kapsule progesterona 3 x 100 mg (Utrogestan) i vaginalni progesteronski gel (Crinone 8 %) 1 x 90 mg u kombiniranoj terapiji, te u monoterapiji oralne tablete didrogesterona (Duphaston) 2 x 10 mg, vaginalne kapsule progesterona (Utrogestan) i vaginalni progesteronski gel (Crinone 8 %) 1 x 90 mg.

Potpore žutom tijelu standardan je postupak u stimuliranim ciklusima izvantjelesne oplodnje, ali za razliku od protokola stimulacije ovulacije (dakle folikulinske faze KOH), kultura (medija) za pohranu embrija i laboratorijskih postupaka u medicinski pomognutoj oplodnji nije zadobila ni približno takav znanstveni interes i promjene u zadnjih 30 godina, iako je bitan čimbenik uspjeha implantacije i podržavanja rane trudnoće. Kako bi se razlozi potpore žutom tijelu mogli bolje razlučiti, potrebno je objasniti razlike između normalnog menstrualnog ciklusa i specifičnosti stimuliranog ciklusa pomognute oplodnje.

Menstrualni ciklus žene (85) je kompleksan odnos hormonskog dijaloga između GnRH, FSH, LH, E2 i P4. Dužina prirodnog menstrualnog ciklusa klasično se izračunava od prvog dana prethodnog menstrualnog krvarenja do pojave menstrualnog krvarenja u idućem ciklusu. Medijan trajanja mu je 28 dana, a većina ciklusa u žena ima trajanje od 25 do 30 dana.

Menstrualni ciklus (85) može se podijeliti u dvije faze: folikulinsku ili proliferativnu i luteinsku ili sekrecijsku fazu. Folikulinska faza počinje s prvim danom menstrualnog krvarenja nakon ovulacije, a razvoj ovarijskih folikula karakterizira ovu fazu ciklusa. Skok LH izazvan je drastičnim porastom u produkciji estradiola od strane preovulatornih folikula i rezultira u posljedičnoj ovulaciji. Skok LH stimulira luteinizaciju granulosa stanica i sintezu progesterona koja je odgovorna za skok FSH tijekom sredine menstrualnog ciklusa. Također, LH skok potiče nastavak mejoze i završetak podjele jajne stanice s izbacivanjem prvog polarnog tijela. U većine žena luteinska faza traje 14 dana. Ukoliko nije došlo do nastanka trudnoće, dolazi do propadanja žutog tijela. Rezultirajući pad progesterona dovodi do nastanka menstrualnog krvarenja.

U stimuliranim ciklusima izvantjelesne oplodnje postoje specifičnosti i različitosti u odnosu na normalni menstrualni ciklus žene. Ključna razlika je da tijekom KOH postoji kontinuirani razvoj većeg broja folikula u odnosu na prirodni menstrualni ciklus žene. Primjena egozgenih gonadotropina kod kontrolirane ovarijske hiperstimulacije druga je bitna razlika, a ona vodi ka suprafiziološkim razinama cirkulirajućeg FSH tijekom folikularne faze ciklusa. Te razine FSH su veće i vrlo različitog obrasca djelovanja (ponašanja) u usporedbi s onim viđenim tijekom normalnog menstrualnog ciklusa (88).

Nekoliko je istraživanja ukazalo na povišenu koncentraciju progesterona u kasnoj folikulinskoj fazi uz primjenu GnRH agonista i antagonista (tj. u očitoj odsutnosti povišenog LH) (89). Što čini još jednu razliku KOH prema normalnom menstrualnom ciklusu.

Istraživanje Ubaldi i suradnika upućuje na to da povišenim FSH potaknuta LH receptivnosti u granulosa stanicama može biti čimbenik u izazivanju prerane luteinizacije (90).

U drugom istraživanju, u kojem je promatrana koncentracija progesterona i LH u luteinskoj fazi bez egzogene podrške žutom tijelu, podaci su također pokazali kako porast razine progesterona prati povišenje razine FSH (91).

Egzogeni FSH koji djeluje na granulosa stanice vjerojatno će povisiti cirkulirajuću razinu progesterona, jer je nejasno da li LH potiče teka stanica na proizvodnju androgene na štetu odnosno utrošak progesterona. Pozitivna korelacija između porasta LH i progesterona je

utvrđena u radu Bunguma i sur. (92). Taj porast progesterona može biti preran da bi podržao implantaciju.

Nekoliko je istraživanja pokazalo da razine progesterona, bliže donjoj granici na dan primjene hCG-a, koreliraju s višim postotkom trudnoća (93). Brojna su istraživanja pokazala kako prerani skok progesterona nepovoljno djeluje na stopu živorođenih (17 - 22) tijekom transfera embrija u svježem (postojećem) IVF ciklusu. Ovaj fenomen (prerana luteinizacija) je jedinstven u svježim ciklusima kada su jajnici potaknuti na hiperstimulaciju folikula uporabom egzogenih gonadotropina (94-98).

Prerani skok LH uzrokuje 5 – 30 % vjerojatnosti za preovulatorni skok (razine) progesterona tijekom IVF ciklusa i odgovoran je za prerano sazrijevanje endometrija (lošu endometrijsku receptivnost) (99).

LH i FSH aktivnost važni su pokretači koncentracija hormona estradiola, progesterona i androstendiona. Tijekom KOH, povećana razina progesterona povezana je s povećanim brojem folikula, a time i ukupnim brojem granulosa stanica i povećanom osjetljivošću na niže razine LH. Tako da porast LH može izazvati dodatno ograničeno povećanje intrafolikularne razine progesterona.

U KOH, razina steroidogeneze po folikulu se ne povećava, ali se povećava ukupna steroidna produkcija u skladu s povećanjem broja rastućih folikula i stanica.

U stimuliranim ciklusima izvantjelesne oplodnje ukupno gledajući razine progesterona su nedostatne i prirodni je proces njegovog lučenja nedovoljan za održavanje trudnoće. Razlozi ove pojave su raznovrsni. Kada dođe do trudnoće blastocista izlučuje hCG i održava žuto tijelo i njegovu sekreciju hormona progesterona i estrogena (100). Smatralo se ranije kako je aspiracija oocita, i s tim nastala oštećenja granulosa stanica, jedan od uzročnika posljedične disfunkcije žutog tijela i progesteronske insuficijencije (101), ali ta je hipoteza poslije odbačena.

Novije su spoznaje govore kako je uzrok nedostatne funkcije žutog tijela u stimuliranim IVF/ICSI ciklusima povezan sa suprafiziološkim razinama steroida (102). Tijekom ovarijske hiperstimulacije s GnRh analogima dolazi do blokade prerane ovulacije i skoka LH i uporabe hCG kao okidača za ovulaciju što vodi ka hiperstimulacije žutih tijela tijekom rane luteinska faza i u konačnici rezultira suprafiziološkim razinama estrogena i progesterona. Estrogen i progesteron potom mehanizmom negativne povratne sprege, smanjuju izlučivanje LH iz hipofize (103).

Stoga je kontinuirano oslobađanje progesterona iz žutih tijela ovisno o egzogenoj LH-sličnoj aktivnosti (ili HCG-u iz implantiranog embrija) (103). Izostanak kontinuiranog oslobađanja P vodi ka defektnoj lutealnoj fazi u važnom vremenskom prozoru za nastanak trudnoće. Nadalje, utjecaj HCG bolusa i naknadnog rizika od hiperstimulacijskog sindroma jajnika rezultirala je smanjenjem HCG bolusa od 10,000 IU na 6500 - 5000 IU, što povećava nedostatak HCG/LH tijekom rane/srednje luteinska faza.

Nedostatak srednjeg lutealnog HCG/LH rezultira promijenjenim profilom progesterona koji pokazuje najvišu koncentraciju tijekom rane luteinska faza, suprotno srednjem lutealnom vrhu koji se vidi u prirodnom menstrualnom ciklusu.

Progesteronski bazirana luteinska potpora rutinski se preporučuje u svim ciklusima medicinski pomognute oplodnje (MPO) (19, 104).

Iako su neosporni dokazi o koristi lutealne potpore nakon stimuliranih ciklusa, još ne postoji konsenzus o najboljoj dozi i načinu progesteronske potpore u lutealnoj fazi.

Cilj ove meta-analize bio je usporediti uspješnost različitih progesteronskih preparata u ostvarivanju kliničkih nastavljujućih trudnoća i ranih pobačaja, a usporedbom podnošljivosti, zadovoljstva i jednostavnosti primjene po mišljenju pacijentica dovesti do rezultata koji će pomoći u izboru terapijskih smjernica u potpori žutom tijelu tijekom stimuliranih ciklusa izvantjelesne oplodnje.

U naša tri prospektivna randomizirana klinička istraživanja bilo je uključeno ukupno 1508 pacijentica u postupku stimulirane izvantjelesne oplodnje. Korišteni progesteronski preparati uključivali su Crinone 8 % gel u jednokratnoj dozi od 90 mg, Utrogestan vaginalne kapsule u dozi 3 x 2 a 100 mg, kombinirani vaginalno-oralni pristup s jednokratnom dozom Crinone 8 % gela u dozi od 90 mg i oralno primijenjenih kapsula Utrogestan 3 x 100 mg te oralni progesteron didrogesteron (Duphaston) u dozi 2 x 10 mg dnevno.

Rezultati meta-analize su pokazali da je stopa kliničkih odnosno nastavljujućih trudnoća bila gotovo jednaka bez obzira na korišteni oblik lutealne progesteronske potpore, odnosno u slučaju kombinirane P primjene 39,5 % vrs Crinone 8 % gel 33,5 %; usporedba Crinone 8 % gela 33,1 % i Utrogestan vag P kapsula 30,9 %; odnosno u slučaju usporedbe Didrogesteron vag P tableta 30,5 % i Crinone 8 % vag P gela 32,9 % po ET. Po iniciranom ciklusu odnosno randomiziranom pacijentu stopa trudnoće je logično 2 – 3 % niža (Prilog 1-3).

Razlike u postotku trudnoće varirale su od 2,4 % do 9 % što nije bilo dovoljno kako bi se ustvrdila statistički značajna razlika između progesteronski preparata u potpori žutom

tijelu. Štoviše vrijednosti RR od 0,93 do 1,18 direktno ukazuju da su sve primijenjene progesteronske formulacije u ovoj meta-analizi jednako vrijedne u podržavanju trudnoće.

Jednako tako i stopa ranih pobačaja nije se značajno razlikovala između ispitivanih skupina s izuzetkom podskupine koja je koristila monoterapiju Crinone 8 % gelom u odnosu na skupinu koja je koristila kombiniranu terapiju (Crinone 8 % gel vag i Utrogesta kapsule per os).

U navedenoj je podskupini značajno manji broj ranih pobačaja utvrđen kod pacijentica koje su koristile kombiniranu terapiju (OPK + vag P gel) u usporedbi s vaginalnim P gelom kao monoterapijom. Rezultati su pokazali 60 % manji relativni rizik od nastanka ranih pobačaja u korisnica kombinirane progesteronske terapije. Zanimljivo je utvrditi i tendenciju vag P tableta didrogesterona ka 33 % relativnom riziku od ranog pobačaja u usporedbi s vag P gelom. Navedena razlika nije dosegla statističku značajnost, iako je relativno blizu nje ($p = 0,08$).

S druge strane, rezultati vag P gela i vag P kapsula bili su potpuno usporedivi i nisu pokazali veća odstupanja u broju ranih pobačaja prilikom korištenja jednog odnosno drugog preparata. Vaginalno krvarenje javljalo se češće prije testa trudnoće u korisnica Crinone 8 % vag gela kada je uspoređen s IM P (27 % vrs 42 %) (105). Razumno je pretpostaviti kako se uslijed niže serumske razine progesterona u slučaju vag P gela može javiti prolazno točkasto krvarenje ili nešto češći rani spontani pobačaji kao što je to bilo u našem istraživanju u usporedbi monoterapije vag P gelom i kombinirane P terapije. Međutim stopa kliničkih i kliničkih nastavljućih trudnoća nije se statistički značajno razlikovala između ispitivanih progesteronskih preparata (105, 106).

Dobiveni rezultati su usporedivi s novijim istraživanjima (107) u kojima se koristila visoko dozirana luteinska potpora s didrogesteronom u dozi 2 x 20 mg dnevno odnosno mikroniziranog vaginalnog progesterona u dozi 2 x 400 mg dnevno od dana aspiracije oocita. Stopa kliničkih trudnoća, nastavljućih trudnoća i implantacije nije se značajno razlikovala između ove dvije grupe. Jednako tako niti stopa pobačaja nije pokazivala bitnije razlike, iako je utvrđena niža serumska razina didrogesterona (13,62 ng/ml) u odnosu na vaginalni mikronizirani progesteron (20,66 ng/ml).

Stopa trudnoća (34,1 % vrs 28,9 % vrs 31,5 %) i pobačaja (11,11 % vrs 16,67 % vrs 13 %) nije se razlikovala značajno niti u istraživanju (108), koje je uspoređivalo vag P gel, vag P kapsule i didrogesteron u lutealnoj potpori, iako su uspoređivane skupine bile tek nešto veće od 70 ispitanica. Randomizirana klinička studija Salehpoura i sur. 2013. (109) ispitala je na ukupnom broju od 80 ispitanica stopu kliničkih trudnoća i pobačaja između grupe koja

je primala didrogesteron u ukupnoj dozi od 40 mg i vaginalni supozitorij Cyclogest u dozi od 2 x 400 mg i ustvrdila je slične rezultate u obje skupine.

U retrospektivnoj studiji singapurskih autora na 1050 pacijentica u IVF/ICSI postupku korišten je didrogesteron u lutealnoj potpori. Rezultati istraživanja pokazali su usporedivu stopu kliničkih trudnoća, poroda, pobačaja i fetalnih anomalija u odnosu na im.P i vag P te autori zaključuju da je didrogesteron razumna opcija za luteinsku potporu pacijentica koje ne žele injekcije im.P odnosno vaginalnu inserciju progesteronskih preaparata (110)

U sistemskom pregledu i meta-analizi na temelju 8 randomiziranih radova Barbosa et al. 2015. (111) (od kojih je jedan naš rad uključen u rezultate ove disertacije) zaključeno je kako nema značajne razlike u stopi kliničkih (RR 1,07 95 % CI 0,93 - 1,23) i nastavljujućih trudnoća (RR 1,04 95 % CI 0,92 - 1,18) između oralnog didrogesteron i vaginalnog progesterona (kapsula i gela). Jednako tako nije utvrđena niti razlika između stope ranog pobačaja (RR 0,77 95 % 0,53 - 1,10). Navedeni rezultati u potpunosti podržavaju rezultate ove meta-analize. Zanimljivo je da je i u usporedbi oralnog didrogesterona i im. progesterona na temelju 3 randomizirane studije utvrđeno kako nije bilo razlike u stopi kliničkih trudnoća na ukupnom broju od 123 pacijentice (OR 1.96, 95 % CI 0.89 to 4.32).

U usporedbi mikroniziranog progesterona i sintetskog progesterona didrogesterona u stopi kliničkih trudnoća, utvrđena je statistički značajna razlika u korist didrogesterona (RR 0,79) (108, 112-114), što je kasnije potvrdila i najnovija Cochrane analiza iz 2015 van Lindena i sur. (19).

Kada je uspoređivan vaginalni mikronizirani progesteron i vaginalni progesteronski gel kod Sofuoglu K i sur. (115), utvrđena je statistički značajna razlika u pozitivnom beta hCG testu trudnoće i stopi kliničkih trudnoća, ali ne i u stopi nastavljujućih trudnoća u korist grupe koja je koristila mikronizirani vaginalni progesteron (600 mg/dnevno). U radu turskih autora, za razliku od prethodnog rada na ukupnom broju od 177 pacijentica, pokazani su slični rezultati pri usporedbi pozitivnog beta hCG testa, stopi kliničkih trudnoća i nastavljujućih trudnoća između vag P kapsula i vag P gela (116).

Kod Bergh i sur. 2012. (118) u multicentričnoj studiji 18 IVF centara s područja Danske i Švedske na 2057 pacijentica utvrđena je pak gotovo identična stopa kliničkih nastavljujućih trudnoća i poroda neovisno o tomu je li se koristio vag P gel (30,2 %) ili mikronizirane P vag kapsule (32,7 %). Postojala je razlika u boljoj (većoj) praktičnosti i jednostavnosti uporabe u korist vag P gela. Jednako su tako iste rezultate u svojoj meta-analizi dobili i Zarutskie i sur. 2009. g. (118) gdje su nađeni usporedivi rezultati u stopi kliničkih

trudnoća i nastavljanjućih trudnoća između vag P gela i vag P kapsula. Kako je istraživanje obuhvaćalo uporabu i im.P, utvrđena je statistički značajna razlika u nižoj stopi ranih pobačaja uz uporabu vag P gela u odnosu na im.P (0,54 95 % CI 0,29 - 1,02).

Do istog zaključka, uspoređujući vag P gel i vag P kapsule, došli su i Geber S i sur. 2007.g. (119). Pri čemu je postojala razlika u stopi kliničkih trudnoća između Crinone 8 % gela 90 mg i Utrogestan vag kapsula 3 x 200 mg (44,26 % vrs 36,06 %) no ta razlika nije bila statistički značajna. U meta-analizi Polzyos i sur. 2009. (120) kada je analizirana razlika u stopi kliničkih trudnoća između Crinone 8 % gela 90 mg i Utrogestan vag kapsula 3 x 200 mg temeljem 5 kliničkih studija (od kojih je jedna naša studija uključena u ovu doktorsku disertaciju) na ukupnom broju od 1176 pacijentica, nije uočena statistički značajna razlika u stopi kliničkih trudnoća i pobačaja.

Kod kombinirane terapije vag P kapsula i oralnog didrogesterona naspram monoterapije vag P kapsulama u radu Patki i sur. (114) utvrđena je statistički značajna razlika u korist kombinirane terapije u odnosu na monoterapiju kada se promatrala stopa kliničkih trudnoća (39,1 % vrs. 26,7 %).

U našem radu, iz iste godine, dobivena je usporediva stopa kliničkih trudnoća uz uporabu kombinirane oralno-vag P terapije (mikronizirani oralni P + Crinone 8 % gel) od 39,5 % u odnosu na monoterapiju vag P gelom od 33,5 %, ali postojala je statistički značajna razlika u stopi ranih pobačaja (6,4 % vs. 15,6 %). U novijem radu Feinberga i sur. 2012. (121) na ukupnom broju od 1034 ciklusa uspoređivana je monoterapija Endometrinom (mikronizirane vag kapsule P, 3 x 100 mg dnevno) i kombinirana terapija s jednakom dozom Endometrina uz dodatak im.P 50 mg najmanje svaki 3. dan. Stopa implantacije, kliničkih trudnoća i poroda nije se značajno razlikovala između kombinirane i monoterapijske skupine u svježim IVC/ICSI/ET ciklusima.

U meta-analizi ove doktorske disertacije na velikom broju pacijentica nije se mogla dokazati razlika u stopi ranih pobačaja u odnosu na sve ispitivane P preparate i načine njihove aplikacije, osim u slučaju podskupine koja je koristila kombiniranu terapiju u odnosu na monoterapiju vag P gelom. Naši rezultati su u skladu s prethodnom navedenim radovima. Kombiniranu terapiju, osim u slučaju kombinacije vag P i im.P koju koristi 17 % IVF centara u svijetu, gotovo se i ne koristi tako da se zaključci mogu donijeti tek temeljem dva istraživanja.

Sekundarni ciljevi ove doktorske disertacije uključivali su usporedbu podnošljivosti, prihvaćenosti i zadovoljstva korištenjem ispitivanih progesteronskih preparata u potpori

žutom tijelu u stimularnim ciklusima izvantjelesne oplodnje. Naši rezultati su pokazali značajne razlike u podnošljivosti, prihvaćenosti i zadovoljstvu korištenjem različitih progesteronskih preparata.

Podnošljivost progesteronskih preparata pokazala je sličan broj nuspojava kada su ispitivani bolovi u trbuhu, napetosti dojki, mučnina i povraćanje prilikom primjene P preparata (Slika 4a i 4b). Vrtoglavice su bile najučestalije, odnosno dva puta češće kod korisnica kombinirane oralno-vag P terapije, u usporedbi s korisnicama vag P gela. Češće se javljala i kod korisnica vag P kapsula, ali ne i kod korisnica oralnih vaginalnih tableta didrogesterona. Glavobolje su se identično kao i vrtoglavice ispoljavale dva puta češće kod kombinirane oralno-vaginalne P terapije. Međutim, nije utvrđena statistički značajna razlika u ukupnom rezultatu kada su zbrojeni učinci svih pojedinih istraživanja uključenih u meta-analizu (RR 1,01).

Dio objašnjenja ovih rezultata nalazi se i u biodostupnosti te metaboliziranju progesterona u organizmu. Oralna primjena progesterona zahtijevala je ranije visoke koncentracije zbog metabolizma prvog prolaska kroz jetru, a biodostupnost je bila oko 10 % (122). Utvrđeno je da čak i povišena doza od 200 do 300 mg oralnog progesterona ne uspijeva izazvati homogenu sekretornu endometrijsku transformaciju kod žena s POF (eng. premature ovarian failure) sindromom (123).

Mikronizacijom progesterona došlo je do povećanja u efikasnosti isporuke progesterona, tj. biodostupnosti. Mikronizacijom su smanjene čestice progesterona i skraćeno je vrijeme njihova poluraspada (124). Oralna primjena progesterona rezultira u sedativnom i anksiolitičkom učinku uslijed progesteronskih metabolita koji djeluju inhibitorno, vezujući se na GABA receptore (125). Zbog toga su se vrtoglavice i glavobolje javljale dva puta češće u skupini koja je koristila kombinirani P luteinsku potporu gdje je oralni preparat činio mikronizirani progesteron (Utrogestan kapsule) (126).

S druge strane, retroprogesteron didrogesteron ima stabilnu koncentraciju i tijekom njegovog prolaska kroz jetru razgrađuje se u aktivni metabolit koji nema sedativnih učinaka na centralni živčani sustav, a biodostupnost mu je 28 % (127).

Vaginalni progesteron pak primarno djeluje na uterus vodeći ka visokim koncentracijama progesterona u samom endometrijskom tkivu, višim nego li u serumu i nema utjecaj na središnji živčani sustav odnosno pojavu vrtoglavice, pospanosti ili glavobolje (128). Vaginalno krvarenje bilo je 2,11 češće uz uporabu vag P gela u odnosu na kapsule iako bez statističke signifikantnosti, koja je međutim dosegnuta sa 79 % većom učestalošću vaginalnih

krvarenja uz uporabu monoterapije vag P gelom u odnosu na kombiniranu oralno-vag P terapiju. Jednako tako značajno, točnije 50 % je učestalija pojava vaginalnog krvarenja uz uporabu vag P gela u odnosu na oralne P tablete u potpori žutom tijelu i ranoj trudnoći.

Međutim, pojava ranog vaginalnog krvarenja nije imala bitno kliničko značenje jer pojava krvarenja nije utjecala na stopu kliničkih trudnoća. Čini se kako je pojava vaginalnog krvarenja suspregnuta odnosno odgođena uz uporabu kombinirane terapije, vag P kapsula odnosno oralnih P tableta didrogesterona. Pojava učestalijeg vaginalnog krvarenja uz primjenu vaginalnog P gela može se možda pripisati njegovoj nižoj serumskoj koncentraciji za razliku od ostalih ispitivanih P preparata u ovoj meta-analizi. No da ta razlika nije limitirajući čimbenik, odnosno nema utjecaj na stopu ranog pobačaja i kliničkih trudnoća pokazali su i Jabara i sur. uspoređujući PVG i IMP.

Zanimljivo čak i unatoč većem broju krvarenja u lutealnoj fazi do testa trudnoće, PVG je pokazao veći broj nastavljujućih trudnoća i stopu živorođenih (iako je rezultat bio bez statističke značajnosti) (129).

Perinealna iritacija nakon uporabe vag P gela pokazala je 94 % veći relativni rizik nastanka u usporedbi s oralnim P tabletama didrogesterona. No apsolutni rizik nastanka perinealne iritacije nije bio značajno povišen usporedbom vag P kapsula, kombinirane P terapije i samog vag P gela.

Vaginalni iscjedak, jednako kao i perinealna iritacija, pokazao je relativni rizik pojavnosti veći od 90 % uz uporabu vag P gela u odnosu na oralne P tablete didrogesterona. Ukupno gledajući relativni rizik nastanka perinealne iritacije i vaginalnog iscjетка je oko 30 % viši kod primjene vag P gela u odnosu na sve ostale ispitivane metode P potpore žutom tijelu.

Objašnjenje ovih dviju pojava odnosno nastanka perinealne iritacije i vaginalnog iscjетка, ali i smetnji pri spolnom odnosu leži u vaginalnom putu primjene progesterona, ali i metaboliziranju odnosno sastavu pojedinog vag P pripravka.

Vaginalni progesteron primarno djeluje na uterus vodeći ka visokim koncentracijama progesterona u samom endometrijskom tkivu, višim nego li u serumu (128). Direktna isporuka progesterona uterusu postiže se putem efekta prvog-prolaska-kroz maternicu (130). Anatomija rodnice s bogatim krvožilnim pleksusima stvara idealno mjesto za apsorpciju lijekova. Krvožilni sustav oko rodnice i pripadajuća venska drenaža rodnice ne prolaze inicijalno kroz jetru čime se sprečava razgradnja i efekt prvog-prolaska-kroz jetru (32). Koncentracija vag progesterona zato može biti stabilna i do 48 h.

Vaginalni progesteron je inkorporiran u različitim oblicima – tabletama ili kapsulama, pesarima i vaginalnom gelu. Kod tableta/kapsula kada se primijene intravaginalno i apsorbiraju vaginalne sekrete, dolazi do njegove razgradnje u adhezivni prah koji se pričvršćuje za vaginalni epitel i na taj način doprinosi apsorpciji i smanjenju perinealne iritacije (131).

Crinone vaginalni progesteronski gel ima nosač u obliku emulzije ulja u vodi koji sadržava polikarbofil, bioadhezivni gel i polimer koji bubri u prisutnosti vode (132). Vodena faza na taj način zaobilazi lokalne uvjete u vlažnosti vagine koji su vrlo varijabilni. Emulzija sadrži razgrađeni i suspendirani progesteron koji je prijemčiv za epitelne stanice rodnice i potom se odmah razgrađuje prolaskom kroz vaginalnu mukozu.

Prednost Crinone nad Utrogestanom sastoji se upravo u polikarbofilnoj bazi, polimeru koji je poznat iz prethodno navedenih razloga po dobroj adhezivnosti za epitel rodnice (133), što rezultira u smanjenju vaginalnog curenja preparata i smanjenoj perinealnoj iritaciji. Vaginalni svrbež i peckanje češće su, u radovima pa tako i u vlastitom istraživanju iz 2007. godine (134), uočeni uz uporabu Utrogestanskih vag kapsula u usporedbi s Crinone 8 % vag gelom i mogli bi biti povezani s porijeklom Utrogestana iz goveda i činjenici da sadrži kikirikijevo ulje (poznati alergen).

Zanimljivo, apsolutni rizik pojave perinealne iritacije, vaginalnog iscjetka i smetnji pri spolnom odnosu nisu pokazivale razliku u ovoj meta-analizi zbirnih rezultata između Utogestan vag kapsula, Crinone 8 % vag gela i kombinirane terapije Utrogestan oralnim kapsulama i Crinone 8 % vaginalnim gelom. Naravno, čista oralna primjena progesterona didrogesterona (Duphaston) nije dovela do nastanka perinealne iritacije i vaginalnog iscjetka. Mikronizirani vaginalni progesteron (MVP) rutinski se koristi u velikom broju IVF Klinika za luteinsku potporu u IVF/ICSI ciklusima, ali je povezan s nuspojavama poput vaginalne iritacije i vaginalnog iscjetka, te slabom prihvatljivošću od strane pacijentica (135).

Vaginalno curenje ili iritacija bila je uočena u 10,5 % pacijentica koje su koristile mikronizirani progesteron. Značajno više pacijentica izrazilo je zadovoljstvo podnošljivošću didrogesterona u odnosu na vag mikronizirani (112).

Kada su uspoređivani rezultati podnošljivosti vag P gel i vag P kapsula u radu Kleinstein i sur. podnošljivost se pokazala izjednačenom uz samo nekoliko nuspojava koje su uočene u obje skupine (136).

U drugom istraživanju (137) utvrđena je jasna prednost Crinone vag gela nad Utrogestanom uslijed manjeg broja vaginalnog iscjetka i manjeg broja poteškoća s

aplikacijom preparata. Također, pacijentice su navele da je Crinone vag gel lakše aplicirati i da im je za to potrebno manje vremena. S obzirom na to da Crinone gel ima vlastiti aplikator i potrebna je jednokratna doza za razliku od vag P kapsula Utrogestana koje je potrebno aplicirati do 3 puta dnevno, rezultati ne iznenađuju.

Kada su uspoređeni vag supozitorij Cyclogest i vag P gel, autori su došli do zaključka da je značajno više pacijentica navelo vag supozitorij kao neprikladniji za uporabu, curenje preparata iz rodnice i smetnje pri spolnom odnosu u usporedbi s vag P gelom (138). U vlastitom istraživanju iz 2007. godine uočena je statistički značajna jednostavnost, praktičnost, smanjeno prljanje od strane preparata i preferencija pacijentica na strani vag P gela u odnosu na vag P kapsule. Jednako tako perinealna iritacija i vaginalni svrbež bili su značajno češći u skupini koja je koristila vag P kapsule (134).

Azijske pacijentice koje su primale progesteronski vag gel u jednokratnoj dozi od 90 mg, smatrale su ga jednostavnijim za uporabu i komfornijim u usporedbi s vag P kapsulama koje su prethodno koristile u lutealnoj potpori. Pacijentice su smatrale vag P gel preferiranim preparatom u odnosu na vag P kapsule (139).

Istraživanje Bergh i sur. iz 2012. (117) potvrdilo je kako je vaginalni P gel bio pacijenticama podnošljiviji. Ne samo jednostavnost primjene, higijena, manje smetnji kod spolnog odnosa, manje vag curenja preparata već i ukupna impresija i zadovoljstvo korištenim preparatom bili su na strani Vag P gela za razliku od vag P kapsula Utrogestana. Slične su rezultate u svojim istraživanjima potvrdili i drugi istraživači poput Ludwig i sur. (137), te Ng i sur. (138).

Međutim, vaginalna primjena progesterona nije dobro prihvaćena među svim pacijenticama zbog lokalnih nuspojava poput vaginalne iritacije i vaginalnog iscjetka koje su dokazano češće u ovoj meta-analizi, ali i potvrđene radovima drugih autora (140). Oralnom primjenom didrogesterona jasno se izbjegavaju takve lokalne nuspojave i postiže veća suradljivost pacijentica.

Analizirajući podnošljivost preparata, može se ustvrditi kako svi ispitivani progesteronski preparati u lutealnoj potpori IVF/ICSI ciklusa imaju odgovarajući sigurnosni profil, a kretanje podnošljivosti ide uzlaznom linijom od vag P kapsule, vag P gela, kombinirane P terapije do oralnih tableta didrogesterona.

Uspoređujući zadovoljstvo korištenom progesteronskom potporom žutom tijelu, utvrđena je 1,43 puta više apsolutno zadovoljstvo uporabom oralnog P didrogesterona u

odnosu na vag P gel. Gotovo identični rezultat odnosno 1,42 puta više apsolutno zadovoljstvo ali u korist vaginalnog P gela dobiven je kada je uspoređen s vag P kapsulama.

Značajno više zadovoljstva utvrđeno je u svim promatranim istraživanjima kod pacijentica koje su primale vag P gel, kombiniranu oralno-vaginalnu terapiju odnosno oralne P tablete didrogesterona u odnosu na vag P kapsule. Jednako tako, kombinacija P oralnih kapsula i vag P gela je daleko prihvatljivija odnosno pacijentice navode veće apsolutno zadovoljstvo u usporedbi samo s uporabom vag P gela. Zanimljiv je to podatak jer i sama kombinirana terapija sadrži kao dio kombinirane terapije vag P gel.

Za pretpostaviti je kako se objašnjenje ovog paradoksa nalazi u činjenici da su IVF/ICSI pacijentice sklonije vjerovanju da više terapije zapravo doprinosi boljem uspjehu postupka. Time na tragu njihove odnosno želje para za „zlatnim djetetom“, kombinirana oralno-vag terapija uistinu može predstavljati više apsolutnog zadovoljstva u korištenju ukoliko su misli usmjerene da je više terapeutika jednako veći uspjeh postupka.

Ocjenu niti zadovoljni niti nezadovoljni korištenim P preparatom češće su birale pacijentice korisnice vag P gela u odnosu na korisnice oralnih P tableta. Rezultat ne začuđuje ukoliko se zna da su korisnice oralnih P tableta pokazale statistički značajno veće apsolutno zadovoljstvo i najmanje apsolutno nezadovoljstvo u odnosu na ostale metode P potpore žutom tijelu. Rezultati u pogledu prosječnog zadovoljstva korištenim progesteronskim preparatima su slični od istraživanja do istraživanja bilo da se radi o vag, oralnoj odnosno kombiniranoj uporabi istih. Ukupni učinak zadovoljstva je bez statistički značajnih razlika između promatranih načina aplikacija progesterona.

S druge strane, stupanj apsolutnog nezadovoljstva je gotovo identičan prilikom kombinirane uporabe oralnih P kapsula i vag P gel naspram monoterapije vag P gelom. A vrlo slični rezultati dobiveni su i usporedbom apsolutnog nezadovoljstva između vag P kapsula i vag P gela. Najmanje nezadovoljnih pacijentica bilo je nakon oralne uporabe progesteronskih tableta didrogesterona.

Nasuprot našim rezultatima Saharkiz i sur. (107) u istraživanju iz 2016. godine pri usporedbi mikroniziranih vag P kapsule u dozi od 2 x 400 mg/dnevno i didrogesterona u dozi 2 x 20 mg/dnevno nisu utvrdili značajne razlike u nezadovoljstvu pacijentica korištenjem didrogesterona naspram vag mikroniziranog progesterona (RR 1,19) odnosno podnošljivosti (RR 0,79) preparata.

S druge strane Chakravarty i sur. (112) uočio je značajno više nezadovoljstvo u korisnica vag P kapsula (26 %) u odnosu na korisnice oralno P didrogesterona (3 %).

Zanimljivo iste spoznaje o većem zadovoljstvu korisnica korištenim didrogesteronom u odnosu na vag P kapsule pokazao je i rad Khosravi i sur. (141) iz 2015. godine (RR 0,41) u ciklusima intrauterine inseminacije (IUI).

Jedini rad koji je uspoređivao zadovoljstvo korištenjem oralnog didrogesteronom i vag P gela je rad uključen u ovu meta-analizu iz 2015. godine, odnosno randomizirana kontrolirana studija na 832 pacijentice kojom smo pokazali veće zadovoljstvo korisnica didrogesterona u odnosu na vag P gel i značajno manji broj vaginalnog krvarenja, perinealne iritacije, vaginalnog iscjetka i smetnji pri spolnom odnosu kod korisnica didrogesterona (142).

U ovim sekundarnim ciljevima istaknuo se osobito didrogesteron, oralni retroprogesteron koji je pokazao najbolju podnošljivost (najmanje izazvanih nuspojava), praktičnost i prihvaćenost mjerenu zadovoljstvom korisnica odnosno pacijentica u IVF/ICSI postupcima. Praktičnim se pokazao i vag P gel i kombinirani oralno+vag P pripravak u odnosu prema najslabije prihvaćenim vag P kapsulama.

Sigurnost uporabe i podnošljivost didrogesterona u trudnih pacijentica pokazuje dobro utvrđeni i pozitivni korist-rizik profil didrogesterona (143).

Meta-analiza uz brojne prednosti sazimanja rezultata uključenih istraživanja i mogućnost izvođenja zaključaka temeljem većeg broja pacijenata ima i svoje nedostatke. Nedostaci doktorskog rada su sljedeći: neujednačenost studija po broju uključenih pacijentica što može voditi ka dominaciji rezultata brojčano najvećeg uključenog rada u metaanalizi, zbog toga je u ovom radu primijenjena i među analiza, sistemska pogreška koja se unatoč prospektivnosti studija i provedenoj metaanalizi ne može u potpunosti isključiti, rezultati meta-analize ovise o kvaliteti svake pojedine uključene studije i na kraju rezultati doktorata se ne mogu generalizirati na kohortu pacijentica koje primaju potporu žutom tijelu izvan stimuliranih ciklusa.

Temeljem rezultata ove doktorske disertacije odnosno na usporedive stope kliničkih trudnoća i ranih pobačaja s vaginalnim progesteronskim preparatima (VPG i VPK) odnosno kombiniranim progesteronskim preparatima (OMP + VPG) uz bolju podnošljivost, praktičnost i odličnu prihvaćenost od strane pacijentica, razumno je ponuditi oralnu primjenu didrogesterona kao prvu opciju lutealne potpore u stimuliranim ciklusima izvantjelesne oplodnje, a pogotovo kod pacijentica kojima smeta vaginalni odnosno intramuskularni način primjene.

Prednost didrogesterona mogla bi se sažeti u oralnu primjenu, jednostavnost uporabe, bolju podnošljivost i veće zadovoljstvo krajnjih korisnica – pacijentica u stimuliranim postupcima IVF/ICSI ciklusa.

6. ZAKLJUČCI

Iz rezultata doktorske disertacije nastali su sljedeći zaključci:

1. Analizom učinkovitosti utvrđena je usporediva stopa kliničkih nastavljaćih trudnoća i ranih pobačaja između ispitivanih načina progesteronske potpore žutom tijelu u stimuliranim ciklusima izvantjelesne oplodnje.
2. Podnošljivost progesteronskih preparata pokazala je dobar sigurnosni profil, ali i razlike između ispitivanih progesteronskih preparata. Vaginalno krvarenje bilo je značajno učestalije kod uporabe vaginalnog gela u usporedbi s oralnim tabletama didrogesterona odnosno u usporedbi s kombiniranom oralno-vaginalnom progesteronskom potporom. Vrtoglavice i glavobolja, s druge strane, javljale su se dva puta češće uz kombiniranu oralno-vaginalnu progesteronsku terapiju, gdje je oralnu komponentu činio oralni mikronizirani progesteron. Perinealna iritacija i vaginalni iscjedak značajno su češći uz uporabu vaginalnih progesteronskih pripravaka (mikronizirane vaginalne kapsule i vaginalni gel) u odnosu na oralni progesteron didrogesteron. Razlike nije bilo u usporedbi kombinirane P terapije i vaginalnih progesteronskih preparata.
3. Prihvaćenost i zadovoljstvo pacijentica korištenim progesteronskim preparatima u potpori žutom tijelu pokazali su značajno više apsolutno zadovoljstvo uporabom oralnog progesterona didrogesterona u odnosu na vag progesteronski gel, koji je s druge strane imao više apsolutno zadovoljstvo pacijentica u odnosu na vaginalne progesteronske kapsule. Zaključno, značajno više zadovoljstva utvrđeno je u svim promatranim istraživanjima kod pacijentica koje su primale vag P gel, kombiniranu oralno-vaginalnu terapiju odnosno oralne P tablete didrogesterona u odnosu na vag P kapsule. Korisnice oralnih P tableta pokazale su statistički značajno veće apsolutno zadovoljstvo i najmanje apsolutno nezadovoljstvo u odnosu na ostale metode progesteronske potpore žutom tijelu. S druge strane, stupanj apsolutnog nezadovoljstva je gotovo identičan prilikom kombinirane progesteronske terapije, monoterapije vaginalnim progesteronskim gelom odnosno vaginalnim progesteronskim kapsulama. Najmanje nezadovoljnih pacijentica bilo je nakon oralne uporabe progesteronskih tableta didrogesterona.

U zaključku rezultati ove doktorske disertacije odnosno usporediva stopa kliničkih nastavljaćih trudnoća i ranih pobačaja uz bolju podnošljivost, prihvaćenost i veće zadovoljstvo korištenjem mogli bi poslužiti kao klinička preporuka o uporabi oralnih progesteronskih tableta kao metode prvog izbora u potpori žutom tijelu tijekom stimuliranih ciklusa izvantjelesne oplodnje.

7. SAŽETAK

Ciljevi: Usporediti učinkovitost (stopa nastavljanja kliničkih trudnoća i stope ranih pobačaja), zadovoljstvo i podnošljivost različitih puteva primjene progesterona: oralni didrogesteron, vaginalni progesteronski gel, mikronizirane vaginalne kapsule i kombinirana terapija oralnim mikroniziranim progesteronskim kapsulama i vaginalnim progesteronskim gel u luteinskoj potpori stimuliranih ciklusa.

Metode: Meta-analiza triju vlastitih prospektivnih kliničkih istraživanja. Ispitivanu populaciju činilo je ukupno 1508 neplodnih žena koje su bile podvrgnute IVF / ICSI postupku u Sveučilišnom bolničkom centru "Sestara milosrdnica" i IVF poliklinici, Zagreb, Hrvatska. Luteinska potpora osigurana je kao: a) Crinone 8% vaginalni progesteronski gel (1x90 mg) koji se primjenjuje dnevno, ili utrogestanske vaginalne kapsule (2x100 mg) primijenjene tri puta dnevno; b) Kombinirana terapija 8% vaginalnog gela Crinone, 1x90 mg dnevno i Utrogestan oralne kapsule 3 x 100 mg, ili Crinone 8% vaginalni gel, 1x90 mg dnevno; c) Crinone 8% vaginalni progesteronski gel (1x90 mg) primijenjen jednom dnevno ili oralni didrogesteron Duphaston (2x10 mg) koji se primjenjuje dva puta dnevno. Progesteron se primjenjuje od dana aspiracije oocita (dan 0) do menstruacije ili, u slučaju trudnoće, do 10. tjedna.

Rezultati: Stope trudnoće bile su usporedive između različitih putova progesteronske luteinske potpore, tj. u slučaju kombiniranog oralnog-vaginalnog puta 39,5% vrs. Crinone 8% vaginalni gel 33,5%; Crinone 8% vaginalni gel vrs. Utrogestanske vaginalne kapsule 30,9%; oralne progesteronske tablete (Duphaston) 30,5% vrs Crinone vaginalni progesteronski gel 32,9% po ET (RR 0,93-1,18; p = 0,78).

Stope ranih pobačaja bile su gotovo jednake između različitih načina progesteronske dopunjavanja, s izuzetkom usporedbe kombinirane progesteronske terapije od 6,4% i vaginalnog progesteronskog gela 15,6% (RR 0,41, 95% CI 0,22-0,79, p <0,01). Ukupna podnošljivost pokazala je slične rezultate, ali je vaginalno krvarenje bilo znatno više prisutno uz korištenje 8% vaginalnog gela Crinone u usporedbi s kombiniranom terapijom (RR 0,21, 95% CI 0,07-0,61, p <0,01). Interferencija s koitusom i lokalnim nuspojavama kao što su perinealna iritacija (RR 0,06, 95% CI 0,01-0,47, p <0,01) i vaginalni iscjedak (RR 0,08, 95% CI 0,02 -0,32; p <0,001) pojavljuje se značajno više kod uporabe vaginalnog progesterona (kapsula i vaginalnog gela) nego kod primjene oralnog didrogesterona.

Korisnice oralnih tableta progesterona pokazale su značajno apsolutno zadovoljstvo i značajno manje apsolutno nezadovoljstvo u usporedbi sa svim ostalim putovima progesteronske potpore.

Zaključci: Svi načini progesteronske primjene u luteinskoj fazi potpore induciranim ciklusima pokazali su skoro jednaku učinkovitost s obzirom na stopu nastavljuće trudnoće i stopu ranih pobačaja. Oralne tablete didrogesterona su učinkovite, dobro se podnose s manje nuspojavama kao što su perinealna iritacija i vaginalni iscjedak uz više opće zadovoljstvo pacijenata u usporedbi s kombiniranom terapijom i vaginalnim putem primjene progesterona i mogu se uzeti u obzir za rutinsku lutealnu potporu.

Ključne riječi: podrška lutealnoj fazi, progesteron, učinkovitost, podnošljivost, zadovoljstvo, stopa trudnoće

8. EXTENDED SUMMARY

Objectives: To compare efficacy (on-going pregnancy rate and early abortion rate), satisfaction and tolerability of different route of progesterone supplementation i.e. oral dydrogesterone, vaginal progesterone gel, micronized vaginal capsules and combined therapy of oral micronized progesterone capsules plus vaginal progesterone gel used in luteal support of stimulated cycles.

Study design: Meta-analysis of three own prospective clinical studies. Study population consisted of a total of 1508 infertile women undergoing IVF/ICSI treatment in University Hospital Center “Sisters of Mercy” and IVF Polyclinic, Zagreb, Croatia. Luteal support was provided as: a) Crinone 8% vaginal progesterone gel (1x90 mg) administered daily, or Utrogestan vaginal capsules (2x100 mg) administered three times daily; b) Combined therapy of Crinone 8% vaginal gel, 1x90 mg daily dose and Utrogestan oral capsules 3x100 mg, or Crinone 8% vaginal gel, 1x90 mg daily; c) Crinone 8% vaginal progesterone gel (1x90 mg) administered daily, or oral dydrogesterone Duphaston (2x10 mg) administered two times daily.

Progesterone was administered from the day of oocyte retrieval (day 0) to menses or, in a case of pregnancy, until week 10.

Results: The primary outcome aims were on-going pregnancy rate and early abortion rate. The on-going pregnancy rates were comparable between different routes of progesterone supplementation in luteal support i.e. in the case of combined oral-vaginal route 39.5% vrs. Crinone 8% vaginal gel 33.5%; Crinone 8% vaginal gel vrs. Utrogestan vaginal capsules 30.9%; oral progesterone tablets (Duphaston) 30.5% vrs Crinone vaginal progesterone gel 32.9% per ET (RR 0.93-1.18; $p=0.78$).

Early abortion rate was almost equal between different routes of progesterone supplementation with the exception of comparison between combined progesterone therapy 6.4% and vaginal progesterone gel 15.6%, which presented lower abortion rate with the use of combined progesterone therapy (RR 0.41; 95%CI 0.22-0.79; $p<0.01$). Early abortion rate in other comparison arms was as following: Crinone 8% vaginal gel 10.8% vrs. Utrogestan vaginal capsules 14.7%; Crinone 8% vaginal gel 6.8% vrs. Duphaston oral progesterone tablets 10.1% that give a meta-analysis RR 0.59; 95%CI 0.43-0.82 and $p=0.44$.

Overall tolerability showed similar rates but vaginal bleeding was significantly more present with the use of Crinone 8% vaginal gel when compared with the combined therapy

(RR 0.21; 95%CI 0.07-0.61; $p < 0.01$) and oral progesterone tablets. Interference with coitus and local adverse side effects such as perineal irritation (RR 0.06; 95%CI 0.01-0.47; $p < 0.01$) and vaginal discharge (RR 0.08; 95%CI 0.02-0.32; $p < 0.001$) occurred significantly more with the use of vaginal progesterone (capsules and vaginal gel) than with the use of oral dydrogesterone.

Satisfaction assessment showed significantly more absolutely satisfied patients with the used of oral progesterone tablets (Duphaston) in comparison with vaginal progesterone gel. Almost the same result was noticed with the use of vaginal gel vrs vaginal capsules. Overall the patients were significantly more satisfied with the use of vaginal progesterone gel, combined oral-vaginal progesterone therapy and oral vaginal tablets then with the use of vaginal progesterone capsules. Users of oral progesterone tablets showed significantly more absolute satisfaction and significantly less absolute dissatisfaction when compared with all other routes of progesterone supplementation.

Conclusions: All routes of progesterone supplementation in luteal phase support of induced cycles showed almost equall efficacy considering rate of on-going pregnancy and early abortion rate. Oral tablets of dydrogesterone are effective drug, well tolerated with less adverse side effects such as perineal irritation and vaginal discharge and more overall satisfaction among patients when compared with combined therapy and vaginal route of progesterone use and can be considered for routine luteal support.

Key Words: Luteal phase support, progesterone, efficiency, tolerability, satisfaction, pregnancy rate

9. LITERATURA

1. Radesic B, Tremellen K. Oocyte maturation employing a GnRH agonist in combination with low-dose hCG luteal rescue minimizes the severity of ovarian hyperstimulation syndrome while maintaining excellent pregnancy rates. *Hum Reprod.* 2011;26(12):3437-42. doi: 10.1093/humrep/der333.
2. Smitz J, Erard P, Camus M, Devroey P, Tournaye H, Wisanto A, i sur. 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):1225–1229.
3. Smitz J, Bourgain C, Van Waesberghe L, Camus M, Devroey P, Van Steirteghem AC. A prospective randomized study on estradiol valerate supplementation in addition to intravaginal micronized progesterone in buserelin and HMG-induced superovulation. *Hum Reprod.* 1993;8(1):40–45.
4. Fauser BC, Devroey P. Reproductive biology and IVF: ovarian stimulation and luteal phase consequences. *Trends Endocrinol Metab.* 2003;14(5):236–242.
5. Devroey P, Bourgain C, Macklon N, Fauser BC. Reproductive biology and IVF: ovarian stimulation and endometrial receptivity. *Trends Endocrinol Metab.* 2004;15(2):84–90.
6. Garcia J, Jones GS, Acosta AA, Wright GL Jr. Corpus luteum function after follicle aspiration for oocyte retrieval. *Fertil Steril.* 1981;36(5):565–572.
7. Smitz J, Devroey P, Camus M, Deschacht J, Khan I, Staessen C, i sur. The luteal phase and early pregnancy after combined GnRH-agonist/HMG treatment for superovulation in IVF or GIFT. *Hum Reprod.* 1988;3(5):585-90.
8. Elter K, Nelson LR. Use of third generation gonadotropin-releasing hormone antagonists in in vitro fertilization–embryo transfer: a review. *Obstet Gynecol Surv.* 2001;56(9):576–88.
9. Beckers NG, Macklon NS, Eijkemans MJ, Ludwig M, Felberbaum RE, Diedrich K, i sur. Comparison of the nonsupplemented luteal phase characteristics after recombinant (r)HCG, rLH or GnRH agonist for oocyte maturation in IVF. *Hum Reprod.* 2002;17(Suppl 1):S55.
10. Beckers NG, Macklon NS, Eijkemans MJ, Ludwig M, Felberbaum RE, Diedrich K, i sur. 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.
11. Penarrubia J, Balasch J, Fabregues F, Creus M, Casamitjana R, Ballesca JL, i sur. Human chorionic gonadotrophin luteal support overcomes luteal phase inadequacy after gonadotrophin-releasing hormone agonist-induced ovulation in gonadotrophin-stimulated cycles. *Hum Reprod.* 1998;13(12):3315–18.
 12. Albano C, Grimbizis G, Smitz J, Riethmüller-Winzen H, Reissmann T, Van Steirteghem A, i sur. The luteal phase of nonsupplemented cycles after ovarian superovulation with human menopausal gonadotropin and the gonadotropin releasing hormone antagonist Cetrorelix. *Fertil Steril.* 1998;70(2):357–9.
 13. Fatemi HM. The luteal phase after 3 decades of IVF: what do we know? *BioMedicine Online.* 2009;19(Suppl 4):S4331.
 14. 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.
 15. Friedler S, Gilboa S, Schachter M, Raziel A, Strassburger D, Ron El R, i sur. Luteal phase characteristics following GnRH antagonist or agonist treatment – a comparative study. *Reprod Biomed Online.* 2006;12(1):27–32.
 16. Daya S, Gunby J Luteal phase support in assisted reproduction cycles. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004;(3):CD004830.
 17. Nosarka S, Kruger T, Siebert I, Grove D. Luteal phase support in in vitro fertilization: metaanalysis of randomized trials. *Gynecol Obstet Invest* 2005; 60(2):67–74.
 18. van der Linden M, Buckingham K, Farquhar C, Kremer JAM, Metwally M. Luteal phase support for assisted reproduction cycles. *Cochrane Database of Syst Rev.* 2011;(10): CD009154. doi: 10.1002/14651858.CD009154.pub2.
 19. Van der Linden M, Buckingham K, Farquhar C, Kremer JAM, Metwally M. Luteal phase support for assisted reproduction cycles. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;(7):CD009154. doi: 10.1002/14651858.CD009154.pub3.
 20. Daya S. Luteal support: Progestogens for pregnancy protection. *Maturitas.* 2009;65(Suppl 1):S29-S34.

21. Mochtar MH, Hogerzeil HV, Mol BW. Progesterone alone versus progesterone combined with HCG as luteal support in GnRHa/HMG induced IVF cycles: a randomized clinical trial. *Hum Reprod.* 1996;11(8):1602–5.
22. Fujimoto A, Osuga Y, Fujiwara T, Yano T, Tsutsumi O, Momoeda M, et al. Human chorionic gonadotrophin combined with progesterone for luteal support improves pregnancy rate in patients with low late-midluteal estradiol levels in IVF cycles. *J Assist Reprod Genet.* 2002;19(12):550–4.
23. Pritts EA, Atwood AK. Luteal phase support in infertility treatment: a meta-analysis of the randomized trials. *Hum Reprod.* 2002;17(9):2287–99.
24. Vaisbuch E, Leong M, Shoham Z. Progesterone support in IVF: is evidence-based medicine translated to clinical practice? A worldwide web-based survey. *Reprod Biomed Online.* 2012;25(2):139–45.
25. Krause B, Ohlinger R. Safety and efficacy of low dose hCG for luteal support after triggering ovulation with GnRH agonist in cases with polyfollicular development. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006;126(1):87–92.
26. De Ziegler D, Bouchard P. Understanding endometrial physiology and menstrual disorders in the 1990s. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 1993;5(3):378–88.
27. Sharara FI, McClamrock HD. Ratio of estradiol concentration on the day of human chorionic gonadotrophin administration to mid-luteal estradiol concentration is predictive of in-vitro fertilization outcome. *Hum Reprod.* 1999;14(11):2777–82.
28. Lukaszuk K, Liss J, Lukaszuk M, Maj B. Optimization of estradiol supplementation during the luteal phase improves the pregnancy rate in women undergoing in vitro fertilization-embryo transfer cycles. *Fertil Steril.* 2005;83(5):1372–6.
29. Elgindy EA, El-Haieg DO, Mostafa MI, Shafiek M. Does luteal estradiol supplementation have a role in long agonist cycles? *Fertil Steril.* 2010;93(7):2182–8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.01.066.
30. Kolibianakis EM, Venetis CA, Papanikolaou EG, Diedrich K, Tarlatzis BC, Griesinger G. Estrogen addition to progesterone for luteal phase support in cycles stimulated with GnRH analogues and gonadotrophins for IVF. *Hum Reprod.* 2008;23(6):1346–54. doi: 10.1093/humrep/den115.
31. Fatemi HM, Popovic-Todorovic B, Papanikolaou E, Donoso P, Devroey P. An update of luteal phase support in stimulated IVF cycles. *Hum Reprod Update.* 2007;13(6):581–90.

32. Eden JA. Progestogens: an occasional review. *Asia Oceania J Obstet Gynaecol.* 1991;17(4):289-95.
33. Tosti E, Di Cosmo A, Cuomo A, Di Cristo C, Gragnaniello G. Progesterone induces activation in *Octopus vulgaris* spermatozoa. *Mol. Reprod. Dev.* 2001;59(1):97–105. doi:10.1002/mrd.1011. PMID 11335951.
34. Bowen R. Placental Hormones [Internet] 06.08.2000 [pristupljeno 01.08.2017].
Dostupno na:
<http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/reprod/placenta/endocrine.html>.
35. Cometti B. Pharmaceutical and clinical development of a novel progesterone formulation. *Acta Obstet Gynecol Scand.*2015;94:Suppl(161):28-37. doi: 10.1111/aogs.12765.
36. Merriam KS, Leake KA, Elliot M, Matthews ML, Usadi RS, Hurst BS. Sexual absorption of vaginal progesterone: a randomized control trial. *Int J Endocrinol.* 2015;2015:685281. doi: 10.1155/2015/685281.
37. Nahoul K, Dehennin L, Jondet M, Roger M. Profiles of plasma estrogens, progesterone and their metabolites after oral or vaginal administration of estradiol or progesterone. *Maturitas.* 1993;16(3):185–202.
38. van Keep PA, Utian WH. The Premenstrual Syndrome. Sixth International Congress of Psychosomatic Obstetrics and Gynecology. Proceedings of a workshop held during the Sixth International Congress of Psychosomatic Obstetrics and Gynecology; 1980 Sep; Berlin, Njemačka, September 1980. Berlin: Springer; 1980. str. 51–52. ISBN 978-94-011-6255-5.
39. Drugs.com [Internet]. Progesterone. Update Nov, 2017 [pristupljeno 03.11.2017].
Dostupno na: <https://www.drugs.com/progesterone.html>
40. Sushma Deshmukh. Infertility Management Made Easy [Internet]. 2 izd. JP Medical Ltd. 2013 - [ažurirano 30.09.2013; pristupljeno 05.12.2016]. Dostupno:
<https://books.google.com/books?id=L71pAgAAQBAJ&pg=PA273>.
41. Josimovich JB. Placental Endocrinology. U: Josimovich JB, ur. *Gynecologic Endocrinology.* Berlin: Springer Science & Business Media; 2013. Str. 25–29. ISBN 978-1-4613-2157-6.
42. Bernardo-Escudero R, Cortés-Bonilla M, Alonso-Campero R, Francisco-Doce MT, Chavarín-González J, Pimentel-Martínez S, i sur. Observational study of the local

- tolerability of injectable progesterone microspheres. *Gynecol Obstet Invest.* 2012;73(2):124-9. doi: 10.1159/000330711.
43. Ghanem ME, Al-Boghdady LA. Luteal phase support in ART: an update U: Darwish AMM, ur. *Enhancing Success of Assisted Reproduction.* Rijeka: InTech: Hrvatska, 2012. Str. 155–172. Dostupno i na: <http://library.umac.mo/ebooks/b28351654.pdf>.
 44. Maher MA, Abdelaziz A, Ellaithy M, Bazeed MF. Prevention of preterm birth: a randomized trial of vaginal compared with intramuscular progesterone. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2013;92(2):215-22. doi: 10.1111/aogs.12017.
 45. Mitwally MF, Diamond MP, Abuzeid M. Vaginal micronized progesterone versus intramuscular progesterone for luteal support in women undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 2010;93(2):554-69. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.02.047.
 46. Michelle L. Matthews. *Reproductive Endocrinology An Issue Of Obstetrics And Gynecology Clinics* [Internet]. 1 izd. 2015. [ažurirano: November 11, 2017, pristupljeno 11.11.2017]. Dostupno na: <http://www.goldendragondesign.com/file/download/reproductive-endocrinology-an-issue-of-obstetrics-and-gynecology-clinics-1e>
 47. Nagrath A, Malhotra N, Seth S. *Progress in Obstetrics and Gynecology—3* [Internet]. 1 izd. Jaypee Brothers Medical Publishers Pvt. Ltd. (India); 2012 - [ažurirano 15.12.2012, pristupljeno; 20.04.2017.] Dostupno na: <https://books.google.at/books?id=AS3UBAAAQBAJ&pg=PA370>.
 48. Zutshi V. *Hormones in Obstetrics and Gynaecology.* U: Zutshi V, Rathore AM, Sharma K, ur. *Hormones in Obstetrics and Gynaecology.* 2 izd. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers 2008. Str.74.
 49. Adler N, Pfaff D, Goy RW. *Handbook of Behavioral Neurobiology Volume 7 Reproduction* [Internet]. 1 izd. Plenum Press (US): 1987 - [ažurirano 06.12.2012; pristupljeno 18.05.2016.]. Dostupno na: <https://books.google.com.hk/books?id=MoDrBwAAQBAJ&pg=PA189>
 50. Malik S, Krishnaprasad K. Natural Micronized Progesterone Sustained Release (SR) and Luteal Phase: Role Redefined!! *J Clin Diagn Res.* 2016;10(2):QE01-4. doi: 10.7860/JCDR/2016/17278.7212.
 51. Food and Drug Administration. *Orange Book: Approved Drug Products with Therapeutic Equivalence Evaluations.* 32 izd. DrugPatientWatch.com (US); 2012 -

[ažurirano 31.12.2011.; pristupljeno 12.10.2016.]. Dostupno na:

<https://books.google.at/books?id=STZ4DAAAQBAJ&pg=PR377>

52. Zava DT, Dollbaum CM, Blen M. Estrogen and progestin bioactivity of foods, herbs, and spices. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1998;217(3):369-78. doi:10.3181/00379727-217-44247.
53. Komesaroff PA, Black CV, Cable V, Sudhir K. Effects of wild yam extract on menopausal symptoms, lipids and sex hormones in healthy menopausal women. *Climacteric.* 2001;4(2):144-50.
54. da Fonseca EB, Bittar RE, Carvalho MH, Zugaib M. Prophylactic administration of progesterone by vaginal suppository to reduce the incidence of spontaneous preterm birth in women at increased risk: a randomized placebo-controlled double-blind study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2003;188(2):419–24. doi:10.1067/mob.2003.41.
55. Oler E, Eke AC, Hesson A. Meta-analysis of randomized controlled trials comparing 17 α -hydroxyprogesterone caproate and vaginal progesterone for the prevention of recurrent spontaneous preterm delivery. *Int J Gynaecol Obstet.* 2017;138(1):12-16. doi:10.1002/ijgo.12166.
56. O'Brien JM, Adair CD, Lewis DF, Hall DR, Defranco EA, Fusey S i sur. Progesterone vaginal gel for the reduction of recurrent preterm birth: primary results from a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;30(5):687–96. doi:10.1002/uog.5158.
57. DeFranco EA, O'Brien JM, Adair CD, Lewis DF, Hall DR, Fusey S i sur. Vaginal progesterone is associated with a decrease in risk for early preterm birth and improved neonatal outcome in women with a short cervix: a secondary analysis from a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;30(5):697–705. doi:10.1002/uog.5159.
58. Romero R, Nicolaides KH, Conde-Agudelo A, O'Brien JM, Cetingoz E, Da Fonseca E i sur. Vaginal progesterone decreases preterm birth \leq 34 weeks of gestation in women with a singleton pregnancy and a short cervix: an updated meta-analysis including data from the OPPTIMUM study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016;48(3):308-17. doi:10.1002/uog.15953.
59. Schindler AE, Campagnoli C, Druckmann R, Huber J, Pasqualini JR, Schweppe KW i sur. Classification and pharmacology of progestins. *Maturitas.* 2003;46(Suppl 1):S7–S16. doi:10.1016/j.maturitas.2003.09.014.

60. Friedler S, Raziel A, Schachter M, Strassburger D, Bukovsky I, Ron-El R. Luteal support with micronized progesterone following in-vitro fertilization using a down-regulation protocol with gonadotrophin-releasing hormone agonist: a comparative study between vaginal and oral administration. *Hum Reprod.* 1999;14(8):1944-8.
61. Licciardi FL, Kwiatkowski A, Noyes NL, Berkeley AS, Krey LL, Grifo JA. Oral versus intramuscular progesterone for in vitro fertilization: a prospective randomized study. *Fertil Steril.* 1999;71(4):614-8.
62. Arafat ES, Hargrove JT, Maxson WS, Desiderio DM, Wentz AC, Andersen RN. Sedative and hypnotic effects of oral administration of micronized progesterone may be mediated through its metabolites. *Am J Obstet Gynecol.* 1988;159(5):1203-9.
63. Carp HJA. *Progestogens in Obstetrics and Gynecology.* Berlin: Springer International Publishing;2015.
64. Schindler AE. Progestational effects of dydrogesterone in vitro, in vivo and on the human endometrium. *Maturitas.* 2009;65(Suppl 1):S3–11.
65. Cabeza M, Heuze Y, Sanchez A, Garrido M, Bratoeff E. Recent advances in structure of progestins and their binding to progesterone receptors. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2015 Feb;30(1):152-9. doi: 10.3109/14756366.2014.895719.
66. Carp HJA. *Recurrent Pregnancy Loss. Causes, Controversies, and Treatment.* Izd 2. Boca Raton: Taylor and Francis Group; 2015.
67. Medicines.ie.Ireland. Duphaston 10mg Film-Coated Tablets. [Internet] Dublin. Medicines.ie.Ireland; 2017 [pristupljeno 05.07.2017]. Dostupno na: <http://www.medicines.ie/medicine/5163/SPC/Duphaston>
68. Kuhl H. Pharmacology of estrogens and progestogens: Influence of different routes of administration. *Climacteric* 2005;8(suppl1):S3-63.
69. Barbosa MWP, Silva LR, Navarro PA, Ferriani RA, Nastri CO, Martins WP. Dydrogesterone vs progesterone for luteal-phase support: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016;48(2):161-70.
70. Tavaniotou A, Smitz J, Bourgain C, Devroey P. Comparison between different routes of progesterone administration as luteal phase support in infertility treatments. *Hum Reprod* 2000;6(2):139–48.
71. Stavrens-Evers A, Nikas G, Sahlin L, Eriksson H, Landgren BM. Formation of pinopodes in human endometrium is associated with the concentrations of progesterone and progesterone receptors. *Fertil Steril* 2001;76(4):782–91.

72. Posaci C, Smitz J, Camus M, Osmanagaoglu K, Devroey P. Progesterone for luteal support of assisted reproductive technologies: clinical options. *Hum Reprod.* 2000;15(Suppl 1):129-48.
73. Fitzpatrick LA, Good A. Micronized progesterone: clinical indications and comparison with current treatments. *Fertil Steril* 1999;72(3):389–97.
74. Bourgain C1, Devroey P, Van Waesberghe L, Smitz J, Van Steirteghem AC. Effects of natural progesterone on the morphology of the endometrium in patients with primary ovarian failure. *Hum Reprod* 1990;5(5):537–43.
75. de Ziegler D, Bergeron C, Cornel C, Medalie DA, Massai MR, Milgrom E i sur. Effects of luteal estradiol on the secretory transformation of human endometrium and plasma gonadotropins. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;74(2):322–31.
76. 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.
77. 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):905–908.
78. Feichtinger M, Hajek J, Kemter P, Feichtinger W J. Effect of Luteal Phase Support Comparing Early (Day 1) and Late (Day 4) Initiation with Pregnancy Rates. *Reproduktionsmed. Endokrinol* 2011;8(4):288-290.
79. Connell MT, Szatkowski JM, Terry N, DeCherney AH, Propst AM, Hill MJ. Timing luteal support in assisted reproductive technology: a systematic review. *Fertil Steril.* 2015;103(4):939-946.e3. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.12.125.
80. 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. *Reprod Biomed Online.* 2014;28(3):330-5. doi: 10.1016/j.rbmo.2013.10.022.
81. Schmidt KL, Ziebe S, Popovic B, Lindhard A, Loft A, Andersen AN. Progesterone supplementation during early gestation after in vitro fertilization has no effect on the delivery rate. *Fertil Steril* 2001;75(2):337–341.
82. Nyboe Andersen A, Popovic-Todorovic B, Schmidt KT, Loft A, Lindhard A, Højgaard A, i sur. Progesterone supplementation during early gestations after IVF or ICSI has no effect on the delivery rates: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2002;17(2):357–361.

83. 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;13;10:107. doi: 10.1186/1477-7827-10-107.
84. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, i sur. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology; World Health Organization. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. *Fertil Steril.* 2009;92(5):1520-4. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.09.009.
85. Šimunić V i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost. Medicinski pomognuta oplodnja i IVF. Zagreb: Školska knjiga; 2012.
86. Šimunić V. Kliničke smjernice za medicinski pomognutu oplodnju. *Medix,* 2013;19(104/105),132-146.
87. Carrell DT, Peterson CM. *Reproductive Endocrinology and Infertility.* New York: Springer; 2010.
88. Williams RS, Vensel T, Sstrom CL, Kipersztok S, Rhoton-Vlasak A, Drury K. Pregnancy rates in varying age groups after in vitro fertilization: a comparison of follitropin alfa (Gonal F) and follitropin beta (Follistim). *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189(2):342-6.
89. Filicori M, Cognigni GE, Taraborrelli S, Spettoli D, Ciampaglia W, de Fatis CT, i sur. Luteinizing hormone activity supplementation enhances follicle-stimulating hormone efficacy and improves ovulation induction outcome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(8):2659–2663.
90. Andersen CY, Ezcurra D. Human steroidogenesis: implications for controlled ovarian stimulation with exogenous gonadotropins. *Reprod Biol Endocrinol.* 2014;28;12:128. doi: 10.1186/1477-7827-12-128.
91. Ubaldi F, Camus M, Smits J, Bennink HC, Van Steirteghem A, Devroey P. Premature luteinization in in vitro fertilization using gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH-a) and recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) and GnRH-a and urinary FSH. *Fertil Steril.* 1996;66(2):275–280.
92. Beckers NG, Laven JS, Eijkemans MJ, Fauser BC: Follicular and luteal phase characteristics following early cessation of gonadotrophin-releasing hormone agonist during ovarian stimulation for in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 2000,15(1):43–49.

93. Bungum L, Jacobsson AK, Rosén F, Becker C, Yding Andersen C, Güner N, i sur.: Circadian variation in concentration of anti-Müllerian hormone in regularly menstruating females: relation to age, gonadotrophin and seks steroid levels. *Hum Reprod.* 2011 Mar;26(3):678-84. doi: 10.1093/humrep/deq380.
94. Xu B, Li Z, Zhang H, Jin L, Li Y, Ai J, i sur. Serum progesterone level effects on the outcome of in vitro fertilization in patients with different ovarian response: an analysis of more than 10,000 cycles. *Fertil Steril.* 2012;97(6):1321–7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.03.014.
95. Santos-Ribeiro S, Polyzos NP, Haentjens P, Smits J, Camus M, Tournaye H, i sur. Live birth rates after IVF are reduced by both low and high progesterone levels on the day of human chorionic gonadotrophin administration. *Hum Reprod.* 2014;29(8):1698–705. doi: 10.1093/humrep/deu151.
96. 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;19(5):433-57. doi: 10.1093/humupd/dmt014
97. Huang R, Fang C, Xu S, Yi Y, Liang X. Premature progesterone rise negatively correlated with live birth rate in IVF cycles with GnRH agonist: an analysis of 2,566 cycles. *Fertil Steril.* 2012;98(3):644–70. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.05.024.
98. Huang CC, Lien YR, Chen HF, Chen MJ, SHieh CJ, Yalo JL, i sur. The duration of pre-ovulatory serum progesterone elevation before hcg administration affects the outcome of IVF/ICSI cycles. *Hum Reprod.* 2012;27(7):2036–45. doi: 10.1093/humrep/des141.
99. Check JH, AMui J, Choe JK, Brasile D. Relationship of serum progesterone level the day after human chorionic gonadotropin injection on outcome following in vitro fertilization embryo transfer. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2009;36(4):214–5.
100. Rybkin I, Bareh G, Wei K, Jacobson JD, Corselli J, Chan PJ. Progesterone levels and IVF pregnancy *Fertil Steril* [Internet]. 2016, October 19 [pristupljeno 07.02.2017];P-610. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.07.952>
101. Özlü T, Güngör A, Dönmez ME, Duran B. Use of progestogens in pregnant and infertile patients. *Arch Gynecol Obstet.* 2012;286(2):495-503. doi: 10.1007/s00404-012-2340-4.
102. Özlü T, Burney RO, Schust DJ, Yao MWM. Infertility. U: Berek Js, ur. Berek & Novak's Gynecology. 14 izd. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. Str. 1185-1287.

103. Muñoz E, Taboas E, Portela S, Aguilar J, Fernandez I, Muñoz L, i sur. Treatment of luteal phase defects in assisted reproduction. *Curr Drug Targets*. 2013;14(8):832-42.
104. Yding Andersen C, Vilbourn Andersen K. Improving the luteal phase after ovarian stimulation: reviewing new options. *Reprod Biomed Online*. 2014;28(5):552-9. doi: 10.1016/j.rbmo.2014.01.012.
105. Gianaroli L, Racowsky C, Geraedts J, Cedars M, Makrigiannakis A, Lobo RA. Best practices of ASRM and ESHRE: a journey through reproductive medicine. *Fertil Steril*. 2012;98(6):1380-94. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.07.1164.
106. Yanushpolsky E, Hurwitz S, Greenberg L, Racowsky C, Hornstein MD. Comparison of Crinone 8% intravaginal gel and intramuscular progesterone supplementation for in vitro fertilization/embryo transfer in women under age 40: interim analysis of a prospective randomized trial. *Fertil Steril*. 2008;89(2):485-7.
107. Yanushpolsky E, Hurwitz S, Greenberg L, Racowsky C, Hornstein M. Patterns of luteal phase bleeding in in vitro fertilization cycles supplemented with Crinone vaginal gel and with intramuscular progesterone--impact of luteal estrogen: prospective, randomized study and post hoc analysis. *Fertil Steril*. 2011;95(2):617-20. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.04.039.
108. Saharkhiz N, Zamaniyan M, Salehpour S, Zadehmodarres S, Hoseini S, Cheraghi L, i sur. A comparative study of dydrogesterone and micronized progesterone for luteal phase support during in vitro fertilization (IVF) cycles. *Gynecol Endocrinol*. 2016;32(3):213-7. doi: 10.3109/09513590.2015.1110136.
109. Ganesh A, Chakravorty N, Mukherjee R, Goswami S, Chaudhury K, Chakravarty B. Comparison of oral dydrogestrone with progesterone gel and micronized progesterone for luteal support in 1,373 women undergoing in vitro fertilization: a randomized clinical study. *Fertil Steril*. 2011;95(6):1961-5. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.01.148.
110. Salehpour S, Tamimi M, Saharkhiz N. Comparison of oral dydrogesterone with suppository vaginal progesterone for luteal-phase support in in vitro fertilization (IVF): A randomized clinical trial. *Iran J Reprod Med*. 2013;11(11):913-8.
111. Nadarajah R, Rajesh H, Wong KY, Faisal F, Yu SL. Live birth rates and safety profile using dydrogesterone for luteal phase support in assisted reproductive techniques. *Singapore Med J*. 2017;58(6):294-297. doi: 10.11622/smedj.2016080.
112. Barbosa MW, Silva LR, Navarro PA, Ferriani RA, Nastri CO, Martins WP. Dydrogesterone vs progesterone for luteal-phase support: systematic review and meta-

- analysis of randomized controlled trials. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016;48(2):161-70. doi: 10.1002/uog.15814.
113. Chakravarty BN, Shirazee HH, Dam P, Goswami SK, Chatterjee R, Ghosh S. Oral dydrogesterone versus intravaginal micronised progesterone as luteal phase support in assisted reproductive technology (ART) cycles: results of a randomised study. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2005;97(5):416-20.
 114. Iwase A, Ando H, Toda S, Ishimatsu S, Harata T, Kurotsuchi S, i sur. 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.
 115. Patki A, Pawar VC. Modulating fertility outcome in assisted reproductive technologies by the use of dydrogesterone. *Gynecol Endocrinol.* 2007;23(Suppl 1):S68-72.
 116. Sofuoğlu K, Gun I, Sahin S, Ozden O, Tosun O, Eroglu M. Vaginal micronized progesterone capsule versus vaginal progesterone gel for luteal support in normoresponder IVF/ICSI-ET cycles. *Pak J Med Sci.* 2015;31(2):314-9. doi: 10.12669/pjms.312.6613.
 117. Gün İ, Özdamar Ö, Şahin S, Çetingöz E, Sofuoğlu K. Progesterone vaginal capsule versus vaginal gel for luteal support in normoresponder women undergoing long agonist IVF/ICSI cycles. *Ginekol Pol.* 2016;87(5):372-7. doi: 10.5603/GP.2016.0007.
 118. Bergh C, Lindenberg S, Nordic Crinone Study Group. A prospective randomized multicentre study comparing vaginal progesterone gel and vaginal micronized progesterone tablets for luteal support after in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 2012;27(12):3467-73. doi: 10.1093/humrep/des341.
 119. Zarutskie PW, Phillips JA. A meta-analysis of the route of administration of luteal phase support in assisted reproductive technology: vaginal versus intramuscular progesterone. *Fertil Steril.* 2009;92(1):163-9. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.02.018.
 120. Geber S, Moreira AC, de Paula SO, Sampaio M. Comparison between two forms of vaginally administered progesterone for luteal phase support in assisted reproduction cycles. *Reprod Biomed Online.* 2007;14(2):155-8.
 121. Polyzos NP, Messini CI, Papanikolaou EG, Mauri D, Tzioras S, Badawy A, i sur. Vaginal progesterone gel for luteal phase support in IVF/ICSI cycles: a meta-analysis. *Fertil Steril.* 2010;94(6):2083-7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.12.058.

122. Feinberg EC, Beltsos AN, Nicolaou E, Marut EL, Uhler ML. Endometrin as luteal phase support in assisted reproduction. *Fertil Steril.* 2013;99(1):174-8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.09.019.
123. Simon JA, Robinson DE, Andrews MC, Hildebrand JR 3rd, Rocci ML Jr, Blake RE, et al. The absorption of oral micronized progesterone: the effect of food, dose proportionality, and comparison with intramuscular progesterone. *Fertil Steril.* 1993;60(1):26-33.
124. Bourgain C, Devroey P, Van Waesberghe L, Smits J, Van Steirteghem AC. Effects of natural progesterone on the morphology of the endometrium in patients with primary ovarian failure. *Hum Reprod.* 1990;5(5):537.
125. Janát-Amsbury MM, Gupta KM, Kablitz CD, Peterson CM. Drug delivery for in vitro fertilization: rationale, current strategies and challenges. *Adv Drug Deliv Rev.* 2009;61(10):871-82. doi: 10.1016/j.addr.2009.04.019.
126. van Broekhoven F, Backstrom T, Verkes RJ. Oral progesterone decreases saccadic eye velocity and increases sedation in women. *Psychoneuroendocrinology.* 2006;31(10):1190-9.
127. de Lignières B. Oral micronized progesterone. *Clin Ther.* 1999;21(1):41-60.
128. Dydrogesterone. SGH ePharmacopoeia [Internet]. [pristupljeno 20.07.2017]. Dostupno na: http://online.lexi.com/lco/action/doc/retrieve/docid/multinat_f/4667159.
129. Fujiwara T. A multi-center, randomized, open-label, parallel group study of a natural micronized progesterone vaginal tablet as a luteal support agent in Japanese women undergoing assisted reproductive technology. *Reprod Med Biol.* 2015;14(4):185-193.
130. Jabara S, Barnhart K, Schertz JC, Patrizio P. Luteal phase bleeding after IVF cycles: comparison between progesterone vaginal gel and intramuscular progesterone and correlation with pregnancy outcomes. *J Exp Clin Assist Reprod.* 2009;6:6.
131. Cicinelli E, De Ziegler D, Bulletti C, Matteo MG, Schonauer LM, Galantino P. Direct transport of progesterone from vagina to uterus. *Obstet. Gynecol.* 2000;95(3):403-406.
132. Levy T, Yairi Y, Bar-Hava I, Shalev J, Orvieto R, Ben-Rafael Z. Pharmacokinetics of the progesterone-containing vaginal tablet and its use in assisted reproduction. *Steroids.* 2000;65(10-11):645-9.
133. Janát-Amsbury MM1, Gupta KM, Kablitz CD, Peterson CM. Drug delivery for in vitro fertilization: rationale, current strategies and challenges. *Adv Drug Deliv Rev.* 2009;61(10):871-82. doi: 10.1016/j.addr.2009.04.019.

134. de Ziegler D, Fanchin R, de Moustier B, Bulletti C. The hormonal control of endometrial receptivity: estrogen (E2) and progesterone. *J Reprod Immunol.* 1998;39(1-2):149-66.
135. Simunic V, Tomic V, Tomic J, Nizic D. Comparative study of the efficacy and tolerability of two vaginal progesterone formulations, Crinone 8% gel and Utrogestan capsules, used for luteal support. *Fertil Steril.* 2007;87(1):83-7. Erratum in: *Fertil Steril.* 2007;88(1):254.
136. 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):1019-1027. doi: 10.1093/humrep/dex023.
137. Kleinstein J. Luteal Phase Study Group. Efficacy and tolerability of vaginal progesterone capsules (Utrogest 200) compared with progesterone gel (Crinone 8%) for luteal phase support during assisted reproduction. *Fertil Steril.* 2005;83(6):1641-9.
138. Ludwig M, Schwartz P, Babahan B, Katalinic A, Weiss JM, Felberbaum R, i sur. Luteal phase support using either Crinone 8% or Utrogest: results of a prospective, randomized study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2002;103(1):48-52.
139. Ng EH, Miao B, Cheung W, Ho PC. A randomised comparison of side effects and patient inconvenience of two vaginal progesterone formulations used for luteal support in in vitro fertilisation cycles. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;111(1):50-4.
140. Lan VT, Tuan PH, Canh LT, Tuong HM, Howles CM. Progesterone supplementation during cryopreserved embryo transfer cycles: efficacy and convenience of two vaginal formulations. *Reprod Biomed Online.* 2008;17(3):318-23.
141. Schoolcraft WB, Hesla JS, Gee MJ. Experience with progesterone gel for luteal support in a highly successful IVF programme. *Hum Reprod.* 2000;15(6):1284-8.
142. Khosravi D, Taheripanah R, Taheripanah A, Tarighat Monfared V, Hosseini-Zijoud SM. Comparison of oral dydrogesterone with vaginal progesterone for luteal support in IUI cycles: a randomized clinical trial. *Iran J Reprod Med.* 2015;13(7):433-8.
143. Tomic V, Tomic J, Klaic DZ, Kasum M, Kuna K. Oral dydrogesterone versus vaginal progesterone gel in the luteal phase support: randomized controlled trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015;186:49-53. doi: 10.1016/j.ejogrb.2014.11.002.
144. Mirza FG, Patki A, Pexman-Fieth C. Dydrogesterone use in early pregnancy. *Gynecol Endocrinol.* 2016;32(2):97-106. doi: 10.3109/09513590.2015.1121982.

10. KRATKI ŽIVOTOPIS

Dr. med. Vlatka Tomić završila je osnovnu školu i gimnaziju u Zagrebu, a Medicinski fakultet Sveučilišta J.J.Strossmayer u Osijeku.

Znanstveni novak na Katedri za ginekologiju i porodništvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, na Klinici za ženske bolesti i porode – Petrova postaje 2005. godine.

Od 2006. do 2011. radila je na Klinici za ginekologiju i porodništvo KBC-a Sestara Milosrdnica u Zagrebu, gdje uspješno završava istoimenu specijalizaciju.

Od 2014. do 2015. radila je u Njemačkoj u Kreiskrankenhaus Mittleres Erzgebirge Zschopau.

Od 2015. do danas radi u Austriji u Uniklinikum Salzburg na Odjelu ginekološke endokrinologije i humane reprodukcije.

Kao predavač sudjeluje na međunarodnim i domaćim znanstvenim, te stručnim kongresima i simpozijima. Autor je oko 30-ak stručnih i znanstvenih radova, od kojih je rad „Impact of Embryo Quality and Endometrial Thickness on Implantation in 500 Natural IVF/ET Cycles“ proglašen najboljim na 13th World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology and Infertility. Recenzent je uglednih međunarodnih časopisa British Journal of Gynecology and Obstetrics, Fertility and Sterility i Gynecological Endocrinology. Član je uredničkog odbora međunarodnog časopisa Journal of Fertilization: In Vitro.

Prilog 1. Simunic V, Tomic V, Tomic J, Nizic D. Comparative study of the efficacy and tolerability of two vaginal progesterone formulations, Crinone 8% gel and Utrogestan capsules, used for luteal support. *Fertil Steril.* 2007;87(1):83-7. Erratum in: *Fertil Steril.* 2007;88(1):254.

Prilog 2. Tomic V, Tomic J, Klaic DZ. Oral micronized progesterone combined with vaginal progesterone gel for luteal support. *Gynecol Endocrinol.* 2011;27(12):1010-3. doi: 10.3109/09513590.2011.569791.

Prilog 3. Tomic V, Tomic J, Klaic DZ, Kasum M, Kuna K. Oral dydrogesterone versus vaginal progesterone gel in the luteal phase support: randomized controlled trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015;186:49-53. doi: 10.1016/j.ejogrb.2014.11.002.