

Suporte da fase lútea

Luteal phase support

Wellington de Paula Martins*

Palavras-chave

Fase lútea
Progesterona
Gravidez

Keywords

Luteal phase
Progesterone
Pregnancy

Resumo

Em mulheres que desejam engravidar, uma função adequada do corpo lúteo é importante tanto para melhorar a receptividade endometrial quanto para garantir a manutenção da gestação inicial. Uma produção de progesterona insuficiente pelo corpo lúteo poderia, então, levar tanto à infertilidade quanto a repetidas perdas gestacionais precoces. A maneira mais utilizada atualmente para se realizar o diagnóstico é por meio da biópsia do endométrio, método mostrado por estudos atuais como inadequado para o diagnóstico da síndrome. Esta revisão de literatura buscou juntar informações baseadas nas melhores evidências atuais sobre o diagnóstico de insuficiência do corpo lúteo e, principalmente, sobre tratamentos propostos como suporte na fase lútea para mulheres que desejam engravidar.

Abstract

In women who wish to become pregnant, a proper function of the *corpus luteum* is very important both to improve endometrial receptivity and to guarantee the maintenance of early pregnancy. An insufficient production of progesterone by the *corpus luteum* could then lead to infertility as well to repeated early pregnancy loss. The easiest way currently used to perform the diagnosis is by biopsy of the endometrium, method which current studies show that it is inappropriate for the diagnosis of the syndrome. This literature review attempted to gather information based on best current evidence on *corpus luteum* insufficiency, mostly about proposed treatments and support during the luteal period for women who wish to become pregnant.

Introdução

A progesterona produzida pelo corpo lúteo é fundamental no processo de preparo endometrial, na implantação embrionária e na manutenção da gravidez inicial. As células da granulosa luteinizadas, presentes no corpo lúteo, são as responsáveis pela produção de progesterona em resposta à estimulação com hormônio luteinizante (LH) e/ou gonadotrofina coriônica humana (hCG) quando ocorre a gravidez. Após um desenvolvimento inicial da placenta, esta passa a ser a principal responsável pela produção de progesterona, o que ocorre em torno da oitava ou nona semana de gestação. Uma quantidade insuficiente de progesterona no momento da implantação e durante a fase inicial da gravidez pode causar infertilidade e/ou abortos recorrentes. Essa insuficiência pode ocorrer naturalmente, porém é muito mais comum quando as mulheres são submetidas a procedimentos de reprodução assistida, em que ocorre estimulação ovariana com uso de quantidades elevadas de gonadotrofinas exógenas e aspiração das células da granulosa junto com o líquido folicular, para a captação dos ovócitos.

A progesterona pode então ser utilizada para melhorar o preparo endometrial e evitar perdas gestacionais. Para revisar esse assunto, em dezembro de 2009 foram levantados artigos na base de informações PubMed com seleção de pesquisas apenas em seres humanos, utilizando os seguintes descritores em saúde: fase luteal e progesterona. Dessa busca retornaram 5.289 artigos, sendo 488 ensaios clínicos e 11 meta-análises. Selecionamos 25 artigos que julgamos serem os mais importantes para construir este texto, baseando-se na força de evidência do artigo (preferência para as meta-análises e ensaios clínicos), no período de publicação (preferência para o mais atual) e se realmente se tratavam de artigos sobre uso de suporte na fase lútea.

Corpo lúteo

Durante a fase folicular ou proliferativa do ciclo menstrual, ocorre o crescimento de folículos ovarianos sob ação de gonadotrofinas. Em um ciclo natural, geralmente um folículo se destaca nesse crescimento, sendo esse folículo o responsável pela ovulação, que ocorre geralmente 48 horas após o pico de liberação de hormônio luteinizante (LH) pela hipófise. Após a liberação do óvulo, o restante do folículo é chamado de corpo lúteo (do latim, corpo amarelo), sendo sua principal função a produção de progesterona, que nesse período é importante para preparação do endométrio de maneira a facilitar a implantação. Quando esta não ocorre, o corpo lúteo permanece ativo por aproximadamente 14 dias, sendo este período chamado

de fase lútea. Após essa fase, o corpo lúteo degenera e passa a ser chamado de corpo *albicans* (do latim, corpo branco), sendo constituído principalmente de estroma fibroso. Sem o corpo lúteo há queda na concentração sérica de progesterona e menstruação. Quando ocorre a implantação, o corpo lúteo continua a produzir progesterona, devido ao estímulo da gonadotrofina coriônica humana (hCG) produzida pelo embrião. Nesse período, a progesterona é fundamental para a manutenção da gestação.

Progesterona e receptividade endometrial

A progesterona produzida pelo corpo lúteo é a responsável por várias mudanças no endométrio, transformando-o do padrão proliferativo para o padrão secretor, que é importante para o desenvolvimento inicial do embrião. Nessa transformação, as glândulas se tornam tortuosas e secretórias, associadas a um aumento da vascularização. Entretanto, o endométrio fica receptivo à implantação apenas por um período curto, em geral em torno de 6 a 10 dias após a ovulação, ou entre o 20º e 24º dia de um ciclo idealizado de 28 dias, considerando o 14º como o dia do pico de LH. Um estudo observacional avaliou dados de 189 gestações e definiu o momento da ovulação por meio da relação entre metabólitos do estradiol e progesterona na urina (que muda rapidamente a partir da luteinização do folículo) e o momento da implantação como o surgimento de hCG na urina, sendo que 141 gestações (75%) passaram de 6 semanas de idade gestacional e 48 evoluíram para perda gestacional precoce. Das 141 mulheres que tiveram gestação que evoluíram mais de 6 semanas, 118 (84%) tiveram a implantação no 8º, 9º ou 10º dia após a ovulação. A proporção de fetos que evoluíram para perda precoce aumentou gradativamente conforme o dia da implantação: enquanto apenas 13% das gestações com implantação no 9º dia evoluíram para perda inicial, esta proporção subiu para 26% quando a implantação ocorreu no 10º dia; para 52% quando foi no 11º dia; e para 82% quando ocorreu após o 11º dia¹(B). Esse período, denominado “janela de implantação” ocorre no momento de máxima liberação de progesterona pelo corpo lúteo, e também é o momento quando há maior expressão de pinopodos e $\alpha\beta 3$ -integrinas no endométrio, que são importantes no processo de implantação²(B). Pinopodos são definidos como pequenas protrusões esféricas, sem microvilos, na superfície apical do lúmen endometrial, que aumentam a superfície do endométrio e trazem suas paredes para mais perto do embrião. Já as integrinas são glicoproteínas que agem como receptores de superfícies importantes na interação célula-célula e célula substrato.

Progesterona e manutenção da gestação inicial

Além de ser importante na preparação do endométrio para a implantação, a progesterona também é muito importante na manutenção da gestação inicial por promover o relaxamento das fibras musculares uterinas, permitindo o desenvolvimento da gestação. Durante a fase inicial da gestação, esta é produzida pelo corpo lúteo, que é estimulado pelo hCG. Porém a partir da oitava ou nona semana de idade gestacional, a placenta assume essa função, o que é chamado de “mudança lúteo-placentária”³(B). Essa mudança foi demonstrada por um estudo clássico do início da década de 1970, em que o corpo lúteo foi removido de 12 pacientes para indução do aborto durante cirurgia de laqueadura tubárea.. Nas sete mulheres que removeram o corpo lúteo em torno da sétima semana de idade gestacional (49 ± 2 dias; média \pm erro padrão), o corpo lúteo apresentava um tamanho em torno de 21 ± 1 mm, houve queda progressiva da progesterona, evoluindo com aumento da pressão uterina, liberação de oxitocina, dilatação cervical e aborto; enquanto isso, as cinco mulheres que tiveram o corpo lúteo removido em torno da oitava para nona semana de idade gestacional (61 ± 4 dias), o corpo lúteo apresentava um diâmetro de 11 ± 1 mm, houve apenas uma queda transitória nos níveis de progesterona e nenhuma abortou⁴(B). Dessa maneira, a produção de progesterona pelo corpo lúteo parece muito importante para a manutenção da gestação nas primeiras oito semanas de idade gestacional, e perdas gestacionais neste período, pelo menos teoricamente, podem ter relação com uma insuficiência do corpo lúteo.

Insuficiência do corpo lúteo

Embora se considere a associação de insuficiência do corpo lúteo e infertilidade, esta associação e mesmo o diagnóstico da insuficiência do corpo lúteo é um assunto muito controverso. A investigação considerada “padrão-ouro” é a demonstração de um atraso na maturação no endométrio maior que dois dias, por meio da avaliação da histologia de pelo menos duas biópsias de endométrio colhidas na fase lútea⁵(B), geralmente entre o 21º e o 27º dia do ciclo menstrual. Outra maneira descrita para se fazer o diagnóstico de insuficiência do corpo lúteo seria a dosagem da progesterona sérica na fase lútea, porém postula-se que seria menos adequado devido ao caráter pulsátil da liberação da progesterona, enquanto o endométrio representaria a ação da progesterona por tempo mais longo.

Como a associação lógica entre um atraso na maturação endometrial tem relação com a pior receptividade endometrial, a

avaliação da insuficiência do corpo lúteo através de biópsias do endométrio é muitas vezes sugerida em casos de infertilidade sem causa aparente. Entretanto, as melhores evidências, com estudos realizados com centenas de casais férteis e inférteis, mostram não haver relação entre o diagnóstico da insuficiência do corpo lúteo e a infertilidade^{6,7}(B), mesmo no tratamento da insuficiência do corpo lúteo em mulheres com endométrio, mostrando que o atraso não aumenta as chances de gravidez⁷(B). Porém, talvez o método considerado como “padrão-ouro” para o diagnóstico de insuficiência do corpo lúteo não seja adequado: um estudo observacional avaliando a reprodutibilidade e a acurácia da biópsia do endométrio em determinar o dia do ciclo por três diferentes ginecologistas histopatologistas mostrou que a biópsia do endométrio não deve ser considerada uma ferramenta válida para o diagnóstico de insuficiência de corpo lúteo, devido à baixa reprodutibilidade e incapacidade do método em discernir uma diferença de poucos dias⁸. Além disso, um recente ensaio clínico com distribuição aleatória demonstrou que a biópsia do endométrio não reflete a biodisponibilidade de progesterona e não pode ser considerado como um teste para avaliar a função biológica do corpo lúteo⁹(A). Então, as evidências atuais são claras ao afirmar que não existe utilidade na realização da biópsia do endométrio para avaliação da insuficiência do corpo lúteo, ainda que algum tratamento seja benéfico, apesar de o primeiro ensaio clínico¹⁰(B), publicado há quase 30 anos, ter mostrado vantagem no suporte à fase lútea utilizando progesterona para mulheres com biópsia de endométrio alterada.

Porém, há grupos de mulheres que podem se beneficiar do suporte à fase lútea, mesmo que o diagnóstico histológico não deva ser realizado. É o caso, por exemplo, das mulheres com abortamento recorrente (três ou mais perdas consecutivas). Uma recente meta-análise¹¹(A) mostrou redução significativa no risco de abortamento (OR=0,38, com intervalo de confiança [IC] de 95% = 0,20-0,70), quando mulheres com esse diagnóstico são tratadas com progesterona na primeira metade da gestação. Entretanto, essa mesma meta-análise mostrou que não existe benefício se utilizada por todas as mulheres (OR=0,98; IC95% = 0,78-1,24), mostrando que o uso de progesterona de maneira indiscriminada não traz benefícios.

Tratamento da insuficiência do corpo lúteo em ciclos de reprodução assistida

Enquanto há muita controvérsia e poucos estudos de qualidade sobre a relação entre insuficiência do corpo lúteo e infertilidade, a suplementação medicamentosa durante a fase lútea em ciclos de reprodução assistida é um assunto muito mais bem estudado.

Em ciclos de reprodução assistida com fertilização *in vitro* de embriões (FIV), o uso de agonistas e/ou antagonistas do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) é rotineiro, sendo utilizado para evitar um pico de liberação de LH endógeno, permitindo que um maior número de folículos se desenvolva e que mais ovócitos atinjam a maturidade antes da captação. Infelizmente, embora o seu uso seja muito importante para os ciclos de reprodução assistida, estes medicamentos são deletérios para a formação do corpo lúteo, pois impedem uma liberação adequada de LH pela hipófise, levando a uma produção de progesterona e estradiol inadequada pelo corpo lúteo, o que pode comprometer a receptividade endometrial e a manutenção da fase inicial da gestação. Na tentativa de corrigir esse problema, o suporte na fase lútea em ciclos de FIV é comum, podendo ser realizado de várias maneiras, em geral envolvendo uso de progesterona, hCG e mesmo estradiol, isolados ou em combinação.

As quatro meta-análises, avaliando-se o uso de progesterona ou hCG como suporte na fase lútea, são concordantes em afirmar que tal suporte é benéfico em ciclos de reprodução assistida, pois aumentam a taxa de gravidez¹²⁻¹⁵(A). Além disso, também acordam em demonstrar maior risco de síndrome de hiperestimulação ovariana, quando hCG é utilizado, sem demonstrar vantagens nas taxas de gravidez quando comparado ao uso isolado de progesterona, o que também é demonstrado em ensaios clínicos mais atuais¹⁶(A). O suporte na fase lútea com progesterona em ciclos de reprodução assistida demonstrou-se eficaz até mesmo em ciclos em que é realizada apenas a inseminação intrauterina (IUI), quando agonistas e/ou antagonistas de GnRH não são utilizados. Um ensaio clínico com distribuição aleatória, avaliando 214 mulheres com infertilidade sem causa aparente, demonstrou uma taxa de gravidez significativamente mais elevada em mulheres recebendo progesterona vaginal como suporte na fase lútea, comparado com controles (21,1 *versus* 12,7%; $p=0,028$; uso de progesterona vaginal e controle, respectivamente)¹⁷(A). Com essa observação, pode ser sugerido que mesmo uma resposta paucifolicular, observada durante uma estimulação ovariana leve anterior à inseminação intrauterina, pode induzir insuficiência lútea a esses ciclos, mesmo não sendo utilizados agonistas e/ou antagonistas de GnRH. Outra hipótese seria que estas mulheres (com infertilidade sem causa aparente) têm maior probabilidade de apresentar uma insuficiência do corpo lúteo.

Duração do tratamento

Apesar de o consenso sobre o uso de progesterona em ciclos de reprodução assistida ser benéfico, o mesmo não existe com relação à duração desse tratamento, sendo que teoricamente teria

importância até a oitava ou nona semana de idade gestacional, quando a placenta já é capaz de produzir progesterona suficiente. Entretanto, em diferentes centros de reprodução assistida, a duração desse suporte varia, podendo durar somente até a identificação em embrião e batimento cardíaco fetal (em torno da 6ª ou 7ª semana de idade gestacional) ou até o final do primeiro trimestre (12ª semana). Um estudo clínico com distribuição aleatória ao avaliar 257 mulheres que foram distribuídas para receber suporte na fase lútea somente até a identificação do batimento cardíaco fetal (132 mulheres) ou por mais 3 semanas (125 mulheres), não identificou diferenças significativas na taxa de aborto ou sangramento, porém estes foram discretamente mais elevados no grupo que parou o suporte da fase lútea mais precocemente (4,6 e 4,8% abortamento; 15,9 e 20,8% episódios de sangramento)¹⁸(A). Apesar disso, os autores concluem que seria mais interessante a interrupção mais precoce do suporte à fase lútea (logo após o primeiro exame de ultrassonografia), uma vez que se houver benefício do uso mais prolongado, este seria pequeno e não justificaria a exposição do feto ao uso de medicamentos por um maior período, justamente no de embriogênese.

Comparação de diferentes tratamentos para insuficiência do corpo lúteo em ciclos de reprodução assistida

Existe bastante controvérsia sobre qual esquema terapêutico seria o mais adequado para ser utilizado como suporte na fase lútea em ciclos de reprodução assistida, e vários estudos comparando diferentes tratamentos já foram publicados.

Progesterona vaginal *versus* intramuscular

Uma recente meta-análise¹⁹(A) avaliou os estudos comparando duas diferentes vias de administração de progesterona: via vaginal (progesterona gel 8%; 90 mg/dia ou progesterona cápsulas 600 mg/dia, 200 mg três vezes ao dia) *versus* via intramuscular (50 mg/dia) publicados entre 1992 e 2008. Essa meta-análise veio atualizar outra anterior, publicada em 2004¹³(A), a qual concluiu que havia evidência de que a administração de progesterona por via intramuscular aumentaria as chances de gravidez clínica e de nascimento vivo. O motivo para atualizar a meta-análise anterior foi excluir estudos que utilizaram progesterona vaginal em doses mais baixas^{20, 21}(A) e incluir dois novos estudos publicados em 2008^{22, 23}(A). Nessa meta-análise foram então incluídos resultados de nove estudos que compararam progesterona vaginal (sete de progesterona gel vaginal e dois de progesterona cápsulas) *versus* progesterona intramuscular. O resultado foi que não houve diferença significativa na taxa de

gravidez clínica ou de nascimento vivo ao se comparar estas duas apresentações: taxa de gravidez clínica=34,2% (276/808) *versus* 36,3% (295/812); vaginal *versus* intramuscular respectivamente, $p=0,38$; e na taxa de gestação que chegaram ao termo=25,3% (129/509) *versus* 26,5% (135/510), vaginal *versus* intramuscular respectivamente, $p=0,68$. Além disso, essa análise demonstrou que com o uso de progesterona vaginal houve significativamente menos abortos que com o uso de progesterona intramuscular: taxa de abortamento=12,1% (18/149) *versus* 20,5% (35/171), vaginal *versus* intramuscular respectivamente, $p=0,036^{19}$ (A). Os autores dessa meta-análise concluíram, então, que o uso da progesterona via vaginal (cápsulas ou gel) é preferível ao uso de progesterona intramuscular, por ser mais fácil de utilizar, mais bem tolerado e ainda por reduzir a taxa de abortamento.

Adição de estradiol

Um corpo lúteo funcional produz tanto progesterona como estradiol. Quando se faz suporte da fase lútea com hCG, estimula-se a produção desses dois hormônios pelo corpo lúteo, porém tal medicamento quase não é mais utilizado devido à elevação do risco da síndrome de hiperestimulação ovariana. O uso de progesterona isolado mostrou-se bem eficaz; contudo, na tentativa de melhorar o suporte à fase lútea, vários estudos foram realizados adicionando-se estradiol ao suporte da fase lútea, comparando com o uso isolado de progesterona. Duas metas-análise sobre esse assunto foram publicadas recentemente. Uma delas, em junho de 2008 (on-line em abril de 2008)²⁴, juntou dados de seis ensaios clínicos prévios. Foi demonstrado que a adição de estradiol não aumenta a taxa de gravidez clínica: 39,41% (237/603) *versus* 39,30% (212/538), estrogênio+progesterona *versus* progesterona isolada respectivamente, $p=0,84$. A outra, publicada em dezembro de 2008 (on-line em janeiro de 2008)²⁵, condensou dados de 10 ensaios clínicos prévios e mostrou resultados similares, sem evidenciar vantagens na adição de estradiol

no suporte da fase lútea realizado com progesterona na taxa de gravidez. Deve-se levar em consideração, ao se pensar no uso de estradiol no suporte à fase lútea, que esse medicamento é considerado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) como na categoria X na gestação (estudos em animais ou humanos demonstraram anormalidades fetais e/ou há evidências positivas de risco fetal baseado em reação adversa, e os riscos envolvendo o uso dessas drogas em gestantes claramente superam os benefícios potenciais), sendo que as próprias bulas alertam contra a utilização de tal medicamento por mulheres grávidas.

Considerações finais

Em vista dos conhecimentos atuais, pode-se dizer claramente que não há benefício na realização da biópsia do endométrio para investigação de insuficiência do corpo lúteo, uma vez que o método não apresenta precisão suficiente para esse diagnóstico. A suplementação de progesterona em mulheres com infertilidade, que não estão sendo submetidas a procedimentos de reprodução assistida, ainda é um assunto pouco estudado, porém não há evidências de benefícios na taxa de gravidez e/ou abortamento, exceto em casos de abortamento habitual, em que o uso de progesterona leva a uma significativa redução na taxa de abortamento. Já nas mulheres submetidas a ciclos de reprodução assistida, a suplementação da fase lútea aumenta as chances de gravidez. Para essas mulheres, o mais adequado seria a utilização de progesterona vaginal, de forma isolada, durante as primeiras sete semanas de gestação, podendo se estender até a décima semana. A adição de estradiol não melhora as taxas de gravidez e essa droga deve ser evitada na gestação; o uso de progesterona via intramuscular não melhora as taxas de gravidez e ainda pode aumentar a taxa de abortamento e o uso de hCG nesta fase deve ser evitado, pois provoca maior risco de síndrome de hiperestimulação ovariana.

Leituras suplementares

1. Wilcox AJ, Baird DD, Weinberg CR. Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy. *N Engl J Med.* 1999;340(23):1796-9.
2. Creus M, Ordi J, Fabregues F, Casamitjana R, Carmona F, Cardesa A, et al. The effect of different hormone therapies on integrin expression and pinopode formation in the human endometrium: a controlled study. *Hum Reprod.* 2003;18(4):683-93.
3. Costea DM, Gunn LK, Hargreaves C, Howell RJ, Chard T. Delayed luteo-placental shift of progesterone production in IVF pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet.* 2000;68(2):123-9.
4. Csapo AI, Pulkkinen MO, Ruttner B, Sauvage JP, Wiest WG. The significance of the human corpus luteum in pregnancy maintenance. I. Preliminary studies. *Am J Obstet Gynecol.* 1972;112(8):1061-7.
5. Wentz AC. Endometrial biopsy in the evaluation of infertility. *Fertil Steril.* 1980;33(2):121-4.
6. Coutifaris C, Myers ER, Guzick DS, Diamond MP, Carson SA, Legro RS, et al. Histological dating of timed endometrial biopsy tissue is not related to fertility status. *Fertil Steril.* 2004;82(5):1264-72.
7. Balasch J, Fabregues F, Creus M, Vanrell JA. The usefulness of endometrial biopsy for luteal phase evaluation in infertility. *Hum Reprod.* 1992;7(7):973-7.
8. Murray MJ, Meyer WR, Zaino RJ, Lessey BA, Novotny DB, Ireland K, et al. A critical analysis of the accuracy, reproducibility, and clinical utility of histologic endometrial dating in fertile women. *Fertil Steril.* 2004;81(5):1333-43.
9. Usadi RS, Groll JM, Lessey BA, Lininger RA, Zaino RJ, Fritz MA, et al. Endometrial development and function in experimentally induced luteal phase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(10):4058-64.
10. Balasch J, Vanrell JA, Márquez M, Burzaco I, González-Merlo J. Dehydroprogesterone versus vaginal progesterone in the treatment of the endometrial luteal phase deficiency. *Fertil Steril.* 1982;37(6):751-4.

11. Haas DM, Ramsey PS. Progesterone for preventing miscarriage. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008(2):CD003511.
12. Nosarka S, Kruger T, Siebert I, Grove D. Luteal phase support in in vitro fertilization: meta-analysis of randomized trials. *Gynecol Obstet Invest*. 2005;60(2):67-74.
13. Daya S, Gunby J. Luteal phase support in assisted reproduction cycles. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004(3):CD004830.
14. Pritts EA, Atwood AK. Luteal phase support in infertility treatment: a meta-analysis of the randomized trials. *Hum Reprod*. 2002;17(9):2287-99.
15. Soliman S, Daya S, Collins J, Hughes EG. The role of luteal phase support in infertility treatment: a meta-analysis of randomized trials. *Fertil Steril*. 1994;61(6):1068-76.
16. Mui Lam P, Chun Cheung M, Ping Cheung L, Ingrid Lok H, John Haines C. Effects of early luteal-phase vaginal progesterone supplementation on the outcome of in vitro fertilization and embryo transfer. *Gynecol Endocrinol*. 2008;24(12):674-80.
17. Erdem A, Erdem M, Atmaca S, Guler I. Impact of luteal phase support on pregnancy rates in intrauterine insemination cycles: a prospective randomized study. *Fertil Steril*. 2009;91(6):2508-13.
18. Aboulghar MA, Amin YM, Al-Inany HG, Aboulghar MM, Mourad LM, Serour GI, et al. Prospective randomized study comparing luteal phase support for ICSI patients up to the first ultrasound compared with an additional three weeks. *Hum Reprod*. 2008;23(4):857-62.
19. 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.
20. Perino M, Brigandi FG, Abate FG, Costabile L, Balzano E, Abate A. Intramuscular versus vaginal progesterone in assisted reproduction: a comparative study. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 1997;24(4):228-31.
21. Artini PG, Volpe A, Angioni S, Galassi MC, Battaglia C, Genazzani AR. A comparative, randomized study of three different progesterone support of the luteal phase following IVF/ET program. *J Endocrinol Invest*. 1995;18(1):51-6.
22. 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.
23. Dal Prato L, Bianchi L, Cattoli M, Tarozzi N, Flamigni C, Borini A. Vaginal gel versus intramuscular progesterone for luteal phase supplementation: a prospective randomized trial. *Reprod Biomed Online*. 2008;16(3):361-7.
24. 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: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*. 2008;23(6):1346-54.
25. Gelbaya TA, Kyrgiou M, Tsoumpou I, Nardo LG. The use of estradiol for luteal phase support in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2008;90(6):2116-25.