



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

BLASTOKİST AŞAMASINDA EMBRİYO TRANSFERİ YAPILAN
DONDURULMUŞ EMBRİYO TRANSFERİ SIKLUSLARINDA MODİFİYE
DOĞAL SIKLUSLAR İLE HORMON REPLASMAN TEDAVİSİ
SIKLUSLARININ GEBELİK ORANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI:
RETROSPEKTİF DEĞERLENDİRME

UZMANLIK TEZİ

Dr. Selin Güney

Antalya, 2023



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

**BLASTOKİST AŞAMASINDA EMBRİYO TRANSFERİ YAPILAN
DONDURULMUŞ EMBRİYO TRANSFERİ SIKLUSLARINDA MODİFİYE
DOĞAL SIKLUSLAR İLE HORMON REPLASMAN TEDAVİSİ
UYGULANAN SIKLUSLARIN GEBELİK ORANLARININ
KARŞILAŞTIRILMASI: RETROSPEKTİF DEĞERLENDİRME**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Selin Güney

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Murat ÖZEKİNCİ

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2023

TEŞEKKÜR

Tüm uzmanlık eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen bilimsel birikimlerinde ve tecrübelerinden yararlanma imkanı bulduğum değerli hocam bölüm başkanı Sayın Prof. Dr. İ. İnanc MENDİLCİOĞLU'na, tez danışmanı hocam Sayın Doç. Dr. Murat ÖZEKİNCİ'ye eğitimim süresince büyük emeği geçen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocalarım; Prof. Dr. Tayup ŞİMŞEK'e, Prof. Dr. Mehmet ŞİMŞEK'e, Prof. Dr. Abdullah BOZTOSUN'a, Prof. Dr. Mete ÇAĞLAR'a, Prof. Dr. Nasuh Utku DOĞAN'a, Doç. Dr. Şafak OLGAN'a, Doç. Dr. Cem Yaşar SANHAL'a, Doç. Dr. Selen DOĞAN'a, Doç. Dr. Mahmut ilkin YERAL'a, Doç. Dr. Hasan Aykut TUNCER'e en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Eğitimim boyunca yoğun çalışma koşullarında omuz omuza çalıştığım tüm değerli asistan arkadaşlarıma,

Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniğinde çalıştığım süre boyunca emeği geçen tüm hemşire, ebe ve hastane personelimize,

Desteğiyle her daim yanımda olan, hayatın olduğu gibi zorlu asistanlık sürecinin her aşamasına da beraber göğüs gerdiğim, hayat arkadaşım, eşim Dr. Mert Cenker GÜNEY'e, evlatlarım İpek GÜNEY'e ve Osman Barlas GÜNEY'e,

Her daim destekleriyle yanımda olan sevgili ailem Dr.Dönay YILMAZ, Dr. Namık YILMAZ, Osman Selim Yılmaz, Seval GÜNEY, Osman GÜNEY'e

Teşekkürlerimle...

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. İnfertilite.....	4
2.2. İnfertilitenin Majör Kategorileri.....	4
2.2.1. Ovulatuvar Disfonksiyon ve Anovulasyon	4
2.2.2. Tubal İfertilite	6
2.2.3. Azalmış Ovaryan Rezerv.....	7
2.2.4. Uterin ve Servikal Faktörler	8
2.2.5. Endometriozis	8
2.2.6. Erkek Faktör	9
2.2.7. Açıklanamayan İnfertilite	9
2.3. İnfertilite Tedavisi.....	10
2.4. İn Vitro Fertilizasyon.....	11
2.5. IVF Tedavisi İle Dünyaya Gelen Çocukların Prognozu	12
2.5.1. Gebeliğe Bağlı Hipertansif Hastalıklar	13
2.5.2. Gestasyonel Diyabet.....	14
2.5.3. Preterm Doğum.....	14
2.5.4. Düşük Doğum Ağırlığı.....	14
2.5.5 Konjenital defektler ve imprinting bozuklukları	14

2.5.6. Nörolojik gelişim	15
2.6. Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon.....	16
2.6.1. GnRH Agonist Protokoller	17
2.6.2. GnRH Antagonist Protokoller	18
2.6.3. Estradiol Priming Protokolü	18
2.6.4. Mikrodoz Flare Protokolü	18
2.6.5. Doğal Siklus, modifiye doğal ve hafif stimülasyon protokolleri	18
2.6. Kriyoprezervasyon Yöntemleri	19
2.6.1 Yavaş Kademeli Soğutma Yöntemi	20
2.6.2. Vitrifikasyon Yöntemi.....	21
2.7. Embriyo Kriyoprezervasyonunun Evresi	22
2.7.1. Pronükleer Evrede Embriyo Kriyoprezervasyonu(1. Gün)	22
2.7.2. Erken Bölünme Evresinde(Klivaj) Embriyo Kriyoprezervasyonu(2-3. Gün).....	23
2.7.3. Blastokist Evresinde Embriyo Kriyoprezervasyonu (5.-6.gün)	23
2.8. Dondurulmuş Embriyo Transferi.....	24
2.9. Endometriyum Hazırlama Şekli	25
2.9.1. Gerçek doğal siklus:	26
2.9.2. Modifiye doğal siklus.....	27
2.9.3. Hormonal Tedavi Verilen Artifisiyel Sikluslar	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. Hasta Seçimi.....	31
3.2. Laboratuvar ve Embriyo Transfer Prosedürleri.....	31
3.2.1. Modifiye doğal siklus protokolü:	31
3.2.2. HRT Siklus Protokolü	32

3.3. Tanımlar	33
3.4. Veri Analizi	33
3.5. Etik Kurul Onayı.....	33
4. BULGULAR	34
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	47
7. ÖZET	48
8. ABSTRACT	49
10. EKLER	79
Ek 1. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onayı.....	79

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

IVF	İn Vitro Fertilizasyon
YÜT	Yardımcı Üreme Teknikleri
WOI	İmplantasyon Penceresi
HRT	Hormon Replasman Tedavisi
KOH	Kontrollü Ovaryen Hiperstimülasyon
HCG	Human Koryonik Gonadotropin
HT	Hormon Tedavisi
GnRH	Gonadotropin Relasing Hormon
LH	Luteinizan Hormon
EK	Endometrial Kalınlık
TVU	Trans Vajinal Ultrason
ICSI	İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
PKOS	Polikistik Over Sendromu
BVI	Bazal Vucut Isısı
HSG	Histerosalpingografi
AMH	Anti-müllerian Hormon
AFS	Antral Folikül Sayısı
MR	Manyetik Rezonans
IUI	İntrauterin İnseminasyon

GDM	Gestasyonel Diabetes Mellitus
BWS	Beckwith-Wideman Sendromu
PWS	Prader-Willi Sendromu
AS	Angelman Sendromu
SP	Serebral Palsi
OSB	Otizm Spektrum Bozuklukları
OHSS	Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 4.1. Çalışma gruplarına göre demografik özellikler	35
Tablo 4.2. Çalışma gruplarına göre infertilite nedeni	35
Tablo 4.3 Çalışma gruplarına göre sigara kullanım durumu	36
Tablo 4.4. Çalışma gruplarına göre gravida ve parite sayıları	37
Tablo 4.5. Çalışma gruplarına göre klinik özellikler	38
Tablo 4.6. Çalışma gruplarına göre verilen embriyo ve HCG	39
Tablo 4.7. HCG pozitif olan hastaların çalışma gruplarına göre özellikleri	40

ŞEKİLLER DİZİNİ**Şekil****Sayfa****Şekil 4.1.** Çalışma grupları

34



1.GİRİŞ

İnfertilite, 1 yıl süresince korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebe kalınmaması durumu olarak tanımlanır. (1) İnfertilite çiftlerin yaklaşık % 10-15 ini etkilemektedir. (2)

Yardımcı üreme teknikleri(YÜT), oositlerin vücut dışında direkt manipülasyonunu içeren tüm teknikleri kapsamaktadır. İlk ve hala en yaygın formu in vitro fertilizasyondur(IVF).(3)

IVF genel anlamda overlerin kontrollü ovaryan hiperstimülasyonu(KOH), oositlerin toplanması, oositlerin intrasitoplazmik sperm injeksiyonu(İCSI) veya konvansiyonel in vitro fertilizasyon yöntemi ile fertilizasyonunun sağlanması ve gelişen bir veya daha fazla embriyonun transfer işlemi ile endometiruma implantasyonu adımlarını içermektedir. (4) Günümüzde gelişmekte olan ülkelerde total popülasyonun %1,7-4'üne İVF uygulanmaktadır.(5)

IVF ilk olarak onarılamayacak düzeydeki tubal hastalıklara bağlı gelişen infertilitede gebelik elde etmek amacıyla geliştirilmiştir, fakat günümüzde infertilitenin her sebebinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.(3)

İVF ile dünyaya gelen ilk sağlıklı bebek 1978 yılında doğmuştur ve bunu takip eden süreçte yardımcı üreme teknikleri alanında meydana gelen gelişmeler ile dünya genelinde milyonlarca doğum sayısına ulaşılmıştır.(6)

1978 yılında tanıtılmasından bu yana in vitro fertilizasyon (IVF) geleneksel olarak taze embriyoların transferi ile gerçekleştirildi. IVF tedavisinin ilk yıllarında multipl embriyo gelişimi ve transferi için ovaryan hiperstimülasyon kullanılırdı. Ancak KOH ile çok sayıda embriyo gelişmesi ve fazla sayıda embriyonun aynı anda transfer edilmesi çoğul gebelik riskini arttırmaktadır. Son yıllarda kriyobiyoloji alanındaki gelişmelerle birlikte çoğul gebelikleri önlemek adına transfer edilen embriyoların sayısı zaman içerisinde azaltıldı (7,8).

1984 yılında donmuş insan embriyosunun transferi ile meydana gelen ilk canlı doğum Zeilmaker ve ark. tarafından bildirilmiştir.(9). O zamandan beri, kriyobiyojoloji alanındaki gelişmelerle embriyo kriyoprezervasyonu modern yardımcı üreme tekniklerinin ayrılmaz bir parçası haline gelmiştir. Donma-çözme siklusları ile elde edilen başarı, oosit başına toplam kümülatif gebelik oranlarını anlamlı olarak arttırmaktadır (10).

Donmuş embriyo transferi ile taze embriyo transferi karşılaştırıldığında daha az maternal ve perinatal morbidite ile ilişkili olduğu saptanmıştır (11,12). Aynı zamanda donmuş embriyo transferi ile ovaryan hiperstümulasyon sendromunun önüne geçilerek tek embriyo transferi sağlanması ve gebelik sonuçlarının iyileşmesi kaynaklı donmuş embriyo transferi IVF protokollerinde çoğunlukla kullanılmaktadır (6).

Başarılı implantasyon hem embriyolojik hem de endometriyal faktörlere bağlıdır ve embriyolar yalnızca reseptif bir endometriyuma implante edilebilir. Endometrium, siklusun luteal fazında 'implantasyon penceresi' sırasında embriyoya reseptiftir (13).

Günümüzde vitrifikasyon tekniği gibi daha etkili kriyopreservasyon tekniklerinin kullanılmasıyla donmuş embriyo transferi kullanımı artmıştır (14).

Donmuş embriyo transferinin uygulanmasında artışa rağmen optimal endometriyal hazırlama protokolü konusu hala tartışmalıdır. Uygulanan protokoller şu şekildedir; i) doğal siklus ii) modifiye doğal siklus iii) hormon replasman tedavisi (gonodotropin salgıtıcı hormon analogu ile supresyonu veya supresyon olmadan) iv) klomifen sitrat veya letrozolle ovaryan stimülasyon v) gonodotropinlerle hafif ovaryan stimülasyon (15).

Hormon replasman tedavisi uygulanan siklusta endometrium ekzojen olarak verilen hormonlarla hazırlanır (16).

Doğal siklusta spontan bir menstrüel döngüde salgılanan endojen estrojen ve progesteron endometriyumu hazırlar. Hem doğal siklus hem de modifiye doğal siklus düzenli adet döngüleri olan, ovulatuar hastalarda uygulanmalıdır (17).

Doğal sıklusta donmuş embriyo transferi zamanlamasını belirlemek için spontan ovulasyonun zamanının endokrinolojik ve transvajinal ultrasonografi yardımıyla net olarak belirlenmesi gerekmektedir. Modifiye doğal sıklusta ise öncü folikül 16 mm ve üzerinde olduğu ve endojen östrojen seviyesi preovulator faz seviyesinde görüldüğü zaman ovulasyon tetikleme işlemi yapılır ve transfer zamanı planlanır (17).

Birçok çalışma maternal ve neonatal komplikasyonlar açısından doğal sıklusa göre HRT siklus protokolünde riskin daha fazla olduğunu ve bunun da HRT siklus sırasında kullanılan suprafizyolojik dozlardaki östrojen ve progesteron seviyesinin hipotalamo-hipofizer-ovaryan aksı bozarak korpus luteum oluşumuna engel olması durumuyla alakalı olduğunu raporlamıştır (18,19,20).

Son zamanlarda gösterilmiştir ki, korpus luteum salgıladığı hormonlar aracılığıyla,maternal kardiyovasküler adaptasyonda önemli bir rol oynar. Korpus luteum östrojen ve progesterona ek olarak relaksin salgılar ve bu relaksin hormonu da sistemik ve renal vazodilatasyonu sağlamaktadır. Korpus luteumun gelişmediği gebeliklerde(HRT siklus gebelikleri) ortalama arter basıncının doğal düşüşü izlenmez ve vasküler endotelyal fonksiyon bozulur. Bu durum gebeliğe bağlı hipertansif hastalıkların gelişiminde majör faktör olabilir(21,13)

Yakın zamanda yapılmış bir cochrane derlemesinde endometriyum hazırlık protokolleri arasında; gebelik oranları, abortus oranları ve canlı doğum oranları arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmadığı belirtilmiştir.(22)

Biz çalışmamızda donmuş embriyo transferinde modifiye doğal siklus ile hrt siklus arasındaki gebelik oranlarını karşılaştırmayı amaçlamaktayız.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnfertilite

İnfertilite, 12 ay süresince, düzenli korunmasız ilişkiye rağmen gebe kalamaması durumudur. İnfertilite çiftlerin %10-15'ini etkilemektedir ve klinik pratikte önemli bir yer tutar (1,2).

İnfertilite değerlendirmesi yapılırken partnerlerin geçmiş üreme performansından bağımsız olarak her iki partnere de odaklanılmalıdır ve üremeye engel olabilecek neden veya nedenler ortaya koyulmaya çalışılmalıdır.

2.2. İnfertilitenin Majör Kategorileri

2.2.1. Ovulatuvar Disfonksiyon ve Anovulasyon

Ovulasyon bozuklukları infertilitenin tanımlanan nedenlerinin yaklaşık %15'ini oluşturmaktadır. Ovulasyon disfonksiyonu gebe kalmayı önleyecek şiddette olabilir (anovulasyon) veya sadece katkıda bulunan bir faktör olabilir (oligoovulasyon). Ovulasyonun meydana gelip gelmediğini ve ne zaman meydana geldiğini belirlemek için bir çok yöntem kullanılabilir. Mevcut testlerin her biri yararlıdır ancak hiçbirisi mutlak en iyi test olarak kabul edilememektedir. Ve hiçbir test ovulasyonun gerçekten meydana geldiğini kanıtlayamaz (3).

Menstrüasyon öyküsü, bazal vücut ısısı, serum progesteron konsantrasyonu, üriner LH atılımı veya serum LH piki görülmesi, transvajinal ultrasonografi ile folikül takibi ovulasyon değerlendirme testleri olarak kullanılmaktadır (3).

Düzenli menstrüasyon döngüleri olan kadınlar neredeyse her zaman ovulatuardır, bunun yanında düzensiz menstrüel döngülere sahip ve < 21 veya >35 gün aralıklarla adet gören kadınlarda ovulasyon disfonksiyonu ve hatta anovulasyondan şüphelenilmelidir. Düzensiz menstrüel döngüleri olan kadınlar

yumurtlayabilir ancak bu yumurtlama düzenli ve sürekli olmaz bu hastalarda anovulatuvar olduklarını kanıtlamak için tanı testleri gerekmez (24).

Serum progesteron konsantrasyonu ölçümü ovulasyon değerlendirilebilen basit ve güvenli bir testtir. Normal bir döngüde progesteron düzeyleri foliküler faz sırasında düşüktür ve 1 ng/mL'nin altındadır, LH dalgalanma gününde hafifçe yükselir(1-2 ng/mL) ve sonrasında yükselerek ovulasyondan 7-8 gün sonra zirve yapar ve menstürasyondan önceki günlerde tekrar azalmaktadır. Progesteron düzeyinin 3 ng/mL'den daha düşük olması, döngüde düşük seviyelerinin beklenildiği zamalar dışında, anovülasyon anlamına gelir (25).

Bazal vücut ısı(BVI), bazal koşullar altında, istirahatteki vücut sıcaklığıdır. Pratik olarak her sabah uyandıktan sonra ve yataktan kalkmadan ölçülür. Bir ovulasyon değerlendirme testi olarak BVI ölçümü progesteronun termojenik özelliğine dayanmaktadır. Ovulasyondan sonra progesteron düzeyi yükseldikçe BVI da artar (26).

Normal ovulatuvar bir döngüde ovulasyondan önce gerçekleşen LH piki gerek serum seviyeleri bakılarak gerek ise idrarda LH yükselmesinin tespit eden kitler aracılığıyla saptanabilmektedir. LH düzeyi takibiyle ovulatuvar disfonksiyon hakkında bilgi sahibi olabilmekteyiz (26).

Seri transvajinal ultrasonografi(TVU) takibi ovum salınımından önce ve sonra overde gelişen sürecin doğrudan gözlenmesine izin verir. Ovulasyonun gerçekten olduğuna dair pozitif kanıt sağlamasa da, seri TVU takibi preovulatuvar foliküllerin boyut ve sayısı ile ovulasyonun ne zaman gerçekleştiğini tahmin etmede en doğru ve ayrıntılı bilgiyi sağlar.

Nihayetinde ovulasyon araştırılması, tespiti için seçilecek yöntemler her hastaya özel tercih edilmelidir. Ovulatuvar disfonksiyonu olan kadınlar ovulasyon indüksiyonu için kesin adaylardır. Olguların çoğunda, diğer olası infertilite nedenleri araştırılmadan önce tedaviye başlamak mantıklıdır (3).

Anovulasyonun en önemli nedeni polistik over sendromudur(PKOS). PKOS anovulatuvar kadınların %70 ini etkilemektedir (27).

Obezitenin kendisi PKOS'tan ayrı olarak da anovulasyona neden olmaktadır. Vücut kitle endeksi(VKE, kilogram cinsinden ağırlığın metre cinsinden boyun karesine bölünmesi ile hesaplanan) 27 den fazla olan kadınların normal aralıkta VKE' ye sahip kadınlara göre artmış anovulatuvar infertilite riski bulunmaktadır(rölatif risk, 3,1 [%95 GA, 2,2–4,4]) (28).

Diğer nedenler arasında tiroid hastalığı (%2-3), hipofiz hastalığı (örn.prolaktinoma, %13), adrenal hiperplazi veya adrenal tümöre bağlı yüksek androjen seviyeleri (%2), idiyopatik kronik anovülasyon (%7-8) ve fonksiyonel hipotalamik amenore (örn., zayıflık, yeme bozuklukları ve aşırı egzersiz nedeniyle) tanımlanmıştır. Yeme bozukluğu olan hastalarda anovulatuvar infertilite, yeme bozukluğu olmayan kadınlara göre daha sık görülmektedir(%16,2'ye karşılık %5,6; n = 271) (29).

2.2.2. Tubal İfertilite

Fallop tüplerinin bloke olması veya pelvik yapışıklıklar nedeniyle tüplerin yumurtalıktan oosit toplayamaması olarak tanımlanan tubal infertilite, incelenen popülasyona bağlı olarak infertilite tanılarının %11 ila %67'sini oluşturur (30,31).

Cinsel yolla bulaşan enfeksiyon ve buna bağlı pelvik inflamatuvar hastalık (tubal hastalığın en yaygın nedeni), septik abortus, intraabdominal enfeksiyon (örneğin, rüptüre apendiks) öyküsü, tubal cerrahi veya ektopik gebelik öyküsü olan kadınlarda tubal infertiliteden şüphelenilmelidir (32).

Pelvik inflamatuvar hastalık(PİH) geçirme öyküsü olan kadınlarda yapılan çalışmalar, tubal infertilite riskinin geçirilen PİH sayısı ve şiddeti ile arttığını göstermektedir. Genel olarak; bir ataktan sonra infertilite insidansı %10-12 iken 2. Atakta bu %23-35 ve 3. Ataktan sonra bu insidans %54-75 düzeyine çıkmaktadır (33,34,35).

Tubal anormalliklerin ciddiyetinin belirlenmesi, en etkili tedavinin belirlenmesine yardımcı olur. Histerosalpingografi(HSG), radyoopak boyanın serviksten uterin kaviteye enjekte edildiği ve boyanın floroskopi aracılığı ile fallop tüplerinden takip edildiği bir prosedürdür. HSG işleminin hassasiyet ve özgüllüğü sırasıyla %65 ve %83'tür. Tubal infertilite için birinci basamak tanı aracıdır (36).

Laparoskopik kromopertübyasyon işlemi ile tubalardan indigo karmin /metilen mavisi gibi sıvıların geçişinin doğrudan değerlendirilmesi, tubal hastalığı değerlendirmek için altın standart olarak kabul edilir (37).

2.2.3. Azalmış Ovaryan Rezerv

Azalmış ovaryan rezerv genel olarak yaşla birlikte foliküllerin ve oositlerin (“over rezervi”) ilerleyici kaybıdır. Azalmış ovaryan rezervi için diğer risk faktörleri arasında over cerrahisi öyküsü, kemoterapi, overlerin radyasyon tedavisine maruziyeti, ailede erken menopoz öyküsü veya fragil X (FMR1) ön mutasyonu yer alır (38).

Over rezervi, antimüllerian hormon(AMH) veya ultrason gibi serum belirteçleri ile değerlendirilebilir (37).

AMH preantral ve küçük antral foliküllerin granülosa hücreleri tarafından üretilir. Hormon salınımı primordial foliküllerin primer foliküllere dönüşmesi ile başlar ve erken antral foliküllerin 2-6 mm çapa ulaşması ile sona erer ve yaşla birlikte azalan AMH değerleri menopoza doğru ölçülemeyecek seviyelere ulaşır. AMH, foliküler havuzun büyüklüğünü yansıtır ve ovaryan hiperstimülasyon sonrası toplanan oosit sayısı ile ilişkilidir (39,40,41,42,43).

AMH, preantral ve küçük antral foliküllerden kaynaklandığı için, seviyelerinin gonodotropinlerden bağımsız olduğu ve siklus içinde ve sikluslar arasında çok az değişkenlik gösterdiği düşünülmektedir (44).

Folikül havuzunun boyutu küçüldükçe östrojen tarafından hipofizer folikül uyarıcı hormon (FSH) salgılanmasının inhibisyonu kaybolur ve erken foliküler faz serum FSH'si yükselir.

Ultrasonografi ile değerlendirmede; antral folikül sayısına(AFS) bakılır. Histolojik çalışmalar overlerdeki küçük antral folikül sayısının, primordial folikül sayısı ile orantılı olduğunu ortaya koymuştur. Bu nedenle primordial folikül sayısı azaldıkça görünebilir küçük antral foliküllerin sayısı da azalmaktadır. AFS her iki overde 2-10 mm çaplarındaki toplam antral folikül sayısıdır ve ovaryan rezervin dolaylı fakat yararlı ölçümünü sağlamaktadır (45,46).

2.2.4. Uterin ve Servikal Faktörler

Uterin kavite anormallikleri, infertilite, abortus ve erken doğum gibi olumsuz sonuçlarla ilişkilidir. Uterin kaviteyi bozan faktörler arasında endometrial polipler, leiomyomlar, intrauterin sineşiler ve septat uterus gibi konjenital uterin malformasyonlar yer alır. Sonohisterosalpingografi ile uterin kaviteyi değerlendirme polip veya leiomyom saptamada HSG ve TVU'dan üstündür. Bikornuat uterus gibi konjenital bir malformasyondan şüpheleniliyorsa, pelvik manyetik rezonans(MR) görüntüleme veya 3 boyutlu ultrasonografi ile daha detaylı değerlendirme yapılabilir (47,48).

Uterin kavite anormalliklerini cerrahi olarak düzeltme reproduktif sonuçları iyileştirmektedir (49).

Servikal faktör infertilitesi spermin uterusu ilerlemesini engelleyen anatomik anormallik, cerrahi sonrası skar dokusu veya azalmış servikal mukusa bağlı olabilir (3,37).

2.2.5. Endometriozis

Endometriozis, endometriyal dokunun uterus boşluğu dışında bulunmasıdır ve infertil kadınların %25 ila %40'ını etkiler (50).

Anatomik distorsiyon; örneğin fallop tüplerini bloke eden adezyonların varlığı veya tubal açıklığı bozan over kitleleri(endometriomalar), oosit kalitesini ve tubal fimbria ile oositlerin toplanmasını bozabilir (51).

Endometriozis için laparoskopik cerrahi spontan gebelik oranlarını iyileştirmesine rağmen, endometriozis semptomları olmayan kadınlarda rutin fertilité değerlendirmesinin bir parçası olarak önerilmemektedir (41,51).

2.2.6. Erkek Faktör

Düşük sperm sayısı gibi semen anormallikleri görülen, erkek fizyolojisi bozuklukları, infertil çiftlerin %35'inde görülür (52).

İnfertiliteye çiftin birden çok faktörü katkıda bulunabilir. Bu nedenle, erkek faktörü infertilitesi için bir değerlendirme, kadın değerlendirmesiyle aynı anda yapılmalıdır.

Erkek faktör değerlendirmesinde semen analizi her zaman uygun ve önemli bir adımdır (53,54).

2.2.7. Açıklanamayan İnfertilite

Açıklanamayan infertilite, bir dışlama tanısıdır. İnfertilite için herhangi bir neden saptanmadığında bu tanı düşünülür. İnsidansı tanı kriterlerine bağlı olarak %10-30 arasında görülmektedir (55,56).

Mantıksal açıdan infertilitenin en olası gizli nedenleri henüz geçerli bir tanısı testi olmayan gamet veya implantasyon bozukluklarıdır (57).

Açıklanamayan infertilitenin olası tüm nedenlerinin bilinen infertilite nedenleri ile birlikte olabileceğini belirtmek önemlidir çünkü bu durum kanıtlanmış ovaryan yetmezlik, erkek , uterin veya tubal faktörleri olan ve bu nedenler için etkin tedavi almasına rağmen başarılı gebelik elde edilemeyen hastaları açıklamaya yardımcı olmaktadır (56).

Açıklanamayan infertilite için en etkili tedavi günümüzde IVF tedavisidir (58).

2.3. İnfertilite Tedavisi

Genel olarak kullanılan infertilite tedavileri, farmakolojik tedavilerin kullanımı ile çok sayıda olgun folikülün oluşması amacıyla gerçekleştirilen ovulasyon indüksiyon protokollerini, yumurtlama zamanında döllenmeyi sağlamak için intrauterin inseminasyonu (IUI) ve bunlara ek olarak olgun oositlerin ultrason kılavuzluğunda bir iğne direkt overden toplandığı ve in vitro fertilizasyonun(IVF) gerçekleştirilmesi şeklindedir (37).

Ovulasyon indüksiyonu için iki oral ilaç kullanılır. Kломifen sitrat, dolaşımdaki estradiolün negatif feedback etkisini bloke eden ve hipotalamik gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) salınımı frekansında artışa ve buna bağlı hipofiz bezinden FSH ve lüteinizan hormon (LH) üretimine neden olarak ovaryan foliküllerin büyümesini destekleyen selektif östrojen reseptör modülatörüdür (59). Letrozol, aromatazı inhibisyonu yaparak estradiolün serum konsantrasyonlarını azaltır ve hipofiz gonadotropinlerini uyarır. Her iki ovulasyon indüksiyon ajanının da kullanımı sonucu çoğul gebelik oranı %10'dan az görülmektedir ve bu gebeliklerin çoğu ikiz gebeliklerdir (60).

IUI, endojen LH dalgalanması veya ekzojen ovulasyon tetiklemesinden 24 ila 36 saat sonra spermin uterusu yerleştirilmesiyle gerçekleştirilir. Hafif erkek faktörü infertilitesinde (resmi olarak kabul edilmiş bir tanım bulunmamaktadır) IUI birinci basamak terapötik stratejidir. Açıklanamayan infertilitesi olan hastalarda, IUI tek başına bu popülasyonda gebelik oranlarını artırmadığından, ovulasyon stimülasyonu ile birlikte IUI uygulanmalıdır (61,62).

Tipik bir IVF döngüsü ise, gonadotropin stimülasyonunu ve ovaryan hiperstimülasyon sonucu gelişen çok sayıda foliküllerin aspirasyonunu içerir. Ardından elde edilen oositler, spermatozoa ile karıştırılarak(IVF) veya ciddi erkek faktörü infertilitesi mevcutsa ve cerrahi olarak veya ejakülattan sperm elde edilebiliyorsa intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) ile in vitro olarak döllenebilir. Elde edilen embriyolar daha sonra ultrason rehberliğinde uterusu transfer edilir (37).

2.4. İn Vitro Fertilizasyon

IVF işlemi ekzojen gonadotropinlerle ovaryan stimölasyon ile başlayan, transvajinal ultrasonografi eşliğinde oositlerin toplanması ile devam eden, laboratuvarda fertilizasyon ve embriyo kùltürü yapılması, embriyonun uterusu transservikal yoldan abdominal ultrasonografi eşliğinde transferi ile sonlanan bir tedavi yöntemidir.

IVF ile elde edilmiş ilk gebelik 1976 yılında bildirilmiştir ve ektopik gebeliktir. IVF ile dünyaya gelen ilk sağlıklı bebek 1978 yılında doğmuştur. Takip eden yıllarda yardımcı üreme tekniklerinde birçok gelişme meydana gelmiş ve çok yaygınlaşmış dünya genelinde milyonlarca doğum sayısına ulaşmıştır (63,64,65).

IVF ilk olarak tubal faktör kaynaklı infertilite tedavisi için geliştirilmiştir fakat günümüzde bütün infertilite sebepleri için yaygın olarak kullanılmaktadır.

IVF'in başarıyla sonuçlanması birçok faktöre bağlıdır. IVF başarısı için birtakım prognostik göstergeler mevcuttur. Bunlar; maternal yaş, over rezervi, infertilite nedeni, geçmiş reproduktif performans, sigara kullanımı şeklindedir.

Maternal yaş, IVF başarısını öngörmeye en önemli prognostik faktördür. Artan yaş ile birlikte ovaryan stimölasyona alınan yanıt progresif olarak azalarak daha az oosit ve embriyo elde edilir ve buna ek olarak azalmış oosit kalitesi ve artmış embriyo anöploidisi nedeniyle azalan embriyo implantasyon oranları izlenir (66,67).

Düşük over rezervinin, ovaryan stimölasyona kötü yanıtla sonuçlandığı ve daha kötü IVF sonuçlarına sebep olduğu birkaç çalışmada gösterilmiştir (68,69).

İnfertilite nedeni ve geçiş reproduktif performansa göre de IVF başarısı değişmektedir.

Hidrosalpinksin IVF sonuçlarını olumsuz etkilediğine ve IVF öncesi salpenjektomi veya proksimal tubal okluzyon yapılması halinde canlı doğum oranlarını yaklaşık 2 kat arttırdığına dair kanıtlar mevcuttur (70).

Uterin myomların ise IVF başarısına etkisi bulunduğu yere bağlıdır. Basit bir mekanik etkiden ziyade myomlar, ürettikleri sitokinlerle global olarak endometriyal reseptiviteyi değiştirirler (71,72).

Sigara kullanımı başarı şansını düşüreceğinden, sigara içen tüm kadınlar IVF öncesi sigarayı bırakma yönünde şiddetle cesaretlendirilmelidir (73,74).

2.5. IVF Tedavisi İle Dünyaya Gelen Çocukların Prognuzu

Louise Brown'ın 1978'deki doğumundan bu yana, IVF ile 5 milyondan fazla gebelik elde edildi. IVF gebeliklerinden doğan çocuklar şu anda Amerika Birleşik Devletleri'ndeki doğumların %1,6'sını oluşturmaktadır (75).

IVF gebeliklerinden doğan çocukların çoğu sağlıklı olsa da, IVF, hipertansif gebelik bozuklukları, preterm eylem, preterm doğum ve düşük doğum ağırlığı dahil olmak üzere artan olumsuz obstetrik ve perinatal sonuç riski ile ilişkilendirilmiştir (76,77).

IVF gebelikleri aynı zamanda konjenital anomaliler, imprinting bozuklukları ve nörogelişimsel bozukluklarla ilişkilendirilmiştir (78,79).

Ayrıca, düşük doğum ağırlıklı bebeklerin yalnızca olumsuz neonatal sonuçlar açısından yüksek risk altında olmadığını, aynı zamanda obezite, hipertansiyon ve diyabet gibi yaşam boyunca olumsuz metabolik sonuçlar açısından da yüksek risk altında olduğunu gösteren literatür mevcuttur (80,81,82,83).

Bu sonuçların birçoğu, YÜT ile artan çoğul gebelik riskine bağlanmıştır, ancak günümüzde tek embriyo transferinin artan kullanımıyla beraber çoğul gebelikler önemli ölçüde azalmıştır (84,85).

Yine de, tekil IVF gebeliklerinin spontan tekil gebeliklere kıyasla benzer veya daha olumsuz sonuçlara sahip olup olmadığı konusunda çelişkili veriler vardır.

IVF'de oositler ve embriyolar, enjekte edilebilir gonadotropinlere yanıt olarak yumurtalıklar tarafından üretilen suprafizyolojik seviyelerde estradiol'e maruz kalır. Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) seviyeleri ovaryan stimülasyonundan sonra yükselir ve bu durumun plasentasyon üzerinde olumsuz bir etkisi olabilir (86,87).

Ayrıca, hem dişi hem de erkek gametler, oosit toplama ve embriyo kültürü sırasında manipüle edilerek, gametler ve embriyolar en erken ve belki de en hassas dönemde değiştirilmiş bir ortama maruz bırakılır.

Gamet ortamındaki bu değişiklikler, potansiyel olarak olumsuz perinatal sonuçlara yol açan değişiklikleri teşvik eder (88).

Gamet ortamının manipülasyonlarına bağlı hangi mekanizma ile olumsuz sonuçların ortaya çıktığı bilinmemektedir ve muhtemelen çok faktörlüdür, ancak büyüme ve gelişmeden sorumlu genlerin epigenetik modifikasyonu bir rol oynayabilir (89).

Aslında bu bağlamda yapılan hayvan çalışmaları, infertil olmasa bile, IVF/ICSI sırasında kullanılan prosedürler ve tekniklerin, doğan yavruda nörogelişimsel, büyüme ve metabolizmada uzun vadeli değişikliklere yol açan epigenetik değişikliklerle sonuçlanabileceğini göstermiştir (87,90,91,92,93).

2.5.1. Gebeliğe Bağlı Hipertansif Hastalıklar

Gebeliğin hipertansif bozuklukları arasında gestasyonel hipertansiyon, preeklampsi ve eklampsi yer almaktadır. 12.923 IVF/ICSI gebeliğiyle yapılan 15 çalışmayı analiz eden bir meta-analiz, tekil IVF/ICSI gebeliklerini spontan gebeliklerle karşılaştırmıştır ve IVF/ICSI'de gebeliğe bağlı hipertansif hastalık yaşama riskinin 1,49 (%95 GA: 1,39-1,59) olduğunu belirtmiştir (94).

2.5.2. Gestasyonel Diyabet

Yardımcı üreme teknikleri ile elde edilen gebeliklerde Gestasyonel diyabet (GDM) insidansında artış gösterilmiştir. GDM ile, fetal makrozomi, operatif doğum ve sezaryen doğum riski artmakta ve gebelikte hipertansif hastalıklara yatkınlık oluşmaktadır (95,96).

YÜT, bir gebede GDM gelişimine yatkın hale getiren moleküler düzeyde değişikliklere katkıda bulunabilir.

2.5.3. Preterm Doğum

IVF gebeliklerinde preterm doğum riskinde artış olduğu görülmektedir. 27.819 IVF/ICSI hamileliğini içeren ve 22 çalışmanın analiz edildiği bir meta analizde; IVF/ICSI gebeliklerinde <37 hafta doğum riskinin, spontan gebeliklere kıyasla daha yüksek olduğunu gösterilmiştir. RR 1,54 (%95 GA: 1,47–1,62). Benzer şekilde, IVF ile gebe kalan 1260 kadın, 1899 subfertil kadın ve 2480 fertil kadında obstetrik ve perinatal sonuçları karşılaştıran prospektif bir kohort çalışması, IVF'de erken doğum için OR'nin 2,19 (%95 GA: 1,59–3,02) olduğunu bulmuştur (94).

2.5.4. Düşük Doğum Ağırlığı

Doğum ağırlığındaki anormallikler, özellikle düşük doğum ağırlığı, IVF ile ilişkilendirilmiştir. 19 çalışmanın ve 28.352 gebeliğin meta-analizinde IVF/ICSI yardımı ile gebelik elde edenler, spontan gebe kalanlara kıyasla artmış LBW riski: RR 1.65 (%95 CI: 1.56–1.75). Bu ilişki IVF/ICSI gebeliği ile LBW arasındaki fark, IVF döngüsünün suprafizyolojik hormonal ortamından kaynaklanıyor olabilir (94).

2.5.5 Konjenital defektler ve imprinting bozuklukları

Pek çok çalışma, IVF gebeliklerinde potansiyel olarak artmış konjenital defet ve imprinting bozukluğu riskine ilişkin bir endişeyi vurgulamıştır (97,98). Ancak, genel olarak konjenital kusurların nadirliği göz önüne alındığında, bu çalışmaların çoğu, konjenital anomali varlığında, artan riski saptamak için yeterince güçlendirilmemiştir. Avustralya'da yapılan bir doğum kayıt çalışması,

ICSI ile gebe kalan 301 hastayı, IVF ile gebe kalan 837 hastayı ve spontan olarak gebe kalan 4000 hastayı kardiyovasküler, kas-iskelet ve ürogenital anomaliler dahil olmak üzere konjenital defekt oranları açısından karşılaştırdı. IVF ve ICSI uygulanan hastaların bebeklerindeki konjenital anomali oranı spontan gebelik bebeklerinde %4,2'ye kıyasla sırasıyla %8,6 ve %9,0 idi (99).

İmprinting bozuklukları, büyümeyi, gelişmeyi ve metabolizmayı etkileyen bir konjenital anomaliler sınıfıdır. YÜT unsurlarının imprinting bozukluklarını arttırabileceğine dair endişeler vardır. Bu hastalıklar oldukça nadir olduğu için YÜT ile ilişkili görülme sıklıklarının artışı tespit etmek zordur Beckwith-Wiedemann sendromu (BWS), Angelman sendromu (AS) ve Prader-Willi sendromları (PWS) YÜT ile ilişkilendirilmiş imprinting bozukluklarıdır. İmprinting bozuklukları ve IVF ve/veya ICSI arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar birbirleri ile çelişmektedir. Bazı çalışmalar IVF/ICSI'de BWS'nin relatif riskinde (RR) 9 kata kadar bir ilişki olduğunu gösterirken, diğerleri hiçbir ilişki veya artmış risk göstermemektedir (99,100).

2.5.6. Nörolojik gelişim

Beynin gelişimi, embriyonun hormonal ve fiziksel ortamının manipülasyonundan etkilenebilir. IVF sonrası gebeliklerinden doğan çocukların uzun ve kısa vadeli nörogelişimsel sonuçları bu nedenle ilgi çekicidir, ancak IVF ile nörogelişimsel bozukluklar arasındaki ilişkiyle ilgili çelişkili veriler vardır. Yakın tarihli bir çalışma, YÜT sonrası doğan 2 yaşındaki çocukların bilişsel, motor ve dil gelişimlerini aynı yaşta tıbbi yardım almadan doğan çocuklarla karşılaştırmış ve her iki grup arasında fark bulamamıştır (101).

Diğer çalışmalar, tutarsız sonuçlarla farklı nörogelişimsel bozukluk tiplerini incelemiştir. Serebral palsi (SP), IVF sonrası doğan çocuklar (n= 5680) ve spontan gebelik sonucu doğan çocuklar(n = 11.360) üzerinde yapılan geniş bir popülasyona dayalı kohort çalışmasında IVF ile ilişkilendirilen önemli bir nörogelişimsel bozukluktur. Bununla birlikte, çalışma popülasyonundaki IVF gebeliklerinden doğan çocuklar arasında ikiz gebeliklerin, düşük doğum

ağırlığının ve prematüre insidansının daha yüksek olması SP'nin daha yüksek insidansını potansiyel olarak açıklayabilir (102).

Otizm ve otizm spektrum bozuklukları (OSB) da birçok araştırmanın odak noktası olmuştur. Tek başına IVF'nin çeşitli çalışmalarda otizmle ilişkilendirilmezken, ICSI otizmle ilişkilendirilmiştir.(103,104,105,106)

2.6. Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon

Kontrollü ovaryan hiperstimülasyonu(KOH) IVF tedavisinin temel bir adımıdır. Yumurtalık stimülasyon rejimleri önemli değişikliklere uğramıştır; geliştirilmiş klinik deneyim ve yeni hormonal preparatların ve adjuvan tedavilerin mevcudiyeti, yeni protokollerin geliştirilmesiyle sonuçlanmıştır.

IVF için optimize edilmiş bir KOH klinik yönetimi için dört kavram çok önemlidir: [1] yumurtalık yanıtının prospektif olarak tanımlanması; [2] olgun oositlerin senkronize kohortunun geri kazanılmasına göre uyarlanacak şekilde KOH tedavisinin bireyselleştirilmesi; [3] olası komplikasyonların önlenmesi; ve [4] embriyo kriyoprezervasyon teknolojisi kullanılarak toplam üreme potansiyelinin optimizasyonu (107).

Jones ve ark. tüp bebek tedavisinde KOH için gonadotropinlerin kullanımına öncülük etmiştir. Gonadotropin stimülasyonu uygulanan normal olarak, döngüsel yumurtlayan kadınların üç yanıt kategorisinden birine düştüğü erken tespit edildi: yüksek, orta veya düşük yanıt verenler. Ayrıca, bireyin tepkisi sonraki stimülasyon döngülerinde benzerdi (108). Yanıt kategorisi, sonuçta ortaya çıkan serum estradiol eğrisinin (E2 paterni) ve bunun sonucunda ultrasonografi ile izlenen eşlik eden foliküler yanıtın değerlendirilmesine dayanıyordu. Ayrıca, hastanın yanıt kategorisi ve E2 paterni, IVF ve embriyo transferini takiben gebelik elde etme kapasitesi ile ilişkilendirildi. Yirmi yıl sonra ve geliştirilmiş gonadotropin preparatlarının (üriner, yüksek oranda saflaştırılmış ve rekombinant) piyasaya sürülmesinden ve GnRH agonistleri ve antagonistleri gibi adjuvan tedavilerin kullanılmasından sonra, bu kavramlar değişmeden kalmıştır ve klinik

yönetime rehberlik etmeye devam etmektedir. Bir hastanın over yanıtının yüksek, orta veya düşük olarak tanımlanması, KOH protokollerini prospektif olarak optimize etmek ve yetersiz yanıt nedeniyle döngü iptali veya tersine ovaryan hiperstimülasyon sendromu (OHSS) gelişimi gibi komplikasyon riskini azaltmak için esastır. Over yanıtı ve bir IVF siklusunun gebe kalma potansiyeli, yumurtalık rezervinin değerlendirilmesiyle yüksek doğrulukla belirlenebilir (109,110).

Kontrollü ovaryan stimülasyonda kullanılan birtakım protokoller mevcuttur.

2.6.1. GnRH Agonist Protokoller

KOH uygulamaları sırasında yüksek doz gonadotropinlerin kullanımı ve daha yüksek estradiol seviyelerinin elde edilmesi nedeniyle siklusların %15-25 inde prematür LH artışı gözlenebilmektedir. GnRh agonistlerinin tedaviye eklenme amacı prematür lüteinizasyonun engellenmesidir (111).

YÜT protokollerinde kullanılan GnRh agonistleri; leuprolid asetat, buserelin ve goserelindir.

GnRh agonistleri ilk verilişlerini takiben “flare etkisi” olarak adlandırılan, hipofizi stimüle edici bir etki yaratırlar. Buna bağlı olarak FSH ve LH salınımına, aynı zamanda östrojen reseptörlerinde de artışa neden olurlar. Non-pulsatil GnRh agonisti uygulandığında, reseptörlerin down regülasyonu ve gonadotropinlerin endojen salınımında azalmaya neden olur. Bu geçici etki tedavi bitiminden sonra normale dönmektedir (112).

Agonist kullanımıyla endojen gonadotropin sekresyonu suprese edilerek verilen ekzojen gonadotropinlerle foliküllerin senkron bir şekilde büyümesi amaçlanır.

En çok tercih edilen long(luteal) protokoldür. GnRh agonisti bir önceki siklusun midluteal döneminde başlanır, siklus boyunca devam edilir. Bu başlangıç zamanı endojen gonadotropinler düşük olacağı için gnRh agonistlerinin flare

etkisini takiben artan gonadotropin salınımı etkisinin kısıtlı tutumlası içindir (113).

2.6.2. GnRH Antagonist Protokoller

Gnrh antagonistleri, GnRH reseptörleri için endojen GnRH ile yarışarak gonadotropinleri süprese ederler. GnRH agonistlerinde görülen flare etki görülmez. Daha az enjeksiyon daha kısa süreli tedavi imkanı sağlar (114).

2.6.3. Estradiol Priming Protokolü

GnRH antagonist protokolünün bir varyasyonu olan bu protokolde luteal fazda estradiol başlanarak foliküler kohortun senkronizasyonu hedeflenir (115).

Yakın zamanda yapılan bir metaanalizde, diğer protokoller ile karşılaştırıldığında luteal estradiol priming yapılan hastalarda daha az siklus iptaline daha yüksek klinik gebelik oranları saptanmıştır (116).

2.6.4. Mikrodoz Flare Protokolü

Stimülasyondan önceki siklusta 3-24. Günler arası doğum kontrol hapı kullanılır, hapların bitiminde 2 gün ara verilir. Sonraki 2 gün 2x40 µgr dozunda leuprolide asetat verilerek 3.gün gonadotropinlere başlanır. Hcg uygulanış gününe kadar iki ilaca devam edilir (117).

Önceki siklusta folikül gelişimi engellenerek, GnRH analogunun yaptığı alevlendirici etki sayesinde ekzojen gonadotropin uyarısı endojen gonadotropin hormonları ile desteklenmektedir. Zayıf ovaryan yanıtı hastalarda tercih edilebilen bir protokoldür (118).

2.6.5. Doğal Siklus, modifiye doğal ve hafif stimülasyon protokolleri

Doğal siklus, hastanın spontan siklusu sırasında gelişen tek oositin toplanmasıdır, seri ultrasonografi ve hormon ölçümleri ile takip edilir. Luteal destek verilmez.

Modifiye doğal siklusta, sadece oosit maturasyonu için HCG verilebilir veya HMG verilerek hCG ile oosit final maturasyonu tetiklenir. Luteal faz desteği uygulanır. Düşük yanıtli hastalarda kullanılır.

Hafif stimölasyon, her gün düşük doz FSH/HMG ile beraber GnRH antagonisti uygulanır. Seri ultrasonografi ve estradiol ölçümleri ile siklus takip edilir (119).

İdeal protokol seçimi her hastanın yaş, over rezervi, AMH düzeyi, bazal gonadotropin düzeyleri, vücut kitle endeksi gibi bireysel özellikleri göz önüne alınarak tercih edilmelidir.

2.6. Kriyoprezervasyon Yöntemleri

Dondurulmuş embriyolarla ilk gebelik ve doğumdan bu yana (8,120), kriyoprotektanların türü ve konsantrasyonu, dengeleme zamanlaması, soğutma hızları ve kriyoprezervasyon cihazları açısından birbirinden farklı çeşitli protokoller kullanılmıştır. Kriyoprezervasyon için iki temel yaklaşım benimsenmiştir, bunlar: yavaş kademeli soğutma ve vitrifikasyon yöntemleridir(121).

Dondurulmuş insan embriyosu kullanılarak elde edilen ilk başarılı gebelik ve dondurulmuş oositlerden elde edilen ilk gebelikler, kriyoprezervasyon için yavaş dondurma tekniğini kullanmıştır(120,122,123). O zamandan beri, embriyo ve oosit kriyoprezervasyon protokollerini optimize etmek için çokça çaba gösterilmiştir (124,125).

Oosit vitrifikasyon yönteminden sonra ilk doğum 1999 yılında rapor edildi (126), ancak uzun yıllar boyunca yavaş kademeli soğutma yöntemi en çok uygulanan metodoloji olarak kaldı (127,128).

Birçok Yardımcı Üreme Teknolojisi (YÜT) merkezi, esas olarak yavaş dondurma (129) yoluyla oosit kriyoprezervasyon protokollerini (129,130) iyileştirmeye devam etmiştir. Bununla birlikte, başarılı klinik sonuçlara ve yavaş

dondurma/hızlı çözme prosedürlerine yönelik birkaç protokol değişikliğine rağmen, yavaş dondurma yöntemi vitrifikasyon/ ısıtma yöntemine göre daha yüksek oranda oositlerde deformasyonlara yani, oositlerde morfolojik değişiklikler, mayoz iğsi değişiklikler, DNA fragmantasyonu) neden olur (131,132).

2.6.1 Yavaş Kademeli Soğutma Yöntemi

Yavaş kademeli soğutma, hücre içi buz oluşumunu en aza indirirken yeterli hücresel dehidrasyona izin vermek için kriyoprezervasyonun yeterince yavaş bir hızda gerçekleşmesine izin verir. Memeli embriyo kriyoprezervasyonu için 1972'de uygulanan ilk başarılı protokol, $\sim 1^{\circ}\text{C}/\text{dak}$ ile -70°C arasında bir soğutma hızı gerektiriyordu (133).

Yavaş kademeli soğutma yöntemi, oosit metabolizmasının aktif olduğu bir sıcaklıktayken daha düşük toksisite ile ilişkili düşük doz başlangıç kriyoprotektan kullanımına dayanır.

Hücre metabolizmasının, sıcaklıktaki her 10°C 'lik düşüş için yaklaşık %50 oranında azaldığı düşünülmektedir. Kriyoprotektanların ve diğer çözünen maddelerin konsantrasyonlarının, yalnızca hücre, metabolizmanın oldukça yavaş olduğu sıcaklıklara soğutulduktan sonra artmasıyla toksisite sınırlandırılır.

Yavaş kademeli soğutma koşullarında, hücre içi çözünenlerin konsantrasyonu dehidrasyona bağlı dışarıdakinden yüksek olduğundan hücre içi buz oluşumunu önlemek mümkündür, böylece hücre içindeki donma noktası düşer. Hücre dışı buzun varlığının bir sonucu olarak bile, hücre içi aşırı soğuma meydana gelir, ancak bu, hücre içi ve dışı arasındaki dengeyi bozar. Aşırı soğumayı önlemek için, embriyolar $6-8^{\circ}\text{C}$ 'de ekilir, bu da büyük buz kristallerinin yavaş büyümesini ve faktörler arasında çok hassas bir dengenin korunmasını sağlar. Bu dengeyi korumak için insan oositleri ve embriyoları için yavaş soğutma prosedürlerini tamamlama süresi en az 90 dakika gerektirir. Bununla birlikte, çok fazla hücre içi suyun uzaklaştırılması istenmez, çünkü dehidrasyon hücre içi çözünenlerin hücreler için toksik konsantrasyonlara kadar bir artışa neden olabilir.

Donma ve çözülme aşamasında hücreler için en kritik an, ara sıcaklık bölgesidir (-15 ila -60°C) Numuneler daha sonra -196°C'de sıvı nitrojen içinde saklanır. Saklamadan sonra, çözülme sırasında buzun yeniden kristalleşme olasılığı mevcuttur ve kriyoyaralanmanın ana nedeni olduğu düşünülmektedir; bu yaralanma, numuneyi hızlı bir şekilde ısıtarak önlenabilir.(134)

2.6.2. Vitrifikasyon Yöntemi

Yavaş kademeli soğutma yönteminin aksine vitrifikasyon yöntemi, hücre(ler)in ve hücre dışı ortamın buz oluşmadan cam benzeri bir duruma katılaşmasını sağlayan bir kriyoprezervasyon yöntemidir. Bu yaklaşım ilk olarak insan embriyolojisinde klivaj evdindeki embriyolar (135) ve daha sonra oositler (136) ve pronükleer aşamadaki embriyolar (137,138) için tanıtıldı. Vitrifikasyon yöntemi sırasında, hücre oda sıcaklığındayken nüfuz eden kriyoprotektanlar yüksek konsantrasyonda eklenir. Bu yüksek nüfuz edici kriyoprotektan konsantrasyonunun toksisitesi önemli olduğundan, oosit bu sıcaklıkta uzun süre tutulamaz. Bunun yerine, dengeleme için çok kısa bir süre bırakılır ve ardından oositler doğrudan sıvı nitrojene daldırılır. Buz kristali oluşumuna karşı daha fazla koruma sağlamak için son derece hızlı bir soğutma hızı kullanılır. Bu nedenle, sıvı nitrojen ile oosit içeren çözelti arasında doğrudan temasa izin veren ve ortak noktası çok yüksek bir yüzey hacim oranına sahip olan yeni kriyo kaplar kullanılmaktadır .Bu ultra hızlı dondurma formunu, buzun yeniden kristalleşmesini önlemek için ultra hızlı çözme takip etmelidir (139).

Başlangıçta, kriyoprezervasyon alanında yavaş kademeli soğutma yöntemi oldukça başarılı sonuçlar sağlamıştır (140).

Ancak vitrifikasyon yöntemi tekniğinin geliştirilmesi ile birlikte, IVF laboratuvarları, bu protokolün yavaş dondurmadan (141) daha basit, daha ucuz, daha hızlı ve daha güvenli olduğu buna ek olarak gebelik, düşük ve canlı doğum oranları açısından taze transferler kadar etkili olduğu kanıtlandıktan sonra tercih edilen kriyoprezervasyon yöntemi vitrifikasyon olmuştur (142,143,144,145).

Vitrifikasyon yönteminin, yavaş kademeli soğutma yöntemine kıyasla önemli ölçüde artan çözülme sonrası sağkalım oranı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Loutradi ve ark. blastokistlerin hayatta kalma oranlarının, yavaş kademeli soğutma yöntemine kıyasla vitrifikasyon yönteminden sonra önemli ölçüde daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (olasılık oranı (OR): 2,20, %95 güven aralığı (CI): 1,53–3,16) (146). Benzer şekilde, Kolibianakis ve meslektaşları yavaş kademeli soğutma yöntemine kıyasla blastokist aşamasında vitrifiye edilen embriyolar için daha iyi çözülme sonrası hayatta kalma oranları bildirmişlerdir (OR: 4.09, %95 GA: 2.45–6.84) (147).

Yapılan bir meta analizde değerlendirilen mevcut kanıtlara göre vitrifikasyon, olgun oositten blastosist aşamasındaki embriyolara kadar tüm gelişim evrelerinin kriyoprezervasyonu için en iyi stratejidir. Bu teknik, yavaş dondurmaya kıyasla oosit ve embriyo hayatta kalma oranlarını önemli ölçüde artırdığından, kriyoprezervasyon döngülerinde klinik sonuçlarda iyileşmeye yol açmış ve ayrıca fertilité koruma ve donör oosit bankalarını hastalar için uygun bir seçenek haline getirmiştir (141).

Vitrifikasyon, günümüzde oosit veya embriyo kriyoprezervasyonu için dünya çapında altın standardı temsil etmektedir (148,149).

2.7. Embriyo Kriyoprezervasyonunun Evresi

Embriyolar pronükleer evreden(1. Gün), blastokist (5-6. Gün) evresine kadar başarıyla dondurulabilirler.

2.7.1. Pronükleer Evrede Embryo Kriyoprezervasyonu(1. Gün)

En yüksek canlılık oranları zigotların inseminasyonundan 20-22 saat sonra dondurulduğunda elde edilmektedir. Zigot aşamasında dondurulan hücrelerin zona pellusidalarının intakt, sitoplazmalarının homojen, pronükleuslarının belirgin ve net olarak gözlenmesi gerekir(150)

Literatürde pronukleer evrede dondurulan embryoların çözme sonrası canlılık oranı %75-80 arasında bildirilmektedir(151)

2.7.2. Erken Bölünme Evresinde(Klivaaj) Embriyo

Kriyopreservasyonu(2-3. Gün)

Erken bölünme evresinde inseminasyon sonrası ilk ayrılmanın 25-27. Saatlerde olması, 2. Günde 4 hücre, 3. Günde 6-8 hücreli blastomer olması, sitoplazmik fragmentasyonun total hacmin %10'undan az veya hiç olmaması ve multinükleasyonun olmaması embriyonun implantasyon potansiyelinin yüksek olduğunu gösteren morfolojik kriterlerdir (152).

2.7.3. Blastokist Evresinde Embryo Kriyopreservasyonu (5.-6.gün)

Blastokist aşamasındaki embriyo erken bölünme aşamasındaki embriyoya göre daha fazla sayıda hücre içermesi nedeniyle çözme sonrasında bazı blastomerlerin canlılığını yitirmesi durumunda bile genel canlılığını yüksek derecede koruyabildiği savunulmaktadır. Belirgin blastokist kavitesi, homojen ve kümelenmiş iç hücre kitlesi ve düzenli bir trofoektodermal hücre tabakasına sahip olan embriyolar blastokist döneminde dondurulur (150).

İlk olarak blastokist dondurma işlemi Cohen tarafından gerçekleştirilmiştir (153). Blastokistlerin vitrifikasyon yöntemi ile dondurulması ilk kez Fahry tarafından gerçekleştirilmiştir (154).

Vitrifikasyon yöntemi, donduruldukları aşamadan bağımsız olarak embriyoların çok yüksek bir canlı kalma oranını (tipik olarak yaklaşık %95 veya üzeri) sağlar. Vitrifikasyon yöntemi ayrıca embriyoların, taze embriyoların oranlarına benzer implantasyon oranlarıyla birlikte yüksek canlılık oranlarını korumalarına da olanak tanır (155,156,157).

Embriyo kriyoprezervasyonu, tüm embriyo gelişim evrelerinde iyi sonuç verirken kriyoprezervasyonun en verimli olduğu evre aynı zamanda hastalar için de en avantajlı olan blastokist evresidir. Blastosist aşamasındaki embriyolar, daha önceki gelişim aşamalarındaki embriyolara kıyasla daha yüksek implantasyon şansına sahiptir (158).

2.8. Dondurulmuş Embriyo Transferi

Dondurulmuş-çözölmüş embriyo transferi, KOH-IVF ve KOH-ICSI tedavileri sonrası elde edilen bir veya daha fazla embriyonun saklanarak daha sonra kullanılmasına olanak sağlar. Bu yöntem embriyo israfını ve tekrarlayan (KOH)-İVF sikluslarına ihtiyacı azaltmaktadır (159).

Kontrollü over hiperstimülasyonunun(KOH) YÜT siklusları sırasında ER'yi olumsuz etkilediği öne sürölmüştür (160,161). Bu etkileşime foliküler faz sırasında estradiol (E2) ve progesteronun (P) suprafizyolojik seviyeleri aracılık eder ve morfolojik ve biyokimyasal endometriyal değışikliklere yol açar. Sonuç olarak, bu fizyolojik değışiklikler tedavilerin başarı oranlarını etkileyebilir. Değişen bu hormon seviyeleri, endometriyum ile transfer edilen embriyolar arasında bir asenkroniye aracılık ederek endometriyal bir bozulmaya ve sonucunda implantasyon başarısızlığına yol açabilir (162,163,164,165).

Ovaryan hiperstimulasyon sendromunun gelişme riskinin azalması, preimplantasyon genetik tarama imkanı olması ve taze IVF sikluslarındaki KOH'un endometriyal reseptivitedeki olası negatif etkilerine yönelik endişeler gibi sebepler nedeniyle donmuş embriyo transferi siklusları tercihinde artış olmuştur. Bu artışın bir diğer nedeni ise transfer edilen embriyo sayısına getirilen kısıtlama ve kriyobiyoloji alanındaki gelişmelerdir (166).

Şüphesiz ki çok az teknolojik buluş YÜT'ü vitrifikasyonun geliştirilmesi ve uygulanması kadar etkilemiştir. Embriyoları (ve oositleri) orijinal canlılıklarını neredeyse koruyacak şekilde kriyoprezervasyon yeteneğı, in vitro fertilizasyon (IVF) tedavisini uygulama şeklimizi değıştirdi. Vitrifikasyon tekniğı ile oosit kriyoprezervasyonu üzerine çeşitli yayınlarda etkinliğı ortaya çıktıktan sonra, vitrifikasyon teknolojisi, embriyo kriyoprezervasyonu için hızla benimsendi ve artık dünya çapında altın standart haline geldi (148) .

Donmuş embriyo transferi için kullanılan protokollerde ana amaç çözülerek transfer edilecek embriyoların implantasyonu için endometriyal hazırlığın sağlanmasıdır.

Taze embriyo transferlerinde endometriyal hazırlık endojen üretilen hormonlar vasıtasıyla yapılırken donmuş embriyo transferi sikluslarında özellikle ovulatuar olmayan kadınlarda ekzojen östrojen ve progesteron ile endometrium hazırlanır (167).

Birçok çalışma donmuş embriyo transferinin taze embriyo transferi ile karşılaştırıldığında çok daha iyi klinik ve obstetrik sonuçlar elde ettiğini göstermektedir (168).

Dondurulmuş embriyo transferine yönelik artan eğilim nedeniyle, birçok çalışma, hem taze embriyo transferi hem de donmuş embriyo transferi ile gebe kalanların obstetrik ve perinatal sonuçlarını değerlendirmiş ve karşılaştırmıştır. 26 çalışmayı içeren bir metaanalizde donmuş embriyo transferi ile tekil gebelik elde edilen hastalar değerlendirilmiş ve taze transfere göre preterm doğum ve gebelik yaşına göre düşük doğum ağırlıklı fetüslerin daha az görüldüğü, buna karşılık gebeliğe bağlı hipertansif hastalıkların ve gebelik yaşına göre yüksek doğum ağırlıklı fetüslerin daha çok görüldüğü belirtilmiştir (169).

2.9. Endometrium Hazırlama Şekli

YÜT'ün başarısında implantasyon önemli adımlardan birini temsil eder (71).

Etkinliği üç ana parametreye dayanır: embriyo kalitesi, endometrial reseptivite (ER) ve iyi dengelenmiş bir embriyo endometrium etkileşimi (72).

İmplantasyon penceresi, blastokistin endometriumla tutunması için yeterli morfolojik ve fonksiyonel durumu kazandığı, kendi kendini sınırlayan bir dönemdir. Bu nedenle ER, spontan gebe kalmak ve infertilite tedavi döngülerinde gebe kalmak için gereklidir (165).

Birçok endometriyal hazırlık protokolü, embriyo implantasyonunun optimizasyonu için tanımlanmıştır. Bunlar doğal siklus, modifiye doğal siklus veya HRT sikluslardır (170).

2.9.1. Gerçek doğal siklus:

Embriyo ile endometriyum arası etkileşimin en iyi olduğu döneme “implantasyon penceresi” adı verilir (171).

Endometriyum menstrüel siklus sırasında östrojen etkisi ile proliferatif, progesteron etkisi ile sekretuar değişikliklere uğrar (172).

Ovulasyon sonrasında endometrial glandlarda artış stromal ödem ve vaskülarizasyonla endometriyum yoğunluğu artar ve bu da implantasyon için uygun bir ortam yaratır. Spontan ovulatuvar sikluslardaki foliküler gelişim, ovulasyon ve luteal fonksiyon ile endometriyal proliferasyon ve sekresyon maturasyonunun koordine olması embriyo gelişimiyle endometriyumun senkronize olmasını sağlar.

Endometriyumun endokrin hazırlığının gelişen dominant folikülden endojen salınan seks steroidleri ile oluşturulduğu sikluslara “doğal siklus” denir (173).

Herhangi bir ilaç kullanmadan gerçekleştirilmesi doğal siklus transferinin avantajı olduğu için birçok hastanın tercihi doğal siklustan yana olmaktadır. Doğal siklus transferi yapabilmek için hastaların ovulasyonunun kanıtlandığı düzenli menstrasyon döngülerinin olması gerekmektedir. Transfer öncesi ovulasyon zamanının gerek ultrasonografi ile foliküler gelişim, gerekse serum veya idrar Lüteinizan Hormon(LH) düzeyleri ölçülerek belirlenmesi gerekir (22).

Doğal siklusta dominant folikülden salgılanan estradiol(E2) düzeyinin artışı ile minimum 50 saat süreyle 200-300 pg/mL yi geçmesi, LH pikini tetikler (174) Siklus ortasındaki LH piki ovulasyon ilk mayotik bölünmenin yeniden başlaması ve mural granüloza hücrelerindeki luteinizasyon için olmazsa olmazdır. LH artışının başından ovulasyon gerçekleşene kadar olan ortalama süre yaklaşık

34 saat olmakla beraber 22-56 saat arasında bir aralıkta ovulasyon gerçekleşebilir (175).

2.9.2. Modifiye doğal siklus

Doğal siklusta yapılan ovulasyon tespiti amaçlı sıkı takip hastalar için zorlayıcı olabilmektedir. Bunun yanında folikülogenezde yaşanabilecek sapmalar nedenli beklenmeyen bir ovulasyonun meydana gelmesi, dolayısıyla da embriyo çözme ve transfer zamanlamasında sorunlar meydana gelebilmektedir.

Modifiye doğal siklusta ovulasyon ve luteinizasyonu başlatmak için human koryonik gonadotropin (hCG) uygulanır. Bu şekilde doğal siklusta olduğu gibi sıkı ultrasonografik ve endokrin takip gerekmebilir. Andersen ve arkadaşları dominant folikül çapının 16-17 mm e ulaştığında uygulanan HCG'nin 36-38 saat içinde oosit maturasyonu ve ovulasyonunu tetiklediğini belirtmektedir (173).

Her iki siklusta (doğal/ modifiye doğal) da embriyonun çözülmesi ve transferi işleminin ovulasyondan itibaren 3-5 gün içerisinde yapılması uygun bulunmuştur (176).

2.9.3. Hormonal Tedavi Verilen Artifiyel Sikluslar

Hormon replasman tedavisi siklusları hastanın menstrüel düzenine bakılmaksızın; ovulatuar veya anovulatuar oluşu farketmeksizin uygulanabilir. Bu durum tedaviye esneklik ve kolaylık sağlamaktadır. Endometrium proliferasyonu ve foliküler gelişim ekzojen östrojen kullanımı ile sağlanmaktadır. Kullanılacak östrojen doğal veya sentetik olabilir. Oral, vajinal veya parenteral-trandermal uygulama yolları tercih edilebilir (167).

Östrojen oral olarak (günlük 4-6 mg mikronize estradiol) vey transdermal olarak (günlük 0.2-0.4 mg estradiol) uygulanabilir. Her iki uygulama yolu da, geniş varyasyon gösteren serum estradiol düzeyleriyle sonuçlanabilmesine rağmen etkilidir ve birbirlerine üstünlüğü yoktur (177,178).

Oral ve transdermal östrojen tedavi rejimleri, doğal siklusların geç foliküler fazında gözlenen değerlere yaklaşan serum düzeylerini (200-400 pg/mL) elde etmek amacıyla dizayn edilmiştir. Vajinal östrojenin eş dozları belirgin olarak daha yüksek serum ve doku konsantrasyonlarına yol açar (179).

Östrojen replasman yöntemleri arasındaki dönüşüm şu şekilde tahmin edilebilir; 0,75 mg mikronize östradiol (oral uygulama) = 1,25 g östradiol jel (transdermal uygulama) = 1 mg estradiol valerat (oral veya vajinal uygulama). Standart östradiol valerat dozu günlük 6 mg'dır. Ancak doğal siklustaki gibi yükselen östradiol seviyelerini taklit eden step-up protokoller de bulunmaktadır (17,180).

HRT siklusunda östrojenle endometriyal proliferasyon gerçekleştirirken implantasyona hazırlık amacıyla sekretuar değişikliklerin meydana gelmesi için progesteron desteği (intramusküler, vajinal suposituar- tablet- jel) verilmesi gerekmektedir.

Siklusun ilk günlerinde östrojen replasmanına başlanır ve ultrasonografik izlem ile endometriyal proliferasyon takip edilir östrojene maruziyet süresi minimum 7 gün olacak şekilde ve endometriyal kalınlığın 7-9 mm e ulaşmasıyla birlikte progesteron desteği tedaviye eklenerek fizyolojik siklus hormon dengesi taklit edilmeye çalışılır. (181,182)

HRT siklusların avantajı daha iyi bir transfer zamanı kontrolünün bulunmasıdır ve hem hasta hem de klinik için embriyo çözme zamanı ve transferinin en uygun zamanda gerçekleştirilmesini sağlar. (183).

Dezavantajı ise östrojen ve progesteron kullanımıyla tam bir hipofizer supresyonun garanti edilememesidir. Buna bağlı olarak HRT siklus uygulanan hastalarda istem dışı bir dominant folikül gelişimi ve bu folikülün de spontan ovule olma riski mevcuttur. Sonuçta bu durum embriyo ve endometrium arasında senkronizasyonun bozulmasına sebep olabilir. Prematür luteinizasyon denilen bu durum siklus iptaline neden olabilmektedir (184,185).

Bu nedenle HRT siklusta tedaviye hipofizer supresyonu sağlamak, spontan ovulasyonu engellemek amacıyla GnRH agonisti eklenebilir. HRT siklularda korpus luteum oluşmadığından luteal faz desteklenmelidir. Gebelik oluştursa hem östrojen hem progesteron plasental otonomi sağlanana kadar devam edilmelidir (184,185).

Doğal/ modifiye doğal ve HRT sikluslarını karşılaştıran birtakım randomize kontrollü çalışmalar bulunmaktadır. 2006 yılında yapılmış retrospektif çalışmada; öncesinde gnrh analogu kullanılan östrojen ve progesteron kullanılan HRT siklusla ve doğal siklus protokolü ile endometriyumun hazırlandığı sikluslar arası transfer sonuçları karşılaştırılmış ve iki yöntem arasında implantasyon, klinik gebelik ve canlı doğum oranları açısından fark bulunmamıştır (186).

Yakın zamanda yapılmış bir cochrane derlemesinde endometriyum hazırlık protokolleri arasında; gebelik oranları, abortus oranları ve canlı doğum oranları arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmadığı belirtilmiştir (22).

Bu çalışmalardan farklı olarak doğal siklus protokolünde daha yüksek implantasyon oranı ve klinik gebelik oranlarının gösterildiği çalışmalar da bulunmaktadır (187).

Bu çalışmalara ek olarak doğal/modifiye doğal sikluslar ile HRT sikluslar hastalar üzerindeki psikolojik stres, tedavi maliyeti açısından karşılaştırılmış. HRT siklus protokolünde uygulanan ekzojen steroidlerin günlük ilaç enjeksiyonları gerektirmesi stres arttırıcı bir faktördür aynı zamanda kullanılan ilaçlara bağlı artan maliyete bağlı olarak tedavi alan hastalarda psikolojik stres yükü oluşabilmektedir; bunun yanında doğal/modifiye doğal siklusta nerdeyse hiç enjeksiyon ihtiyacı olmaması, ve maliyetin az olması hasta konforu açısından doğal/modifiye doğal siklusu ön plana almaktadır (188).

Günümüzde doğal ve modifiye doğal siklularda tedavi ve hormonal ve ultrasonografi ile takip planlamalarında ve embriyo transfer zamanlaması tercihinde merkezler arası farklılıklar görülmektedir. HRT donma çözme sikluslarında ise östrojenlerin dozu, uygulama yolu(transdermal vajinal oral iv,

yine progestanların uygulama yöntemleri (vajinal, oral, intramuskuler) çok büyük farklılıklar içermektedir. Bu da yapılan çalışmalarda heterojenitenin artmasına neden olmaktadır. Bu siklusları karşılaştıran daha iyi standardize edilmiş, daha fazla hasta sayısına sahip, daha çok sayıda çalışmalara ihtiyaç vardır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

01.01.2022 tarihinden itibaren Akdeniz Üniversitesi tıp fakültesi Yarcımcı üreme teknikleri kliniğine başvuran ve donma-çözme embriyo tedavi siklusuna alınan hastalar prospektif kohort olarak izleme alındı.

Ovulatuar siklusları olan iyi ve orta kalite bir veya daha çok embriyoya sahip 20-37 yaş aralığındaki HRT siklus ile embriyo transferi yapılan 30 hasta ile yine ovulatuar siklusları olan iyi-orta kalitede bir veya daha fazla embriyosu olan modifiye doğal siklus protokolü ile embriyo transferi yapılan 30 hastanın verileri retrospektif olarak analiz edildi.

3.2. Laboratuvar ve Embriyo Transfer Prosedürleri

Tüm embriyo transferleri abdominal ultrasonografi (GE Healthcare VOLUSON® P6) eşliğinde Wallace ve Sydney kataterler ile tek bir uzman expert kişi tarafından gerçekleştirildi. Transfer için sadece blastokist evresindeki dondurulmuş embriyolar tercih edildi. Tüm blastokistler dondurulmadan önce iki deneyimli embriyolog tarafından İstanbul Uzlaşım Kılavuzuna (ALPHA Sciences in Reproductive Medicine; ESHRE Special Interest Group Embryology, 2011) göre değerlendirildi ve bunları genişleme düzeyine ve iç hücre kütlesi ve trofektodermin kalitesine göre derecelendirdi. Blastosist genişlemesi ve inkübasyon süresine göre 1-4 dereceleri ve iç hücre kütlesi ve trofektoderm yapısına göre A, B veya C derecesi atanan 5. gün embriyoları kalite olarak 3 gruba ayrıldı bunlar: iyi ($\geq 3AB$, $\geq 3BA$), orta (3BB, 2AB, 2BB), kötü (1-4 BC, 1-4CB, 1-4CC, 1-BB, 1 AA, 1AB) olarak sınıflandırıldı.

3.2.1. Modifiye doğal siklus protokolü:

Modifiye Doğal Siklus Protokolü Siklusun 2. veya 3. gününde, önceki siklusa ait herhangi bir kist veya korpus luteum varlığını ekarte etmek için

transvajinal ultrasonografi yapıldı. Persiste korpus luteum varlığında ve siklusun 2. veya 3. gününde ölçülen serum P4>1.5 ng/ml olan sikluslar iptal edildi. Transvajinal ultrasonografi ile izlem, siklusun 8-10. günlerinde başladı. Önde giden ortalama folikül çapı yaklaşık olarak 16 mm'ye ulaştığında, akşam 20.00-23.00 saatleri arasında HCG tetikleyicisi(Ovitralle: Merck, İtalya) uygulandı. Bazal LH'nin 2.5 katını aştığı veya 17 ve üzerindeki bir değerde ölçüldüğü hastalar LH piki gerçekleşmiş olarak kabul edildi ve LH pikinin saptanıp doğal sıklusa bırakılan hastalar bu çalışmaya dahil edilmemiştir. HCG tetikleyicisi uygulanmasını takiben transfer zamanlaması planlandı.

3.2.2. HRT Siklus Protokolü

Tüm hastalara benzer HRT protokolü uygulandı. Hastalar menstrüel sikluslarının 2. veya 3. günü muayene edilmiş ve hasta bazında değerlendirme sonucu en az 10 gün süre ile kullanacakları şekilde 6-12 mg arasında mikronize estradiol (Estrofem; Novo Nordisk, Turkey) vajinal veya oral yoldan uygulanmaya başlandı. Endometriyal kalınlığı (EK) ölçmek için 10 ve 12. günler arasında transvajinal ultrasonografi yapıldı. Progesteron konsantrasyonunu ölçmek için bir kan örneği toplandı. EK yetersiz (<7 mm) olması durumunda, östradiol uygulaması ve seri transvajinal ultrasonografi ile değerlendirme devam etti. EK'nın ≥ 7 mm trilaminer görünümde olması ve luteinizasyona dair bir bulgu olmaması durumunda östrojen tedavisine ek olarak vajinal progesteron (Lutinus; Ferring, Almanya) günde 3 doz veya mikronize progesteron 200mg 3x2 oral veya vajinal yoldan (Progestan: Koçak Farma, İstanbul) eklendi. Bunlara ek olarak mutlaka intramuskuler progesteron 50 mg (Progestan: Koçak Farma, İstanbul) gün aşırı olacak şekilde veya subkütan progesteron 25 mg(Prolutex: İBSA, İsviçre) 1x1 olacak şekilde tedaviye eklendi. Transfer zamanlaması planlandı, belirlenen transfer tarihinde transfer öncesinde progesteron değerine bakılarak <10 mg değerinde olan hastalara ek progesteron desteği sağlandı.

3.3. Tanımlar

Devam eden gebelik birincil sonuç ölçütüydü.

Pozitif gebelik testi, embriyo transferinden sonraki 9. Günde serum beta-HCG konsantrasyonunun 10 IU/l'yi aşması olarak tanımlandı.

Biyokimyasal gebelik beta HCG pozitifliği tespit edilmiş olan hastanın klinik gebelik gelişmeden zamanla tekrar beta HCG düşüşü görülmesidir.

Klinik gebelik, TVUS incelemesinde gebelik kesesinin görülmesi olarak tanımlandı.

Abortus, biyokimyasal gebelik kaybı olanlar hariç, 12. gebelik haftasından önce intrauterin gebelik kaybı olarak tanımlandı.

Devam eden gebelik, gebelik yaşının 12 haftasını geçen gebelik olarak tanımlandı.

3.4. Veri Analizi

Tanımlayıcı istatistikler kategorik değişkenler için frekans (n) ve yüzde (%), sürekli değişkenler için normal dağılım varsayımının sağlandığı durumda ortalama±standart sapma (SS) ve sağlanmadığı durumda medyan (ıqr) değerleri ile sunuldu. Normallik varsayımı Shapiro testi ile kontrol edildi. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkilerin analizinde Fisher Freeman Halton Exact Test, Pearson ki-kare testi ve Yates düzeltmesi kullanıldı. Bağımsız iki grup sürekli değişkenlerinin parametrik olmayan karşılaştırmasında Mann-Whitney U testi, parametrik olan karşılaştırmasında ise independent samples T testi kullanıldı. Tüm analizler IBM SPSS 23.0 paket programı (IBM Corp., Armonk, NY) ile yapıldı. 0,05'den küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

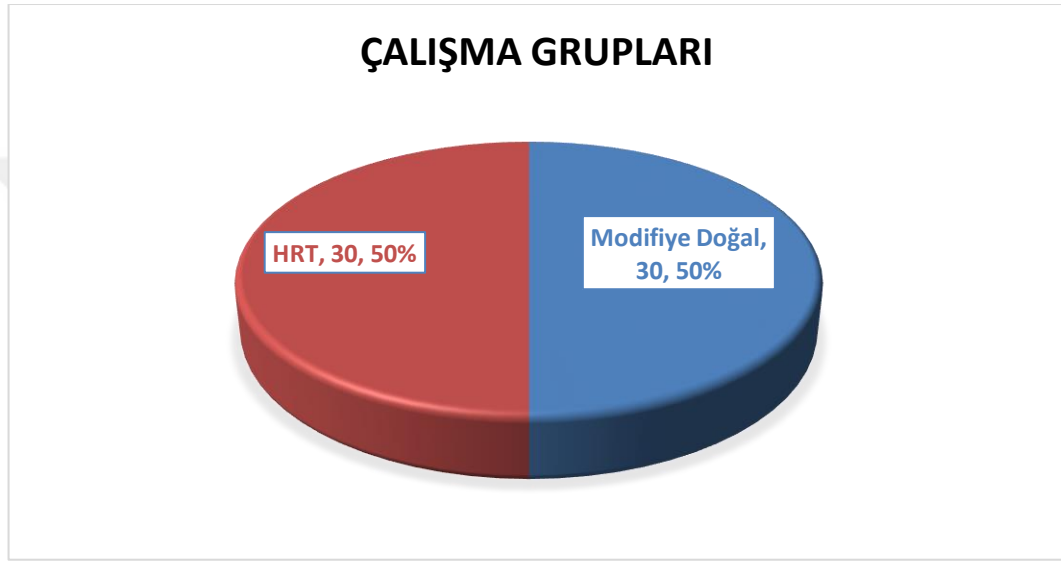
3.5. Etik Kurul Onayı

Etik kurul onayı Akdeniz Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 26.10.2022 tarihinde KAEK-638 numarası ile onay alınmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen toplam 60 hastanın 30'unun (%50) modifiye doğal siklus grubunda, 30'unun (%50) HRT siklus grubunda olduğu görülmektedir (Grafik 1).

Grafik 1. Çalışma Grupları



Şekil 4.1. Çalışma grupları

Tüm hastaların ortalanca yaş değerleri 31(27,5-35,5) yıl olarak hesaplanmıştır. Bu değer Modifiye doğal siklus grubunda 33,0(29-36) yıl, HRT siklus grubunda 29(25-33) yıldır. Söz konusu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,031$). Boy uzunluğu ortalama değeri Modifiye Doğal siklus grubunda $163,97 \pm 4,92$ cm, HRT siklus grubunda ise $161,63 \pm 7,52$ cm olarak hesaplanmıştır. Ağırlık ortalama değeri Modifiye Doğal siklus grubunda $63,37 \pm 11,59$ kg ve HRT siklus grubunda $66,4 \pm 12,63$ kg'dır. BMI ortalanca değeri Modifiye Doğal siklus grubunda $22,8(21,7-26,2)$ kg/m², HRT siklus grubunda $24,95(21,7-28,9)$ kg/m²'dir Her üç değişken için de gruplar arasında herhangi bir anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Çalışma gruplarına göre demografik özellikler

	Modifiye Doğal	HRT	Toplam	
Değişkenler	(n=32)	(n=30)	(n=62)	P
Yaş (Yıl)	33,0(29-36)	29(25-33)	31(27,5-35,5)	0,031^u
Boy (cm)	163,97±4,92	161,63±7,52	162,80±6,41	0,510 ^t
Ağırlık (kg)	63,37±11,59	66,4±12,63	64,88±12,11	0,191 ^t
BMI (kg/m ²)	22,8(21,7-26,2)	24,95(21,7-28,9)	23,6(21,7-26,75)	0,099 ^u

^uMann-Whitney U Test, Medyan (IQR)

^tIndependent Samples T test, Ort±SD

Infertile nedenlerine ilişkin dağılımların yer aldığı tablo 2'ye bakıldığında, Modifiye Doğal siklus ve HRT siklus grupları arasında herhangi bir anlamlı farklılık olmadığı görülmektedir ($p=0,190$).

Tablo 4.2. Çalışma gruplarına göre infertilite nedeni

	Modifiye Doğal	HRT	Toplam	
Değişkenler, n(%)	(n=30)	(n=30)	(n=60)	p*
Infertilite Nedeni				0,190
Erkek	3(10)	3(10)	6(10)	
Azalmış ovaryan rezerv	17(56,7)	11(36,7)	28(46,7)	
Tubal	4(13,3)	2(6,7)	6(10)	
Açıklanamayan	6(20)	14(46,6)	20(33,4)	

*Pearson Ki-Kare, Fisher Freeman Halton Exact Test

Tablo 2 de yer alan analiz sonuçlarına göre, açıklanamayan infertilite nedeniyle tedaviye alınan hasta sayısı Modifiye doğal siklus grubunda 6 hastada (%20), HRT siklus grubunda 14 hastada (%46,6) ve tüm hastalar içerisinde 20 hastada (%33,4) görülmüştür. Modifiye doğal siklus grubunda ve HRT siklus grubunda en sık görülen infertilite nedeni sırası ile %56,7 ve %36,7 ile “azalmış ovaryan rezerv” olmuştur.

Tüm hastaların %25’i sigara kullanırken, sigara kullanma oranı Modifiye doğal siklus grubundaki hastalarda %30, HRT siklus grubundaki hastalarda %20 olarak hesaplanmıştır. Buna göre, sigara kullanım durumu gruplar arasında benzerdir ($p=0,551$) (Tablo 3).

Tablo 4.3 Çalışma gruplarına göre sigara kullanım durumu

	Modifiye Doğal	HRT	Toplam	
Değişkenler,	(n=30)	(n=30)	(n=60)	p*
n(%)				
Sigara Kullanımı				0,551
Yok	21(70)	24(80)	45(75)	
Var	9(30)	6(20)	15(25)	

*Pearson Ki-Kare, Yates düzeltmesi

Hastaların obstetrik öyküleri çalışma gruplarına göre analiz edilmiş ve sonuçlar tablo 3 ile sunulmuştur. Yapılan analizlere göre, gravida ve parite sayısı değişkenleri çerçevesinde gruplar arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (Gravida, $p=0,291$; Parite, $p=0,999$).

Tablo 4.4. Çalışma gruplarına göre gravida ve parite sayıları

	Modifiye Doğal	HRT	Toplam	
Değişkenler, n(%)	(n=30)	(n=30)	(n=60)	p*
Gravida				0,291
0	22(73,3)	23(76,7)	45(75)	
1	6(20)	3(10)	9(15)	
2	0(0)	3(10)	3(5)	
3	2(6,7)	1(3,3)	3(5)	
Parite				0,999
0	26(89,7)	26(86,7)	52(88,1)	
1	3(10,3)	4(13,3)	7(11,9)	

*Pearson Ki-Kare, Fisher Freeman Halton Exact Test

Çalışma gruplarına göre klinik özellikler analiz edilmiş ve tablo 4'te görülen sonuçlara ulaşılmıştır. Buna göre, embriyo transferi öncesi endometriyal kalınlık Modifiye doğal siklus grubundaki hastalarda anlamlı olarak daha düşük bir değer almıştır ($p=0,040$). İnfertile süresi ($p=0,953$), bazal endometriyal kalınlık ($p=0,079$), bazal E2 ($p=0,202$), bazal LH ($p=0,857$) ve bazal FSH ($p=0,584$) gruplar arasında farklı bulunmamıştır.

Tablo 4.5. Çalışma gruplarına göre klinik özellikler

		Modifiye Doğal (n=30)	HRT (n=30)	Toplam (n=60)	P
Değişkenler					
Infertilite Süresi (yıl)		3,48±2,59	3,52±1,67	3,50±2,16	0,953 [†]
Bazal Endometriyal Kalınlık (mm)		3,32±1,41	3,88±0,95	3,60±1,22	0,079 [†]
ET Öncesi Endometriyal Kalınlık (mm)		8,90(8,10-10,0)	9,95(8,3- 10,5)	9,15(8,25- 10,2)	0,040^u
Bazal E2		57,83±42,83	46,45±22	52,14±34,24	0,202 [†]
Bazal LH		7,37±2,94	7,23±2,9	7,30±2,90	0,857 [†]
Bazal FSH		7,02±2,93	7,49±3,68	7,25±3,31	0,584 [†]

^uMann-Whitney U Test, Medyan (IQR)[†]Independent Samples T test, Ort±SD

Hastalara verilen embriyo kalitesinin dağılımı incelendiğinde, iyi kalite embriyo transfer edilen hasta oranı tüm hastalar arasında %91,7 oranındadır. Modifiye doğal siklus grubundakilerde bu oran %93,3 iken HRT siklus grubundakilerde %90 olarak saptanmıştır; transfer edilen embriyosu orta kalite olan hastaların tüm hastalar arasında %8,3 oranındadır. Modifiye doğal siklus grubundakilerde bu oran %6,7'dir HRT siklus grubundakilerde ise %10 oranında bulunmuştur.($p=0,999$);

Embriyo transferi sonrasında takiplerde HCG pozitif saptanan hastaların oranını tüm hastalarda %70,0 olarak sonuçlanmıştır. Modifiye doğal siklus grubundakilerde bu oran %76,7 iken, HRT siklus grubundakilerde %63,3

($p=0,398$) oranında olduğu görülmektedir. Tüm bu dağılımlar bakımından her iki grup benzer bulunmuştur.

Tablo 4.6. Çalışma gruplarına göre verilen embriyo ve HCG

	Modifiye Doğal	HRT	Toplam	
Değişkenler, n(%)	(n=30)	(n=30)	(n=60)	p*
Verilen Embriyo				0,999
İyi	28(93,3)	27(90)	55(91,7)	
Orta	2(6,7)	3(10)	5(8,3)	
HCG				0,398
Pozitif	23(76,7)	19(63,3)	42(70,0)	

*Pearson Ki-Kare, Yates Düzeltmesi, Fisher Exact Test

HCG pozitif saptanan bireyler takip edilmiş ve gebelik sonuçları incelenmiştir. Bu hastaların takiplerinde %7.1 oranında biyokimyasal gebelik saptanmış, %2.4 ünde missed abortus izlenmiş, %4,8'inde ise komplet abortus gelişmiştir. Sonuç olarak devam eden gebelik oranı %83,3, olarak hesaplanmıştır. Bu hastaların sonuçları Modifiye doğal siklus ve HRT siklus grupları arasında karşılaştırıldığında, biyokimyasal gebelik ($p=0,999$), abort ($p=0,885$) ve devam eden gebelik ($p=0,999$) değişkenleri istatistiksel olarak benzer bulunmuştur (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. HCG pozitif olan hastaların çalışma gruplarına göre özellikleri

	Modifiye Doğal	HRT	Toplam	
Değişkenler, n(%)	(n=23)	(n=19)	(n=42)	p*
Biyokimyasal gebelik				0,999
Pozitif	2(8,7)	1(5,3)	3(7,1)	
Abort				0,885
Missed	0(0)	1(5,3)	1(2,4)	
Komplet	1(4,3)	1(5,3)	2(4,8)	
Devam eden gebelik				0,999
Pozitif	19(82,6)	16(84,2)	35(83,3)	

*Pearson Ki-Kare, Fisher Freeman Halton Exact Test

5. TARTIŞMA

Son 10 yılda donma-çözme döngüleriyle beraber dondurulmuş embriyo transferi önemli ölçüde artmıştır (189,190). Bu artışın sebepleri; Vitrifikasyon tekniklerinin geliştirilmesiyle birlikte çözme sikluslarında elde edilen viabl embriyo sayısında artış görülmüştür(191). Buna ek olarak donmuş embriyo transferleri klinik gebelik oranlarını iyileştiren, maliyetleri ve over hiperstimülasyonunun olumsuz etkilerini azaltan etkili bir yaklaşım olarak ortaya çıkmıştır. (192)

Dondurulmuş embryo transferinde, endometriyal hazırlık için uygun protokolün seçilmesi son derece önemlidir. Literatürde yayınlanmış birçok çalışmaya rağmen, dondurulmuş embriyoların transferi için optimal hasta hazırlık protokolü ile ilgili tartışmalar devam etmektedir. Hastalarını donmuş embriyo transferi hazırlığında, birkaç önemli klinik ve laboratuvar hususu bulunmaktadır. Bunlardan en önemlisi endometriyal hazırlık ve embriyonun gelişimsel yaşı ile senkronizasyon şeklidir. Dondurulmuş embriyo transferi için iki ana endometriyal hazırlık yöntemi vardır: doğal döngü ve ekzojen steroidlerle yapay endometriyal hazırlık (187).

Günümüzde Yapılan birçok çalışma implantasyon oranları, klinik gebelik oranları, ve canlı doğum oranları açısından doğal siklus protokolleri ile HRT siklus protokolleri arasında istatistiksel anlamlılık bulunmadığını belirtmektedir fakat bu konuda yapılan çalışmaların çoğunluğu retrospektif ve heterojen hasta gruplarını içeren çalışmalardır (170,193). Yayımlanmış bir Randomize kontrollü çalışmada doğal ve HRT siklus karşılaştırılmış ve iki protokol arasında benzer klinik sonuçlar elde edilmiştir (194).

Bizim çalışmamızda 60 adet infertil hastanın modifiye doğal veya HRT siklus ile dondurulmuş embryo transferi sonrası pozitif b-HCG değeri, biyokimyasal gebelik oranı, klinik gebelik oranı, abortus oranı ve devam eden gebelik oranları incelenmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastalar incelendiğinde her

iki grupta sosyo-demografik özellikler açısından hasta yaşı dışında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır. Hasta yaşı modifiye doğal siklus grubunda 33(29-36) , HRT siklus grubunda 29(25-33) şeklinde olup; modifiye doğal siklus protokolüne alınan hastaların yaşı istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla olarak tespit edilmiştir. Pozitif b-hcg değeri, biyokimyasal gebelik oranı, klinik gebelik oranı, abortus oranı ve devam eden gebelik oranları sırayısla modifiye doğal siklus grubunda %76.7, %8.7 , %91.3, %17.4, %82.6 iken. HRT siklus grubunda %63,3, %5,3, %94,7, %15,8, %84,2 şeklindedir. Bu oranların sonucunda modifiye doğal ve HRT siklus protokolünün birbirine üstünlüğü gösterilememiştir.

2017 yılında yayınlanan Cochrane derlemesinde de endometriyal hazırlık protokolleri arasında gebelik abortus veya canlı doğum oranları açısından istatistiksel anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (22).

Daniella ve arkadaşlarının ve Guan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada doğal siklus ile gerçekleştirilen transferlerde HRT sikluslara göre daha yüksek implantasyon oranları saptanmıştır. Doğal siklusun, daha yüksek reseptivitesi olan daha fizyolojik bir endometriuma izin vererek buna bağlı olarak daha yüksek implantasyon sağladığını öne sürmüşlerdir. Guan ve arkadaşları bu sonuca ek olarak klinik gebelik oranlarının daha yüksek ve abortus oranlarının daha düşük olduğunu da belirtmişlerdir (195,196).

Jacob ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmaya göre doğal siklus ve hormon replasman tedavisi siklusu karşılaştırıldığında, Doğal siklusta karşılık gelen implantasyon, klinik gebelik ve devam eden gebelik oranları ise sırasıyla %6.47, %12.91 ve %10.4 iken HRT siklus grubunda %4,26, %8,47 ve %5,95 şeklinde sonuçlanmıştır ($p<0.05$) (187).

Morozov ve arkadaşları da transfer başına gebelik oranlarının HRT grubuyla karşılaştırıldığında doğal siklus grubuna göre daha yüksek olduğunu (36.46 vs. 38.49) göstermiştir (197).

Doğal sıklusa karşı HRT siklus, donmuş embriyo transferinde hem klinik gebelik oranları hem de canlı doğum oranlarını araştıran Pakes ve meslektaşları tarafından yapılan büyük Avustralya çalışması gibi diğer çalışmalar da doğal siklus protokolünün üstünlüğünü göstermektedir. (Klinik gebelik oranı %30,8'e karşı %26,1; Canlı doğum oranı 24,4'e karşı %18,9) (198).

Buna karşılık, Lathi ve arkadaşları Modifiye doğal siklus'a karşı HRT siklusu karşılaştırırken, canlı doğum oranları arasında fark olmadığını gösterdi (%27.7'ye karşı %23.6) (199).

Kim ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada benzer şekilde klinik gebelik oranları ile ilgili protokoller arasında anlamlı bir fark bulunmazken, canlı doğum oranları araştırılmamıştır (200).

Endometriyal kalınlık ve ultrasonografik görünüm paterninin değerlendirilmesi endometriyal gelişimde ve reseptivitesinin ön görüşünde etkili bir yaklaşımdır. Bazı çalışmalar embriyo transfer tarihinde endometriyal kalınlığın implantasyon ve klinik gebelik oranları ile ilgili olmadığını belgelemektedirler. Bunun yanında zhao ve ark tarafından yapılan çalışmada 6 mm ve altında olan endometriyal kalınlıkta implantasyon şansının çok az olduğu belirtilmiştir (170,201,202).

Bizim çalışmamızda bazal endometriyal kalınlıkta her iki grup arasında anlamlı farklılık bulunmamasına rağmen HRT siklus planlanan grupta embriyo transferi öncesi endometriyum kalındığı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. (9,95(8.3-10.5)'e karşı 8.9(8.1-10) $p<0,05$)

Bizim çalışmamızın tersi olarak Jacob ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada doğal siklus grubunda daha yüksek endometriyal kalınlığa ulaşıldığı saptanmıştır. (187)

Aynı şekilde morozov ve arkadaşları da doğal sıklusta daha yüksek endometriyal kalınlığı oranlarını saptamıştır (197).

Loh, Rashidi, Dain gibi araştırmacıların yaptığı çalışmalarda da, endometriyal kalınlığın 10 mm'nin üzerinde olduğunda daha iyi sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (203,204,205).

Donmuş embriyo transferinde protokol seçimi söz konusu olduğunda, hastanın tercihi, klinik fizibilite ve maliyet etkinliği de aynı şekilde kabul edilmesi gereken faktörlerdir (17).

Donmuş embriyo transfer protokollerinde maternal ve neonatal sağlık sonuçları da değinilmesi gereken bir konudur. Bu hususta yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Birtakım alışmalar korpus luteum eksikliğine bağlı olabileceği düşünülen maternal ve neonatal risklerin HRT sikluslarında modifiye doğal-doğal siklusa göre artmış olduğunu raporlamışlardır(18,19,20) .

Xin li ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada postpartum hemoraji riskinin HRT-sikluslarında modifiye doğal siklusa oranla istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla olduğu gösterilmiştir, yine gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi oranının modifiye doğal siklusa oranla daha fazla olduğu görülmüş fakat istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmemiştir (6).

Ginstrrm ernstad ve arkadaşları HRT siklus protokolü kulllanılan buna bağlı olarak korpus luteumun gelişmediği donmuş embriyo transferlerinde artmış preeklampsi, gestasyonel hipertansiyon, postpartum hemoraji ve sezaryen oranlarının olduğunu göstermiştir (18). Erken gebelik dönemlerinde uterin spiral arterlerdeki adaptasyonlar sağlıklı bir gebeliğin devamı için önemlidir. Spiral arter remodellingi damar çaplarını artırarak ve direncini düşürerek intervillöz alana kan akışını artırır dolayısıyla plasentanın gaz ve besin değişimi işlevini yerine getirmesini sağlar (206). Bu remodelling sağlıklı bir gebelik devamı ve fetüs gelişimi için gereklidir. İmplantasyon sırasındaki yüksek östrojen seviyeleri spiral arter sayısının ve vasküler invazyonun azalmasına ve dolayısıyla defektif plasantasyona ve azalmış uteroplental kan akımına yol açarak gebeliğe bağlı hipertansif hastalıklar ve gelişme geriliği gibi durumlara yol açabilmektedir (6)

Ekzojen steroidlerin verildiği HRT siklusların trofoblastlarda disfonksiyona sebep olarak düşük doğum ağırlığı, fetal gelişim geriliği ve anormal plasantasyon gibi maternal ve fetal tehditler açısından doğal/ modifiye doğal siklusa göre riskli olduğu belirtilmiştir (207,208,209).

Conrad ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da hrt siklus protokolü uygulanan hastalarda korpus luteum gelişmemesine bağlı, salgıladığı vazoaktif ürünlerin yokluğuna bağlı olarak gebeliğin gerektirdiği dolaşımsal adaptasyonları sağlayamadığı bildirilmiştir (210).

Biz çalışmamızda iki grup arasındaki canlı doğum oranlarını, maternal ve neonatal komplikasyon oranlarını değerlendirmedik.

Modifiye doğal siklus protokolünde HCG tetikleyicisinin uygulanacağı zamanı belirlemek için bazı çalışmalar sadece folikül boyutu tayinini kullanırken bazı çalışmalar ise folikül boyutuna ek olarak LH pikini kullanmaktadır. HCG tetikleyicisi uygulamak için optimal LH düzeyi ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Kahraman ve arkadaşları, 1168 modifiye doğal siklusu incelemiş ve implantasyon oranları, devam eden gebelik oranları ve gebelik kaybı oranları açısından HCG tetikleme günündeki LH düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı farklılık yaratmadığını dolayısıyla, HCG tetikleyicisinin LH artışı 15IU/L) ve LH pik seviyesi(> 40 IU/L) arasında herhangi bir zamanda uygulanabileceğini belirtmiştir. Buna karşılık, Litwicka ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada HCG tetikleme sırasında LH değerinin ≥ 13 mIU/mL olduğunda gebelik oranlarını negatif şekilde etkilediğini ve yapılmaması gerektiğini savunmaktadırlar. Biz çalışmamızda bazal LH'nin 2.5 katını aştığı ve ≥ 17 mm üzerindeki bir değerde ölçülen hastaları LH piki gerçekleşmiş olarak kabul ettik ve doğal siklusa bıraktığımız bu hastaları çalışmamıza dahil etmedik (211,212).

Donmuş embriyo transfer sikluslarında bir başka husus da progesteron desteğinin optimal verilış yoludur. Embriyo implantasyonu ve devam eden bir gebelik için endometriyumun progesterona maruziyeti gerekmektedir (213,214). HRT siklus protokolü uygulanan sikluslarda ovulasyon ve korpus luteum gelişimi

olmadığı için ekzojen progesteron replasmanı gereklidir. Devine ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada progesteron veriliş yollarıyla gebelik sonuçları incelenmiş; sadece vajinal progesteron kullanılan hastalarda, vajinal progesterona ek olarak intramusküler progesteron kullanılan veya sadece intramusküler progesteron kullanılan hastalara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha az canlı doğum oranları olduğu saptanmıştır (215).

Biz çalışmamızda vajinal progesterona ek olarak intramusküler/ subkütan progesteron olmak üzere yüksek doz progesteron kullandığımız HRT siklusları ile modifiye doğal siklus grupları arası gebelik oranları ve sonuçları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmadık.

Donma-çözme embriyo transfer sikluslarında en uygun endometriyal hazırlık protokolünün saptanması ve luteal faz desteğinde ideal ilaç uygulama yolları ve dozları için daha iyi standardize edilmiş, daha fazla sayıda hasta içeren randomize kontrollü çalışmalara hâlen ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

- Çalışmamızda donmuş embriyo transferlerinde modifiye doğal siklus ve HRT siklus yöntemleri ile endometriyal hazırlık sonrasında Hcg pozitifliği, klinik gebelik oranı ve abortus oranları karşılaştırılmış; iki grup arasında sonuçlarda anlamlı fark bulunamamıştır.

- Günümüzde embriyo dondurma işlemi getirdiği avantajlar ile modern infertilite tedavisinin ayrılmaz bir parçası olmuştur ve infertilite kliniklerinde uygun olan hastalara embriyo dondurma seçeneği sunulmalıdır.

- Dondurulmuş embriyo transferinde optimal endometriyal hazırlık şekli hâlen araştırılmaktadır.

- Donma-çözme embriyo transfer sikluslarında en uygun endometriyal hazırlık protokolünün saptanması ve luteal faz desteğinde ideal ilaç uygulama yolları ve dozları için daha iyi standardize edilmiş, daha fazla sayıda hasta içeren randomize kontrollü çalışmalara hâlen ihtiyaç duyulmaktadır.

7. ÖZET

Blastokist Aşamasında Embriyo Transferi Yapılan Dondurulmuş Embriyo Transferi Sikluslarında Modifiye Doğal Sikluslar ile Hormon Replasman Tedavisi Sikluslarının Gebelik Oranlarının Karşılaştırılması: Retrospektif Değerlendirme

Son yıllarda donmuş embriyo transferi kullanımı hızla artmıştır. Donmuş embriyo transferi öncesi endometrial preparasyonun optimizasyonu önem arz etmektedir. Donmuş embriyotransferi için endometriyal hazırlık, doğal bir döngü veya bir hormon replasman tedavisi (HRT) döngüsü ile gerçekleştirilebilir.

Bugüne kadar, birçok çalışmada donmuş embriyo transferi için endometriyal hazırlama yöntemlerini karşılaştırılmış ancak bu çalışmaların sonuçları tutarlı değildir.

Bu çalışmada Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Yardımcı Üreme Teknikleri Kliniğine başvuran ve donmuş embriyo transferi yapılan 20-37 yaş aralığındaki hastalar retrospektif olarak incelendi, toplamda 30 adet modifiye doğal siklus protokolü 30 adet de HRT siklus protokolü uygulanan; benzer özellik taşıyan toplamda 60 hasta dondurulmuş embriyo transferi sonrası pozitif hcg değeri, biyokimyasal gebelik oranı, klinik gebelik oranı, abortus oranı ve devam eden gebelik oranları incelenmiştir. Bu oranlar sırayla modifiye doğal siklus grubunda %76.7, %8.7, %91.3, %17.4, %82.6 iken. HRT siklus grubunda %63.3, %5.3, %94.7, %15.8, %84.2 şeklindedir. Sonuç olarak iki tip endometriyum hazırlama yönteminin birbirine üstünlüğü gösterilememiştir.

Anahtar kelimeler: Dondurulmuş embriyo transferi, endometriyal preparasyon, klinik gebelik

8. ABSTRACT

Comparison of Pregnancy Rates of Modified Natural Cycles and Hormone Replacement Therapy Cycles in Frozen Embryo Transfer Cycles with Embryo Transfer at Blastocyst Stage: Retrospective Study

Frozen embryo transfer has grown rapidly in recent years. Optimization of endometrial preparation before frozen embryo transfer is important. Endometrial preparation for frozen embryo transfer can be accomplished with a natural cycle or a cycle of hormone replacement therapy (HRT).

To date, many studies have compared endometrial preparation methods for frozen embryo transfer, but the results of these studies are inconsistent.

In this study, patients between the ages of 20 and 37 who applied to the Reproductive Techniques Clinic of Akdeniz University Faculty of Medicine and underwent frozen embryo transfer were retrospectively analyzed. A total of 30 modified natural cycle protocols and 30 HRT cycle protocols were applied; Positive hCG value, biochemical pregnancy rate, clinical pregnancy rate, abortion rate and ongoing pregnancy rates were examined after frozen embryo transfer in these two groups. These rates were 76.7%, 8.7%, 91.3%, 17.4%, and 82.6% in the modified natural cycle group, In the HRT cycle group, it was 63.3%, 5.3%, 94.7%, 15.8%, 84.2%. As a result, no superiority was found between the two types of endometrial preparation methods.

Keywords: Frozen embryo transfer, endometrial preparation, clinical pregnancy

9. KAYNAKLAR

- [1] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2013 Jan;99(1):63. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.09.023. Epub 2012 Oct 22. PMID: 23095139.
- [2] Thoma ME, McLain AC, Louis JF, King RB, Trumble AC, Sundaram R, Buck Louis GM. Prevalence of infertility in the United States as estimated by the current duration approach and a traditional constructed approach. *Fertil Steril*. 2013 Apr;99(5):1324-1331.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.11.037. Epub 2013 Jan 3. PMID: 23290741; PMCID: PMC3615032.
- [3] Speroff's CLINICAL GYNECOLOGIC ENDOCRINOLOGY AND INFERTILITY Ninth Edition Hugh S. Taylor, MD Lubna Pal, MBBS, MS Emre Seli, MD Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Sciences Yale School of Medicine New Haven, Connecticut, p 1104
- [4] Goldberg JM, Falcone T, Attaran M. In vitro fertilization update. *Cleve Clin J Med*. 2007 May;74(5):329-38. doi: 10.3949/ccjm.74.5.329. PMID: 17506238.
- [5] Sunderam S, Kissin DM, Crawford SB, Folger SG, Boulet SL, Warner L, Barfield WD. Assisted Reproductive Technology Surveillance - United States, 2015. *MMWR Surveill Summ*. 2018 Feb 16;67(3):1-28. doi: 10.15585/mmwr.ss6703a1. PMID: 29447147; PMCID: PMC5829941.
- [6] Li X, Xie Q, Luan T, Su Y, Zhang J, Zhang J, Zhao C, Ling X. Maternal and child-health outcomes in different endometrial preparation methods for frozen-thawed embryo transfer: a retrospective study. *Hum Fertil (Camb)*. 2022 Mar 28;1-12. doi: 10.1080/14647273.2022.2053593. Epub ahead of print. PMID: 35343346.
- [7] Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, Aguirre M, Hudson C, Thomas S. Evidence of impaired endometrial receptivity after ovarian stimulation for in vitro fertilization: a prospective randomized trial comparing fresh and frozen-thawed embryo transfer in normal responders. *Fertil Steril*. 2011 Aug;96(2):344-8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.05.050. Epub 2011 Jul 6. PMID: 21737072.

- [8] Vuong LN, Dang VQ, Ho TM, Huynh BG, Ha DT, Pham TD, Nguyen LK, Norman RJ, Mol BW. IVF Transfer of Fresh or Frozen Embryos in Women without Polycystic Ovaries. *N Engl J Med*. 2018 Jan 11;378(2):137-147. doi: 10.1056/NEJMoa1703768. PMID: 29320655.
- [9] Zeilmaker GH, Alberda AT, van Gent I, Rijkmans CM, Drogendijk AC. Two pregnancies following transfer of intact frozen-thawed embryos. *Fertil Steril*. 1984 Aug;42(2):293-6. doi: 10.1016/s0015-0282(16)48029-5. PMID: 6745463.
- [10] Ata B, Seli E. A universal freeze all strategy: why it is not warranted. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2017 Jun;29(3):136-145. doi: 10.1097/GCO.0000000000000362. PMID: 28333696.
- [11] Alviggi C, Conforti A, Carbone IF, Borrelli R, de Placido G, Guerriero S. Influence of cryopreservation on perinatal outcome after blastocyst- vs cleavage-stage embryo transfer: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018 Jan;51(1):54-63. doi: 10.1002/uog.18942. PMID: 29077229.
- [12] Maheshwari A, Pandey S, Amalraj Raja E, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S. Is frozen embryo transfer better for mothers and babies? Can cumulative meta-analysis provide a definitive answer? *Hum Reprod Update*. 2018 Jan 1;24(1):35-58. doi: 10.1093/humupd/dmx031. PMID: 29155965.
- [13] Lawrenz B, Coughlan C, Melado L, Fatemi HM. The ART of frozen embryo transfer: back to nature! *Gynecol Endocrinol*. 2020 Jun;36(6):479-483. doi: 10.1080/09513590.2020.1740918. Epub 2020 Mar 18. PMID: 32188299.
- [14] Cardenas Armas DF, Peñarrubia J, Goday A, Guimerá M, Vidal E, Manau D, Fabregues F. Frozen-thawed blastocyst transfer in natural cycle increase implantation rates compared artificial cycle. *Gynecol Endocrinol*. 2019 Oct;35(10):873-877. doi: 10.1080/09513590.2019.1600668. Epub 2019 Apr 11. PMID: 30973031.
- [15] Mumusoglu S, Polat M, Ozbek IY, Bozdog G, Papanikolaou EG, Esteves SC, Humaidan P, Yarali H. Preparation of the Endometrium for Frozen Embryo Transfer: A Systematic Review. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021

Jul 9;12:688237. doi: 10.3389/fendo.2021.688237. PMID: 34305815; PMCID: PMC8299049.

- [16] Liu X, Wen W, Wang T, Sun T, Wang T, Zhang N, Pan D, Cai H, Xie J, Liu X, Shi Z, Wang R, Li X, Lu N, Pan R, Tian L, Meng B, Bai H, Zhou H, Qu P, Zhao D, Mol BW, Li W, Shi J. Comparison of endometrial preparation protocols (natural cycle versus hormone replacement cycle) for frozen embryo transfer (COMPETE): a study protocol for a randomised controlled trial. *BMJ Open*. 2022 Oct 14;12(10):e063981. doi: 10.1136/bmjopen-2022-063981. PMID: 36241349; PMCID: PMC9577921.
- [17] Mensing L, Dahlberg ES, Bay B, Gabrielsen A, Knudsen UB. Endometrial preparation methods prior to frozen embryo transfer: A retrospective cohort study comparing true natural cycle, modified natural cycle and artificial cycle. *Arch Gynecol Obstet*. 2022 Oct;306(4):1381-1388. doi: 10.1007/s00404-021-06371-6. Epub 2022 Jan 30. PMID: 35094106; PMCID: PMC9470615.
- [18] Ginström Ernstad E, Wennerholm UB, Khatibi A, Petzold M, Bergh C. Neonatal and maternal outcome after frozen embryo transfer: Increased risks in programmed cycles. *Am J Obstet Gynecol*. 2019 Aug;221(2):126.e1-126.e18. doi: 10.1016/j.ajog.2019.03.010. Epub 2019 Mar 22. PMID: 30910545.
- [19] Saito K, Kuwahara A, Ishikawa T, Morisaki N, Miyado M, Miyado K, Fukami M, Miyasaka N, Ishihara O, Irahara M, Saito H. Endometrial preparation methods for frozen-thawed embryo transfer are associated with altered risks of hypertensive disorders of pregnancy, placenta accreta, and gestational diabetes mellitus. *Hum Reprod*. 2019 Aug 1;34(8):1567-1575. doi: 10.1093/humrep/dez079. PMID: 31299081.
- [20] Zhang W, Xiao X, Zhang J, Wang W, Wu J, Peng L, Wang X. Clinical outcomes of frozen embryo versus fresh embryo transfer following in vitro fertilization: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Gynecol Obstet*. 2018 Aug;298(2):259-272. doi: 10.1007/s00404-018-4786-5. Epub 2018 Jun 7. PMID: 29881888.
- [21] Moreno-Sepulveda J, Espinós JJ, Checa MA. Lower risk of adverse perinatal outcomes in natural versus artificial frozen-thawed embryo transfer cycles: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed*

- Online. 2021 Jun;42(6):1131-1145. doi: 10.1016/j.rbmo.2021.03.002. Epub 2021 Mar 10. PMID: 33903031
- [22] Ghobara T, Vandekerckhove P. Cycle regimens for frozen-thawed embryo transfer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008 Jan 23;(1):CD003414. doi: 10.1002/14651858.CD003414.pub2. Update in: *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Jul 05;7:CD003414. PMID: 18254019.
- [23] Infertility Workup for the Women's Health Specialist: ACOG Committee Opinion, Number 781. *Obstet Gynecol*. 2019 Jun;133(6):e377-e384. doi: 10.1097/AOG.0000000000003271. PMID: 31135764.
- [24] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Diagnostic evaluation of the infertile female: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2015 Jun;103(6):e44-50. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.03.019. Epub 2015 Apr 30. PMID: 25936238.
- [25] Wathen NC, Perry L, Lilford RJ, Chard T. Interpretation of single progesterone measurement in diagnosis of anovulation and defective luteal phase: observations on analysis of the normal range. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1984 Jan 7;288(6410):7-9. doi: 10.1136/bmj.288.6410.7. PMID: 6418326; PMCID: PMC1444184.
- [26] Bates GW, Garza DE, Garza MM. Clinical manifestations of hormonal changes in the menstrual cycle. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 1990 Jun;17(2):299-310. PMID: 2234745.6
- [27] Sirmans SM, Pate KA. Epidemiology, diagnosis, and management of polycystic ovary syndrome. *Clin Epidemiol*. 2013 Dec 18;6:1-13. doi: 10.2147/CLEP.S37559. PMID: 24379699; PMCID: PMC3872139.
- [28] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Obesity and reproduction: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2015 Nov;104(5):1116-26. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.08.018. Epub 2015 Oct 1. PMID: 26434804.
- [29] Boutari C, Pappas PD, Mintziori G, Nigdelis MP, Athanasiadis L, Goulis DG, Mantzoros CS. The effect of underweight on female and male reproduction. *Metabolism*. 2020 Jun;107:154229. doi: 10.1016/j.metabol.2020.154229. Epub 2020 Apr 11. PMID: 32289345.

- [30] Recent advances in medically assisted conception. Report of a WHO Scientific Group. World Health Organ Tech Rep Ser. 1992;820:1-111. PMID: 1642014.
- [31] Audu BM, Massa AA, Bukar M, El-Nafaty AU, Sa'ad ST. Prevalence of utero-tubal infertility. J Obstet Gynaecol. 2009 May;29(4):326-8. doi: 10.1080/01443610902803625. PMID: 19835502.
- [32] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Role of tubal surgery in the era of assisted reproductive technology: a committee opinion. Fertil Steril. 2015 Jun;103(6):e37-43. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.03.032. Epub 2015 May 6. PMID: 25958255.
- [33] Weström LV. Sexually transmitted diseases and infertility. Sex Transm Dis. 1994 Mar-Apr;21(2 Suppl):S32-7. PMID: 8042113.
- [34] Westrom L. Effect of pelvic inflammatory disease on fertility. Venereology. 1995 Nov;8(4):219-22. PMID: 12291198.
- [35] Sciarra JJ. Infertility: a global perspective. The role of pelvic infection. ORGYN. 1994;(3):12-5. PMID: 12345542.
- [36] Broeze KA, Opmeer BC, Van Geloven N, Coppus SF, Collins JA, Den Hartog JE, Van der Linden PJ, Marianowski P, Ng EH, Van der Steeg JW, Steures P, Strandell A, Van der Veen F, Mol BW. Are patient characteristics associated with the accuracy of hysterosalpingography in diagnosing tubal pathology? An individual patient data meta-analysis. Hum Reprod Update. 2011 May-Jun;17(3):293-300. doi: 10.1093/humupd/dmq056. Epub 2010 Dec 8. PMID: 21147835.
- [37] Carson SA, Kallen AN. Diagnosis and Management of Infertility: A Review. JAMA. 2021 Jul 6;326(1):65-76. doi: 10.1001/jama.2021.4788. PMID: 34228062; PMCID: PMC9302705.
- [38] Schwartz D, Mayaux MJ. Female fecundity as a function of age: results of artificial insemination in 2193 nulliparous women with azoospermic husbands. Federation CECOS. N Engl J Med. 1982 Feb 18;306(7):404-6. doi: 10.1056/NEJM198202183060706. PMID: 7057832.

- [39] Venetis CA, Papadopoulos SP, Campo R, Gordts S, Tarlatzis BC, Grimbizis GF. Clinical implications of congenital uterine anomalies: a meta-analysis of comparative studies. *Reprod Biomed Online*. 2014 Dec;29(6):665-83. doi: 10.1016/j.rbmo.2014.09.006. Epub 2014 Sep 21. PMID: 25444500.
- [40] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: asrm@asrm.org; Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Evidence-based treatments for couples with unexplained infertility: a guideline. *Fertil Steril*. 2020 Feb;113(2):305-322. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.10.014. PMID: 32106976.
- [41] ACOG Committee Opinion No. 773: The Use of Antimüllerian Hormone in Women Not Seeking Fertility Care. *Obstet Gynecol*. 2019 Apr;133(4):e274-e278. doi: 10.1097/AOG.0000000000003162. PMID: 30913198.
- [42] Seifer DB, MacLaughlin DT, Christian BP, Feng B, Shelden RM. Early follicular serum müllerian-inhibiting substance levels are associated with ovarian response during assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril*. 2002 Mar;77(3):468-71. doi: 10.1016/s0015-0282(01)03201-0. PMID: 11872196.
- [43] Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Frydman N, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation. *Hum Reprod*. 2003 Feb;18(2):328-32. doi: 10.1093/humrep/deg043. PMID: 12571169.
- [44] Hehenkamp WJ, Looman CW, Themmen AP, de Jong FH, Te Velde ER, Broekmans FJ. Anti-Müllerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Oct;91(10):4057-63. doi: 10.1210/jc.2006-0331. Epub 2006 Jun 27. PMID: 16804046.
- [45] Pache TD, Wladimiroff JW, de Jong FH, Hop WC, Fauser BC. Growth patterns of nondominant ovarian follicles during the normal menstrual cycle. *Fertil Steril*. 1990 Oct;54(4):638-42. doi: 10.1016/s0015-0282(16)53821-7. PMID: 2209884.
- [46] Scheffer GJ, Broekmans FJ, Dorland M, Habbema JD, Looman CW, te Velde ER. Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related

- to age in women with proven natural fertility. *Fertil Steril*. 1999 Nov;72(5):845-51. doi: 10.1016/s0015-0282(99)00396-9. PMID: 10560988.
- [47] Venetis CA, Papadopoulos SP, Campo R, Gordts S, Tarlatzis BC, Grimbizis GF. Clinical implications of congenital uterine anomalies: a meta-analysis of comparative studies. *Reprod Biomed Online*. 2014 Dec;29(6):665-83. doi: 10.1016/j.rbmo.2014.09.006. Epub 2014 Sep 21. PMID: 25444500.
- [48] Chan YY, Jayaprakasan K, Tan A, Thornton JG, Coomarasamy A, Raine-Fenning NJ. Reproductive outcomes in women with congenital uterine anomalies: a systematic review. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2011 Oct;38(4):371-82. doi: 10.1002/uog.10056. PMID: 21830244.
- [49] Bosteels J, van Wessel S, Weyers S, Broekmans FJ, D'Hooghe TM, Bongers MY, Mol BWJ. Hysteroscopy for treating subfertility associated with suspected major uterine cavity abnormalities. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018 Dec 5;12(12):CD009461. doi: 10.1002/14651858.CD009461.pub4. PMID: 30521679; PMCID: PMC6517267.
- [50] Ozkan S, Murk W, Arici A. Endometriosis and infertility: epidemiology and evidence-based treatments. *Ann N Y Acad Sci*. 2008 Apr;1127:92-100. doi: 10.1196/annals.1434.007. PMID: 18443335.
- [51] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Endometriosis and infertility: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2012 Sep;98(3):591-8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.05.031. Epub 2012 Jun 15. PMID: 22704630.
- [52] Odisho AY, Nangia AK, Katz PP, Smith JF. Temporal and geospatial trends in male factor infertility with assisted reproductive technology in the United States from 1999-2010. *Fertil Steril*. 2014 Aug;102(2):469-75. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.05.006. Epub 2014 Jun 12. PMID: 24931206.
- [53] Kruger TF, Acosta AA, Simmons KF, Swanson RJ, Matta JF, Oehninger S. Predictive value of abnormal sperm morphology in in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1988 Jan;49(1):112-7. doi: 10.1016/s0015-0282(16)59660-5. PMID: 3335257.
- [54] van der Steeg JW, Steures P, Eijkemans MJ, F Habbema JD, Hompes PG, Kremer JA, van der Leeuw-Harmsen L, Bossuyt PM, Repping S, Silber SJ,

- Mol BW, van der Veen F; Collaborative Effort for Clinical Evaluation in Reproductive Medicine Study Group. Role of semen analysis in subfertile couples. *Fertil Steril*. 2011 Mar 1;95(3):1013-9. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.02.024. Epub 2010 Mar 24. PMID: 20338556.
- [55] Athaullah N, Proctor M, Johnson NP. Oral versus injectable ovulation induction agents for unexplained subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*. 2002;2002(3):CD003052. doi: 10.1002/14651858.CD003052. PMID: 12137671; PMCID: PMC6494519.
- [56] Collins JA, Van Steirteghem A. Overall prognosis with current treatment of infertility. *Hum Reprod Update*. 2004 Jul-Aug;10(4):309-16. doi: 10.1093/humupd/dmh029. Epub 2004 Jun 10. PMID: 15192058.
- [57] Conner SJ, Lefièvre L, Hughes DC, Barratt CL. Cracking the egg: increased complexity in the zona pellucida. *Hum Reprod*. 2005 May;20(5):1148-52. doi: 10.1093/humrep/deh835. Epub 2005 Mar 10. PMID: 15760956.
- [58] Gunn DD, Bates GW. Evidence-based approach to unexplained infertility: a systematic review. *Fertil Steril*. 2016 Jun;105(6):1566-1574.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.02.001. Epub 2016 Feb 19. PMID: 26902860.
- [59] Adashi EY. Clomiphene citrate: mechanism(s) and site(s) of action--a hypothesis revisited. *Fertil Steril*. 1984 Sep;42(3):331-44. doi: 10.1016/s0015-0282(16)48069-6. PMID: 6432584.
- [60] Legro RS, Brzyski RG, Diamond MP, Coutifaris C, Schlaff WD, Casson P, Christman GM, Huang H, Yan Q, Alvero R, Haisenleder DJ, Barnhart KT, Bates GW, Usadi R, Lucidi S, Baker V, Trussell JC, Krawetz SA, Snyder P, Ohl D, Santoro N, Eisenberg E, Zhang H; NICHD Reproductive Medicine Network. Letrozole versus clomiphene for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med*. 2014 Jul 10;371(2):119-29. doi: 10.1056/NEJMoa1313517. Erratum in: *N Engl J Med*. 2014 Oct 9;317(15):1465. PMID: 25006718; PMCID: PMC4175743.
- [61] Cissen M, Bensdorp A, Cohlen BJ, Repping S, de Bruin JP, van Wely M. Assisted reproductive technologies for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016 Feb 26;2:CD000360. doi: 10.1002/14651858.CD000360.pub5. PMID: 26915339.

- [62] Bhattacharya S, Harrild K, Mollison J, Wordsworth S, Tay C, Harrold A, McQueen D, Lyall H, Johnston L, Burrage J, Grossett S, Walton H, Lynch J, Johnstone A, Kini S, Raja A, Templeton A. Clomifene citrate or unstimulated intrauterine insemination compared with expectant management for unexplained infertility: pragmatic randomised controlled trial. *BMJ*. 2008 Aug 7;337:a716. doi: 10.1136/bmj.a716. PMID: 18687718; PMCID: PMC2505091.
- [63] Steptoe PC, Edwards RG. Reimplantation of a human embryo with subsequent tubal pregnancy. *Lancet*. 1976 Apr 24;1(7965):880-2. doi: 10.1016/s0140-6736(76)92096-1. PMID: 58146.
- [64] Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet*. 1978 Aug 12;2(8085):366. doi: 10.1016/s0140-6736(78)92957-4. PMID: 79723.
- [65] Sunderam S, Kissin DM, Zhang Y, Jewett A, Boulet SL, Warner L, Kroelinger CD, Barfield WD. Assisted Reproductive Technology Surveillance - United States, 2018. *MMWR Surveill Summ*. 2022 Feb 18;71(4):1-19. doi: 10.15585/mmwr.ss7104a1. PMID: 35176012; PMCID: PMC8865855.
- [66] Ata B, Kaplan B, Danzer H, Glassner M, Opsahl M, Tan SL, Munné S. Array CGH analysis shows that aneuploidy is not related to the number of embryos generated. *Reprod Biomed Online*. 2012 Jun;24(6):614-20. doi: 10.1016/j.rbmo.2012.02.009. Epub 2012 Feb 25. PMID: 22503277.
- [67] Hull MG, Fleming CF, Hughes AO, McDermott A. The age-related decline in female fecundity: a quantitative controlled study of implanting capacity and survival of individual embryos after in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1996 Apr;65(4):783-90. doi: 10.1016/s0015-0282(16)58214-4. PMID: 8654639.
- [68] Chai J, Lee VC, Yeung TW, Li HW, Ho PC, Ng EH. Live birth and cumulative live birth rates in expected poor ovarian responders defined by the Bologna criteria following IVF/ICSI treatment. *PLoS One*. 2015 Mar 6;10(3):e0119149. doi: 10.1371/journal.pone.0119149. Erratum in: *PLoS One*. 2015;10(6):e0131334. Li, Raymond Wun-Hang [corrected to Li, Hang Wun Raymond]. PMID: 25748478; PMCID: PMC4351960.

- [69] Bozdag G, Polat M, Yarali I, Yarali H. Live birth rates in various subgroups of poor ovarian responders fulfilling the Bologna criteria. *Reprod Biomed Online*. 2017 Jun;34(6):639-644. doi: 10.1016/j.rbmo.2017.03.009. Epub 2017 Mar 21. PMID: 28366519.
- [70] Johnson N, van Voorst S, Sowter MC, Strandell A, Mol BW. Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo in vitro fertilisation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010 Jan 20;2010(1):CD002125. doi: 10.1002/14651858.CD002125.pub3. Update in: *Cochrane Database Syst Rev*. 2020 Oct 22;10:CD002125. PMID: 20091531; PMCID: PMC7154223.
- [71] Rackow BW, Taylor HS. Submucosal uterine leiomyomas have a global effect on molecular determinants of endometrial receptivity. *Fertil Steril*. 2010 Apr;93(6):2027-34. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.03.029. Epub 2008 Jun 13. PMID: 18555231; PMCID: PMC3107853.
- [72] Sinclair DC, Mastroyannis A, Taylor HS. Leiomyoma simultaneously impair endometrial BMP-2-mediated decidualization and anticoagulant expression through secretion of TGF- β 3. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Feb;96(2):412-21. doi: 10.1210/jc.2010-1450. Epub 2010 Nov 17. PMID: 21084396; PMCID: PMC3048319.
- [73] Hornstein MD. Lifestyle and IVF Outcomes. *Reprod Sci*. 2016 Dec;23(12):1626-1629. doi: 10.1177/1933719116667226. Epub 2016 Sep 7. PMID: 27609400.
- [74] Waylen AL, Metwally M, Jones GL, Wilkinson AJ, Ledger WL. Effects of cigarette smoking upon clinical outcomes of assisted reproduction: a meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2009 Jan-Feb;15(1):31-44. doi: 10.1093/humupd/dmn046. Epub 2008 Oct 15. PMID: 18927070.
- [75] Sunderam S, Kissin DM, Crawford SB, Folger SG, Jamieson DJ, Warner L, Barfield WD; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Assisted Reproductive Technology Surveillance - ^[1]_{SEP}United States, 2013. *MMWR Surveill Summ*. 2015 Dec 4;64(11):1-25. doi: 10.15585/mmwr.ss6411a1. PMID: 26633040.
- [76] Qin J, Sheng X, Wu D, Gao S, You Y, Yang T, Wang H. Adverse Obstetric Outcomes Associated With In Vitro Fertilization in Singleton Pregnancies.

Reprod Sci. 2017 Apr;24(4):595-608. doi: 10.1177/1933719116667229. Epub 2016 Sep 27. PMID: 27620916.

- [77] Qin JB, Sheng XQ, Wu D, Gao SY, You YP, Yang TB, Wang H. Worldwide prevalence of adverse pregnancy outcomes among singleton pregnancies after in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2017 Feb;295(2):285-301. doi: 10.1007/s00404-016-4250-3. Epub 2016 Nov 28. PMID: 27896474.
- [78] Strömberg B, Dahlquist G, Ericson A, Finnström O, Köster M, Stjernqvist K. Neurological sequelae in children born after in-vitro fertilisation: a population-based study. *Lancet*. 2002 Feb 9;359(9305):461-5. doi: 10.1016/S0140-6736(02)07674-2. PMID: 11853790.
- [79] Vermeiden JP, Bernardus RE. Are imprinting disorders more prevalent after human in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection? *Fertil Steril*. 2013 Mar 1;99(3):642-51. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.01.125. PMID: 23714438.
- [80] Jaquet D, Léger J, Lévy-Marchal C, Czernichow P. Low birth weight: effect on insulin sensitivity and lipid metabolism. *Horm Res*. 2003;59(1):1-6. doi: 10.1159/000067940. PMID: 12566728.
- [81] Jaquet D, Leger J, Czernichow P, Levy-Marchal C. The effect of in-utero undernutrition on the insulin resistance syndrome. *Curr Diab Rep*. 2002 Feb;2(1):77-82. doi: 10.1007/s11892-002-0062-x. PMID: 12643126.
- [82] Ravelli AC, van Der Meulen JH, Osmond C, Barker DJ, Bleker OP. Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. *Am J Clin Nutr*. 1999 Nov;70(5):811-6. doi: 10.1093/ajcn/70.5.811. PMID: 10539740.
- [83] Ong KK, Ahmed ML, Emmett PM, Preece MA, Dunger DB. Association between postnatal catch-up growth and obesity in childhood: prospective cohort study. *BMJ*. 2000 Apr 8;320(7240):967-71. doi: 10.1136/bmj.320.7240.967. Erratum in: *BMJ* 2000 May 6;320(7244):1244. PMID: 10753147; PMCID: PMC27335.

- [84] Kulkarni AD, Jamieson DJ, Jones HW Jr, Kissin DM, Gallo MF, Macaluso M, Adashi EY. Fertility treatments and multiple births in the United States. *N Engl J Med.* 2013 Dec 5;369(23):2218-25. doi: 10.1056/NEJMoa1301467. PMID: 24304051.
- [85] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine and the Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology. Criteria for number of embryos to transfer: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2013 Jan;99(1):44-46. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.09.038. Epub 2012 Oct 22. PMID: 23095140.
- [86] Schieve LA, Ferre C, Peterson HB, Macaluso M, Reynolds MA, Wright VC. Perinatal outcome among singleton infants conceived through assisted reproductive technology in the United States. *Obstet Gynecol.* 2004 Jun;103(6):1144-53. doi: 10.1097/01.AOG.0000127037.12652.76. PMID: 15172846.
- [87] Mainigi MA, Olalere D, Burd I, Sapienza C, Bartolomei M, Coutifaris C. Peri-implantation hormonal milieu: elucidating mechanisms of abnormal placentation and fetal growth. *Biol Reprod.* 2014 Feb 13;90(2):26. doi: 10.1095/biolreprod.113.110411. PMID: 24352558; PMCID: PMC4076405.
- [88] Licht P, Neuwinger J, Fischer O, Siebzehnriibl E, Wildt L. VEGF plasma pattern in ovulation induction: evidence for an episodic secretion and lack of immediate effect of hCG. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2002 May;110(3):130-3. doi: 10.1055/s-2002-29090. PMID: 12012273.
- [89] Sullivan-Pyke CS, Senapati S, Mainigi MA, Barnhart KT. In Vitro fertilization and adverse obstetric and perinatal outcomes. *Semin Perinatol.* 2017 Oct;41(6):345-353. doi: 10.1053/j.semperi.2017.07.001. Epub 2017 Aug 14. PMID: 28818301; PMCID: PMC5951714.
- [90] de Waal E, Vrooman LA, Fischer E, Ord T, Mainigi MA, Coutifaris C, Schultz RM, Bartolomei MS. The cumulative effect of assisted reproduction procedures on placental development and epigenetic perturbations in a mouse model. *Hum Mol Genet.* 2015 Dec 15;24(24):6975-85. doi: 10.1093/hmg/ddv400. Epub 2015 Sep 23. PMID: 26401051; PMCID: PMC4654053.

- [91] Mainigi M, Rosenzweig JM, Lei J, Mensah V, Thomaier L, Talbot CC Jr, Olalere D, Ord T, Rozzah R, Johnston MV, Burd I. Peri-Implantation Hormonal Milieu: Elucidating Mechanisms of Adverse Neurodevelopmental Outcomes. *Reprod Sci*. 2016 Jun;23(6):785-94. doi: 10.1177/1933719115618280. Epub 2015 Nov 26. PMID: 26614264; PMCID: PMC5933150.
- [92] Díaz-Gimeno P, Horcajadas JA, Martínez-Conejero JA, Esteban FJ, Alamá P, Pellicer A, Simón C. A genomic diagnostic tool for human endometrial receptivity based on the transcriptomic signature. *Fertil Steril*. 2011 Jan;95(1):50-60, 60.e1-15. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.04.063. Epub 2010 Jul 8. PMID: 20619403.
- [93] Achache H, Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Hum Reprod Update*. 2006 Nov-Dec;12(6):731-46. doi: 10.1093/humupd/dml004. Epub 2006 Sep 18. PMID: 16982667.
- [94] Pandey S, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S, Maheshwari A. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from IVF/ICSI: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2012 Sep-Oct;18(5):485-503. doi: 10.1093/humupd/dms018. Epub 2012 May 19. PMID: 22611174.
- [95] Practice Bulletin No. 137: Gestational diabetes mellitus. *Obstet Gynecol*. 2013 Aug;122(2 Pt 1):406-416. doi: 10.1097/01.AOG.0000433006.09219.f1. PMID: 23969827.
- [96] Ashrafi M, Gosili R, Hosseini R, Arabipoor A, Ahmadi J, Chehrazhi M. Risk of gestational diabetes mellitus in patients undergoing assisted reproductive techniques. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2014 May;176:149-52. doi: 10.1016/j.ejogrb.2014.02.009. Epub 2014 Feb 15. PMID: 24630294.
- [97] Strawn EY Jr, Bick D, Swanson A. Is it the patient or the IVF? Beckwith-Wiedemann syndrome in both spontaneous and assisted reproductive conceptions. *Fertil Steril*. 2010 Jul;94(2):754.e1-2. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.01.067. Epub 2010 Mar 24. PMID: 20338562.
- [98] Tararbit K, Lelong N, Thieulin AC, Houyel L, Bonnet D, Goffinet F, Khoshnood B; EPICARD Study Group. The risk for four specific congenital

- heart defects associated with assisted reproductive techniques: a population-based evaluation. *Hum Reprod.* 2013 Feb;28(2):367-74. doi: 10.1093/humrep/des400. Epub 2012 Nov 22. PMID: 23178272; PMCID: PMC3874677.
- [99] Hansen M, Kurinczuk JJ, Bower C, Webb S. The risk of major birth defects after intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization. *N Engl J Med.* 2002 Mar 7;346(10):725-30. doi: 10.1056/NEJMoa010035. PMID: 11882727.
- [100] Vermeiden JP, Bernardus RE. Are imprinting disorders more prevalent after human in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection? *Fertil Steril.* 2013 Mar 1;99(3):642-51. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.01.125. PMID: 23714438.
- [101] Balayla J, Sheehy O, Fraser WD, Séguin JR, Trasler J, Monnier P, MacLeod AA, Simard MN, Muckle G, Bérard A; 3D-Study Research Group From the Integrated Research Network in Perinatology of Quebec and Eastern Ontario. Neurodevelopmental Outcomes After Assisted Reproductive Technologies. *Obstet Gynecol.* 2017 Feb;129(2):265-272. doi: 10.1097/AOG.0000000000001837. PMID: 28079770; PMCID: PMC5276709.
- [102] Strömberg B, Dahlquist G, Ericson A, Finnström O, Köster M, Stjernqvist K. Neurological sequelae in children born after in-vitro fertilisation: a population-based study. *Lancet.* 2002 Feb 9;359(9305):461-5. doi: 10.1016/S0140-6736(02)07674-2. PMID: 11853790.
- [103] Lehti V, Brown AS, Gissler M, Rihko M, Suominen A, Sourander A. Autism spectrum disorders in IVF children: a national case-control study in Finland. *Hum Reprod.* 2013 Mar;28(3):812-8. doi: 10.1093/humrep/des430. Epub 2013 Jan 4. PMID: 23293220; PMCID: PMC3708520.
- [104] Knoester M, Helmerhorst FM, van der Westerlaken LA, Walther FJ, Veen S; Leiden Artificial Reproductive Techniques Follow-up Project (L-art-FUP). Matched follow-up study of 5 8-year-old ICSI singletons: child behaviour, parenting stress and child (health-related) quality of life. *Hum Reprod.* 2007 Dec;22(12):3098-107. doi: 10.1093/humrep/dem261. Epub 2007 Sep 28. PMID: 17905745.

- [105] Kissin DM, Zhang Y, Boulet SL, Fountain C, Bearman P, Schieve L, Yeargin-Allsopp M, Jamieson DJ. Association of assisted reproductive technology (ART) treatment and parental infertility diagnosis with autism in ART-conceived children. *Hum Reprod.* 2015 Feb;30(2):454-65. doi: 10.1093/humrep/deu338. Epub 2014 Dec 17. PMID: 25518976; PMCID: PMC4287306.
- [106] Hvidtjørn D, Grove J, Schendel D, Schieve LA, Sværke C, Ernst E, Thorsen P. Risk of autism spectrum disorders in children born after assisted conception: a population-based follow-up study. *J Epidemiol Community Health.* 2011 Jun;65(6):497-502. doi: 10.1136/jech.2009.093823. Epub 2010 Jun 27. PMID: 20584728.
- [107] Arslan M, Bocca S, Mirkin S, Barroso G, Stadtmayer L, Oehninger S. Controlled ovarian hyperstimulation protocols for in vitro fertilization: two decades of experience after the birth of Elizabeth Carr. *Fertil Steril.* 2005 Sep;84(3):555-69. doi: 10.1016/j.fertnstert.2005.02.053. Erratum in: *Fertil Steril.* 2005 Nov;84(5):1557. PMID: 16169382.
- [108] Jones GS, Garcia JE, Rosenwaks Z. The role of pituitary gonadotropins in follicular stimulation and oocyte maturation in the human. *J Clin Endocrinol Metab.* 1984 Jul;59(1):178-80. doi: 10.1210/jcem-59-1-178. PMID: 6427270.
- [109] Jones HW Jr, Jones D, Kolm P. Cryopreservation: a simplified method of evaluation. *Hum Reprod.* 1997 Mar;12(3):548-53. doi: 10.1093/humrep/12.3.548. PMID: 9130757.
- [110] Ferraretti AP, Garcia JE, Acosta AA, Jones GS. Serum luteinizing hormone during ovulation induction with human menopausal gonadotropin for in vitro fertilization in normally menstruating women. *Fertil Steril.* 1983 Dec;40(6):742-7. doi: 10.1016/s0015-0282(16)47473-x. PMID: 6418573.
- [111] Ortmann O, Weiss JM, Diedrich K. Gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and GnRH agonists: mechanisms of action. *Reprod Biomed Online.* 2002;5 Suppl 1:1-7. doi: 10.1016/s1472-6483(11)60210-1. PMID: 12537774.
- [112] Shrestha D, La X, Feng HL. Comparison of different stimulation protocols used in in vitro fertilization: a review. *Ann Transl Med.* 2015 Jun;3(10):137.

doi: 10.3978/j.issn.2305-5839.2015.04.09. PMID: 26207230; PMCID: PMC4486909.

- [113] Kadoura S, Alhalabi M, Nattouf AH. Conventional GnRH antagonist protocols versus long GnRH agonist protocol in IVF/ICSI cycles of polycystic ovary syndrome women: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2022 Mar 15;12(1):4456. doi: 10.1038/s41598-022-08400-z. PMID: 35292717; PMCID: PMC8924277.
- [114] Depalo R, Jayakrishan K, Garruti G, Totaro I, Panzarino M, Giorgino F, Selvaggi LE. GnRH agonist versus GnRH antagonist in in vitro fertilization and embryo transfer (IVF/ET). *Reprod Biol Endocrinol.* 2012 Apr 13;10:26. doi: 10.1186/1477-7827-10-26. PMID: 22500852; PMCID: PMC3442989.
- [115] Fanchin R, Salomon L, Castelo-Branco A, Olivennes F, Frydman N, Frydman R. Luteal estradiol pre-treatment coordinates follicular growth during controlled ovarian hyperstimulation with GnRH antagonists. *Hum Reprod.* 2003 Dec;18(12):2698-703. doi: 10.1093/humrep/deg516. PMID: 14645194.
- [116] Reynolds KA, Omurtag KR, Jimenez PT, Rhee JS, Tuuli MG, Jungheim ES. Cycle cancellation and pregnancy after luteal estradiol priming in women defined as poor responders: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod.* 2013 Nov;28(11):2981-9. doi: 10.1093/humrep/det306. Epub 2013 Jul 25. PMID: 23887073; PMCID: PMC3795468.
- [117] Demirel A, Gurgan T. Comparison of microdose flare-up and antagonist multiple-dose protocols for poor-responder patients: a randomized study. *Fertil Steril.* 2009 Aug;92(2):481-5. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.07.006. Epub 2008 Nov 5. PMID: 18990368.
- [118] Ghaffari F, Jahangiri N, Madani T, Khodabakhshi S, Chehrizi M. Randomized controlled trial of gonadotropin-releasing hormone agonist microdose flare-up versus flare-up among poor responders undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Int J Gynaecol Obstet.* 2020 Jan;148(1):59-64. doi: 10.1002/ijgo.12988. Epub 2019 Oct 18. PMID: 31569274.
- [119] Nargund G, Fauser BC, Macklon NS, Ombelet W, Nygren K, Frydman R; Rotterdam ISMAAR Consensus Group on Terminology for Ovarian

- Stimulation for IVF. The ISMAAR proposal on terminology for ovarian stimulation for IVF. *Hum Reprod.* 2007 Nov;22(11):2801-4. doi: 10.1093/humrep/dem285. Epub 2007 Sep 12. PMID: 17855409.
- [120] Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature.* 1983 Oct 20-26;305(5936):707-9. doi: 10.1038/305707a0. PMID: 6633637.
 - [121] Edgar DH, Gook DA. A critical appraisal of cryopreservation (slow cooling versus vitrification) of human oocytes and embryos. *Hum Reprod Update.* 2012 Sep-Oct;18(5):536-54. doi: 10.1093/humupd/dms016. Epub 2012 Apr 25. PMID: 22537859.
 - [122] Chen C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet.* 1986 Apr 19;1(8486):884-6. doi: 10.1016/s0140-6736(86)90989-x. PMID: 2870356.
 - [123] Porcu E, Fabbri R, Seracchioli R, Ciotti PM, Magrini O, Flamigni C. Birth of a healthy female after intracytoplasmic sperm injection of cryopreserved human oocytes. *Fertil Steril.* 1997 Oct;68(4):724-6. doi: 10.1016/s0015-0282(97)00268-9. PMID: 9341619.
 - [124] Fabbri R, Porcu E, Marsella T, Primavera MR, Seracchioli R, Ciotti PM, Magrini O, Venturoli S, Flamigni C. Oocyte cryopreservation. *Hum Reprod.* 1998 Dec;13 Suppl 4:98-108. doi: 10.1093/humrep/13.suppl_4.98. PMID: 10091061.
 - [125] Fabbri R, Porcu E, Marsella T, Primavera MR, Rocchetta G, Ciotti PM, Magrini O, Seracchioli R, Venturoli S, Flamigni C. Technical aspects of oocyte cryopreservation. *Mol Cell Endocrinol.* 2000 Nov 27;169(1-2):39-42. doi: 10.1016/s0303-7207(00)00349-x. PMID: 11155952.
 - [126] Kuleshova L, Gianaroli L, Magli C, Ferraretti A, Trounson A. Birth following vitrification of a small number of human oocytes: case report. *Hum Reprod.* 1999 Dec;14(12):3077-9. doi: 10.1093/humrep/14.12.3077. PMID: 10601099.
 - [127] Albani E, Morreale G, Parini V, et al. Preliminary experience in ovocytes cryopreservation. *Fertil steril* 2002; 78:S128–S129.

- [128] Levi Setti PE, Albani E, Novara PV, Cesana A, Bianchi S, Negri L. Normal birth after transfer of cryopreserved human embryos generated by microinjection of cryopreserved testicular spermatozoa into cryopreserved human oocytes. *Fertil Steril.* 2005 Apr;83(4):1041. doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.09.034. PMID: 15820821.
- [129] Borini A, Levi Setti PE, Anserini P, De Luca R, De Santis L, Porcu E, La Sala GB, Ferraretti A, Bartolotti T, Coticchio G, Scaravelli G. Multicenter observational study on slow-cooling oocyte cryopreservation: clinical outcome. *Fertil Steril.* 2010 Oct;94(5):1662-8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.10.029. Epub 2010 Jan 4. PMID: 20047739.
- [130] Albani E, Barbieri J, Novara PV, Smeraldi A, Scaravelli G, Levi Setti PE. Oocyte cryopreservation. *Placenta.* 2008 Oct;29 Suppl B:143-6. doi: 10.1016/j.placenta.2008.08.002. PMID: 18790326.
- [131] Borini A, Sciajno R, Bianchi V, Sereni E, Flamigni C, Coticchio G. Clinical outcome of oocyte cryopreservation after slow cooling with a protocol utilizing a high sucrose concentration. *Hum Reprod.* 2006 Feb;21(2):512-7. doi: 10.1093/humrep/dei346. Epub 2005 Oct 20. PMID: 16239316.
- [132] Boldt J, Tidswell N, Sayers A, Kilani R, Cline D. Human oocyte cryopreservation: 5-year experience with a sodium-depleted slow freezing method. *Reprod Biomed Online.* 2006 Jul;13(1):96-100. doi: 10.1016/s1472-6483(10)62021-4. PMID: 16820118.
- [133] Whittingham DG, Leibo SP, Mazur P. Survival of mouse embryos frozen to -196 degrees and -269 degrees C. *Science.* 1972 Oct 27;178(4059):411-4. PMID: 5077328.
- [134] Son WY, Tan SL. Comparison between slow freezing and vitrification for human embryos. *Expert Rev Med Devices.* 2009 Jan;6(1):1-7. doi: 10.1586/17434440.6.1.1. PMID: 19105773.
- [135] Mukaida T, Wada S, Takahashi K, Pedro PB, An TZ, Kasai M. Vitrification of human embryos based on the assessment of suitable conditions for 8-cell mouse embryos. *Hum Reprod.* 1998 Oct;13(10):2874-9. doi: 10.1093/humrep/13.10.2874. PMID: 9804248.

- [136] Jelinkova L, Selman HA, Arav A, Strehler E, Reeka N, Sterzik K. Twin pregnancy after vitrification of 2-pronuclei human embryos. *Fertil Steril*. 2002 Feb;77(2):412-4. doi: 10.1016/s0015-0282(01)02992-2. PMID: 11821107.
- [137] Selman HA, El-Danasouri I. Pregnancies derived from vitrified human zygotes. *Fertil Steril*. 2002 Feb;77(2):422-3. doi: 10.1016/s0015-0282(01)02991-0. PMID: 11821110.
- [138] Liebermann J, Dietl J, Vanderzwalmen P, Tucker MJ. Recent developments in human oocyte, embryo and blastocyst vitrification: where are we now? *Reprod Biomed Online*. 2003 Dec;7(6):623-33. doi: 10.1016/s1472-6483(10)62084-6. PMID: 14748959.
- [139] Vajta G, Nagy ZP. Are programmable freezers still needed in the embryo laboratory? Review on vitrification. *Reprod Biomed Online*. 2006;12(6):779–796. doi: 10.1016/S1472-6483(10)61091-7.
- [140] Rienzi L, Gracia C, Maggiulli R, LaBarbera AR, Kaser DJ, Ubaldi FM, et al. Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *HumReprodUpdate*. 2017;23(2):139–155. doi: 10.1093/humupd/dmw038
- [141] Cobo A, de los Santos MJ, Castellò D, Gámiz P, Campos P, Remohí J. Outcomes of vitrified early cleavage-stage and blastocyst-stage embryos in a cryopreservation program: evaluation of 3,150 warming cycles. *Fertil Steril*. 2012 Nov;98(5):1138-46.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.07.1107. Epub 2012 Aug 3. PMID: 22862909. .
- [142] Zaat T, Zagers M, Mol F, Goddijn M, van Wely M, Mastenbroek S. Fresh versus frozen embryo transfers in assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2021 Feb 4;2(2):CD011184. doi: 10.1002/14651858.CD011184.pub3. PMID: 33539543; PMCID: PMC8095009.
- [143] Roy TK, Bradley CK, Bowman MC, McArthur SJ. Single-embryo transfer of vitrified-warmed blastocysts yields equivalent live-birth rates and improved neonatal outcomes compared with fresh transfers. *Fertil Steril*.

- 2014 May;101(5):1294-301. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.01.046. Epub 2014 Feb 27. PMID: 24582521.
- [144] Feng G, Zhang B, Zhou H, Shu J, Gan X, Wu F, Deng X. Comparable clinical outcomes and live births after single vitrified-warmed and fresh blastocyst transfer. *Reprod Biomed Online*. 2012 Nov;25(5):466-73. doi: 10.1016/j.rbmo.2012.07.008. Epub 2012 Jul 22. PMID: 22995746
 - [145] Loutradi KE, Kolibianakis EM, Venetis CA, Papanikolaou EG, Pados G, Bontis I, Tarlatzis BC. Cryopreservation of human embryos by vitrification or slow freezing: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2008 Jul;90(1):186-93. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.06.010. Epub 2007 Nov 5. PMID: 17980870.
 - [146] Kolibianakis EM, Venetis CA, Tarlatzis BC. Cryopreservation of human embryos by vitrification or slow freezing: which one is better? *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2009 Jun;21(3):270-4. doi: 10.1097/GCO.0b013e3283297dd6. PMID: 19276976.
 - [147] Edgar DH, Gook DA. A critical appraisal of cryopreservation (slow cooling versus vitrification) of human oocytes and embryos. *Hum Reprod Update*. 2012 Sep-Oct;18(5):536-54. doi: 10.1093/humupd/dms016. Epub 2012 Apr 25. PMID: 22537859.
 - [148] Nagy ZP, Shapiro D, Chang CC. Vitrification of the human embryo: a more efficient and safer in vitro fertilization treatment. *Fertil Steril*. 2020 Feb;113(2):241-247. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.12.009. PMID: 32106970.
 - [149] Devroey P, Bourgain C, Macklon NS, Fauser BC. Reproductive biology and IVF: ovarian stimulation and endometrial receptivity. *Trends Endocrinol Metab*. 2004 Mar;15(2):84-90. doi: 10.1016/j.tem.2004.01.009. PMID: 15036255.
 - [150] Assisted Reproductive Technologies, third edition, David K Gardner, Ariel Weissman, Colin M Howles, Zeev Shoham, p 247
 - [151] Michelmann HW, Nayudu P. Cryopreservation of human embryos. *Cell Tissue Bank*. 2006;7(2):135-41. doi: 10.1007/s10561-005-0877-1. PMID:

- 16732416.Borini, A., et al., Clinical efficiency of oocyte and embryo cryopreservation. *Ann N Y Acad Sci*, 2008. 1127: p. 49-58.
- [152] Cohen J, Simons RF, Fehilly CB, Fishel SB, Edwards RG, Hewitt J, Rowland GF, Steptoe PC, Webster JM. Birth after replacement of hatching blastocyst cryopreserved at expanded blastocyst stage. *Lancet*. 1985 Mar 16;1(8429):647. doi: 10.1016/s0140-6736(85)92194-4. PMID: 2857991.
- [153] Moragianni VA, Cohen JD, Smith SE, Schinfeld JS, Somkuti SG, Lee A, Barmat LI. Outcomes of day-1, day-3, and blastocyst cryopreserved embryo transfers. *Fertil Steril*. 2010 Mar 1;93(4):1353-5. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.08.018. Epub 2009 Oct 7. PMID: 19815194.
- [154] Cobo A, de los Santos MJ, Castellò D, Gámiz P, Campos P, Remohí J. Outcomes of vitrified early cleavage-stage and blastocyst-stage embryos in a cryopreservation program: evaluation of 3,150 warming cycles. *Fertil Steril*. 2012 Nov;98(5):1138-46.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.07.1107. Epub 2012 Aug 3. PMID: 22862909.
- [155] Fernández-Shaw S, Cercas R, Braña C, Villas C, Pons I. Ongoing and cumulative pregnancy rate after cleavage-stage versus blastocyst-stage embryo transfer using vitrification for cryopreservation: impact of age on the results. *J Assist Reprod Genet*. 2015 Feb;32(2):177-84. doi: 10.1007/s10815-014-0387-9. Epub 2014 Nov 18. PMID: 25403438; PMCID: PMC4354180.
- [156] Lai D, Ding J, Smith GW, Smith GD, Takayama S. Slow and steady cell shrinkage reduces osmotic stress in bovine and murine oocyte and zygote vitrification. *Hum Reprod*. 2015 Jan;30(1):37-45. doi: 10.1093/humrep/deu284. Epub 2014 Oct 29. PMID: 25355589; PMCID: PMC4262467.
- [157] Quea G, Romero K, Garcia-Velasco JA. Extended embryo culture to increase implantation rate. *Reprod Biomed Online*. 2007 Mar;14(3):375-83. doi: 10.1016/s1472-6483(10)60882-6. PMID: 17359595.
- [158] European IVF-monitoring Consortium (EIM); European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE); Calhaz-Jorge C, De Geyter C, Kupka MS, de Mouzon J, Erb K, Mocanu E, Motrenko T, Scaravelli G, Wyns C, Goossens V. Assisted reproductive technology in Europe, 2013:

results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod.* 2017 Oct 1;32(10):1957-1973. doi: 10.1093/humrep/dex264. PMID: 29117383.

- [159] Kolibianakis E, Bourgain C, Albano C, Osmanagaoglu K, Smitz J, Van Steirteghem A, Devroey P. Effect of ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone, gonadotropin releasing hormone antagonists, and human chorionic gonadotropin on endometrial maturation on the day of oocyte pick-up. *Fertil Steril.* 2002 Nov;78(5):1025-9. doi: 10.1016/s0015-0282(02)03323-x. PMID: 12413988.
- [160] Nikas G, Develioglou OH, Toner JP, Jones HW Jr. Endometrial pinopodes indicate a shift in the window of receptivity in IVF cycles. *Hum Reprod.* 1999 Mar;14(3):787-92. doi: 10.1093/humrep/14.3.787. PMID: 10221715.
- [161] Simón C, Garcia Velasco JJ, Valbuena D, Peinado JA, Moreno C, Remohí J, Pellicer A. Increasing uterine receptivity by decreasing estradiol levels during the preimplantation period in high responders with the use of a follicle-stimulating hormone step-down regimen. *Fertil Steril.* 1998 Aug;70(2):234-9. doi: 10.1016/s0015-0282(98)00140-x. PMID: 9696213.
- [162] Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, Aguirre M, Hudson C, Thomas S. High ongoing pregnancy rates after deferred transfer through bipronuclear oocyte cryopreservation and post-thaw extended culture. *Fertil Steril.* 2009 Nov;92(5):1594-9. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.08.103. Epub 2008 Nov 11. PMID: 19006793.
- [163] Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, Aguirre M, Thomas S. Large blastocyst diameter, early blastulation, and low preovulatory serum progesterone are dominant predictors of clinical pregnancy in fresh autologous cycles. *Fertil Steril.* 2008 Aug;90(2):302-9. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.06.062. Epub 2007 Oct 1. PMID: 17905239.
- [164] Roque M, Lattes K, Serra S, Solà I, Geber S, Carreras R, Checa MA. Fresh embryo transfer versus frozen embryo transfer in in vitro fertilization cycles: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2013 Jan;99(1):156-162. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.09.003. Epub 2012 Oct 3. PMID: 23040524.

- [165] Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature*. 1983 Oct 20-26;305(5936):707-9. doi: 10.1038/305707a0. PMID: 6633637.
- [166] Glujovsky D, Pesce R, Fisz bajn G, Sueldo C, Hart RJ, Ciapponi A. Endometrial preparation for women undergoing embryo transfer with frozen embryos or embryos derived from donor oocytes. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010 Jan 20;(1):CD006359. doi: 10.1002/14651858.CD006359.pub2. Update in: *Cochrane Database Syst Rev*. 2020 Oct 28;10:CD006359. PMID: 20091592.
- [167] Weinerman R, Mainigi M. Why we should transfer frozen instead of fresh embryos: the translational rationale. *Fertil Steril*. 2014 Jul;102(1):10-8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.05.019. Epub 2014 Jun 2. PMID: 24890274; PMCID: PMC4435545.
- [168] Stormlund S, Sopa N, Zedeler A, Bogstad J, Prætorius L, Nielsen HS, Kitlinski ML, Skouby SO, Mikkelsen AL, Spangmose AL, Jeppesen JV, Khatibi A, la Cour Freiesleben N, Ziebe S, Polyzos NP, Bergh C, Humaidan P, Andersen AN, Løssl K, Pinborg A. Freeze-all versus fresh blastocyst transfer strategy during in vitro fertilisation in women with regular menstrual cycles: multicentre randomised controlled trial. *BMJ*. 2020 Aug 5;370:m2519. doi: 10.1136/bmj.m2519. PMID: 32759285; PMCID: PMC7399608.
- [169] Greco E, Litwicka K, Arrivi C, Varricchio MT, Caragia A, Greco A, Minasi MG, Fiorentino F. The endometrial preparation for frozen-thawed euploid blastocyst transfer: a prospective randomized trial comparing clinical results from natural modified cycle and exogenous hormone stimulation with GnRH agonist. *J Assist Reprod Genet*. 2016 Jul;33(7):873-84. doi: 10.1007/s10815-016-0736-y. Epub 2016 May 24. PMID: 27221477; PMCID: PMC4930788.
- [170] Bergh PA, Navot D. The impact of embryonic development and endometrial maturity on the timing of implantation. *Fertil Steril*. 1992 Sep;58(3):537-42. doi: 10.1016/s0015-0282(16)55259-5. PMID: 1521649.
- [171] Noyes RW, Hertig AT, Rock J. Dating the endometrial biopsy. *Am J Obstet Gynecol*. 1975 May;122(2):262-3. doi: 10.1016/s0002-9378(16)33500-1. PMID: 1155504.

- [172] Andersen AG, Als-Nielsen B, Hornnes PJ, Franch Andersen L. Time interval from human chorionic gonadotrophin (HCG) injection to follicular rupture. *Hum Reprod.* 1995 Dec;10(12):3202-5. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a135888. PMID: 8822444.
- [173] Young JR, Jaffe RB. Strength-duration characteristics of estrogen effects on gonadotropin response to gonadotropin-releasing hormone in women. II. Effects of varying concentrations of estradiol. *J Clin Endocrinol Metab.* 1976 Mar;42(3):432-42. doi: 10.1210/jcem-42-3-432. PMID: 767352.
- [174] Erden M, Mumusoglu S, Polat M, Yarali Ozbek I, Esteves SC, Humaidan P, Yarali H. The LH surge and ovulation re-visited: a systematic review and meta-analysis and implications for true natural cycle frozen thawed embryo transfer. *Hum Reprod Update.* 2022 Aug 25;28(5):717-732. doi: 10.1093/humupd/dmac012. PMID: 35258085.
- [175] Paulson RJ. Hormonal induction of endometrial receptivity. *Fertil Steril.* 2011 Sep;96(3):530-5. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.07.1097. PMID: 21880274.
- [176] Miles RA, Paulson RJ, Lobo RA, Press MF, Dahmouch L, Sauer MV. Pharmacokinetics and endometrial tissue levels of progesterone after administration by intramuscular and vaginal routes: a comparative study. *Fertil Steril.* 1994 Sep;62(3):485-90. doi: 10.1016/s0015-0282(16)56935-0. PMID: 8062942.
- [177] Kahraman S, Çetinkaya CP, Sahin Y, Oner G. Transdermal versus oral estrogen: clinical outcomes in patients undergoing frozen-thawed single blastocyst transfer cycles without GnRHa suppression, a prospective randomized clinical trial. *J Assist Reprod Genet.* 2019 Mar;36(3):453-459. doi: 10.1007/s10815-018-1380-5. Epub 2018 Dec 5. PMID: 30519898; PMCID: PMC6439127.
- [178] Tourgeman DE, Gentzchein E, Stanczyk FZ, Paulson RJ. Serum and tissue hormone levels of vaginally and orally administered estradiol. *Am J Obstet Gynecol.* 1999 Jun;180(6 Pt 1):1480-3. doi: 10.1016/s0002-9378(99)70042-6. PMID: 10368494.
- [179] Kalem Z, Kalem MN, Gürgan T. Methods for endometrial preparation in frozen-thawed embryo transfer cycles. *J Turk Ger Gynecol Assoc.* 2016 Sep

1;17(3):168-72. doi: 10.5152/jtgga.2016.15214. PMID: 27651727; PMCID: PMC5019835.

- [180] Franasiak JM, Ruiz-Alonso M, Scott RT, Simón C. Both slowly developing embryos and a variable pace of luteal endometrial progression may conspire to prevent normal birth in spite of a capable embryo. *Fertil Steril*. 2016 Apr;105(4):861-6. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.02.030. PMID: 26940791.
- [181] Granne I, Child T, Hartshorne G; British Fertility Society. Embryo cryopreservation: evidence for practice. *Hum Fertil (Camb)*. 2008 Sep;11(3):159-72. doi: 10.1080/14647270802242205. PMID: 18925471.
- [182] El-Toukhy T, Coomarasamy A, Khairy M, Sunkara K, Seed P, Khalaf Y, Braude P. The relationship between endometrial thickness and outcome of medicated frozen embryo replacement cycles. *Fertil Steril*. 2008 Apr;89(4):832-9. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.04.031. Epub 2007 Aug 6. PMID: 17681313.
- [183] Dal Prato L, Borini A, Cattoli M, Bonu MA, Sciajno R, Flamigni C. Endometrial preparation for frozen-thawed embryo transfer with or without pretreatment with gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertil Steril*. 2002 May;77(5):956-60. doi: 10.1016/s0015-0282(02)02960-6. PMID: 12009350.
- [184] Van de Vijver A, Polyzos NP, Van Landuyt L, De Vos M, Camus M, Stoop D, Tournaye H, Blockeel C. Cryopreserved embryo transfer in an artificial cycle: is GnRH agonist down-regulation necessary? *Reprod Biomed Online*. 2014 Nov;29(5):588-94. doi: 10.1016/j.rbmo.2014.08.005. Epub 2014 Aug 27. PMID: 25281196.
- [185] Gelbaya TA, Nardo LG, Hunter HR, Fitzgerald CT, Horne G, Pease EE, Brison DR, Lieberman BA. Cryopreserved-thawed embryo transfer in natural or down-regulated hormonally controlled cycles: a retrospective study. *Fertil Steril*. 2006 Mar;85(3):603-9. doi: 10.1016/j.fertnstert.2005.09.015. PMID: 16500326.
- [186] Levron J, Yerushalmi GM, Brengauz M, Gat I, Katorza E. Comparison between two protocols for thawed embryo transfer: natural cycle versus exogenous hormone replacement. *Gynecol Endocrinol*. 2014 Jul;30(7):494-

7. doi: 10.3109/09513590.2014.900032. Epub 2014 Mar 27. PMID: 24669825.
- [187] von Wolff M. The role of Natural Cycle IVF in assisted reproduction. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2019 Feb;33(1):35-45. doi: 10.1016/j.beem.2018.10.005. Epub 2018 Nov 9. PMID: 30473207.
- [188] Groenewoud ER, Cohlen BJ, Macklon NS. Programming the endometrium for deferred transfer of cryopreserved embryos: hormone replacement versus modified natural cycles. *Fertil Steril.* 2018 May;109(5):768-774. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.02.135. PMID: 29778369.
- [189] European IVF-Monitoring Consortium (EIM); European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE); Kupka MS, D'Hooghe T, Ferraretti AP, de Mouzon J, Erb K, Castilla JA, Calhaz-Jorge C, De Geyter Ch, Goossens V. Assisted reproductive technology in Europe, 2011: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod.*
- [190] Wong KM, Mastenbroek S, Repping S. Cryopreservation of human embryos and its contribution to in vitro fertilization success rates. *Fertil Steril.* 2014 Jul;102(1):19-26. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.05.027. Epub 2014 Jun 2. PMID: 24890275.
- [191] Cardellicchio L, Reschini M, Paffoni A, Guarneri C, Restelli L, Somigliana E, Vegetti W. Frozen-thawed blastocyst transfer in natural cycle: feasibility in everyday clinical practice. *Arch Gynecol Obstet.* 2017 Jun;295(6):1509-1514. doi: 10.1007/s00404-017-4383-z. Epub 2017 Apr 28. PMID: 28455581.
- [192] Tomás C, Alsbjerg B, Martikainen H, Humaidan P. Pregnancy loss after frozen-embryo transfer--a comparison of three protocols. *Fertil Steril.* 2012 Nov;98(5):1165-9. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.07.1058. Epub 2012 Jul 27. PMID: 22840239.
- [193] Mounce G, McVeigh E, Turner K, Child TJ. Randomized, controlled pilot trial of natural versus hormone replacement therapy cycles in frozen embryo replacement in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2015 Oct;104(4):915-920.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.07.1131. Epub 2015 Aug 5. PMID: 26255087.

- [194] Cardenas Armas DF, Peñarrubia J, Goday A, Guimerá M, Vidal E, Manau D, Fabregues F. Frozen-thawed blastocyst transfer in natural cycle increase implantation rates compared artificial cycle. *Gynecol Endocrinol*. 2019 Oct;35(10):873-877. doi: 10.1080/09513590.2019.1600668. Epub 2019 Apr 11. PMID: 30973031.
- [195] Guan Y, Fan H, Styer AK, Xiao Z, Li Z, Zhang J, Sun L, Wang X, Zhang Z. A modified natural cycle results in higher live birth rate in vitrified-thawed embryo transfer for women with regular menstruation. *Syst Biol Reprod Med*. 2016 Oct;62(5):335-42. doi: 10.1080/19396368.2016.1199064. Epub 2016 Jul 11. PMID: 27400398.
- [196] Morozov V, Ruman J, Kenigsberg D, Moodie G, Brenner S. Natural cycle cryo-thaw transfer may improve pregnancy outcome. *J Assist Reprod Genet*. 2007 Apr;24(4):119-23. doi: 10.1007/s10815-006-9100-y. Epub 2007 Feb 16. PMID: 17450431; PMCID: PMC3455063.
- [197] Pakes C, Volovsky M, Rozen G, Agresta F, Gardner DK, Polyakov A. Comparing pregnancy outcomes between natural cycles and artificial cycles following frozen-thaw embryo transfers. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2020 Oct;60(5):804-809. doi: 10.1111/ajo.13213. Epub 2020 Jul 20. PMID: 32691424.
- [198] Lathi RB, Chi YY, Liu J, Saravanabavanandhan B, Hegde A, Baker VL. Frozen blastocyst embryo transfer using a supplemented natural cycle protocol has a similar live birth rate compared to a programmed cycle protocol. *J Assist Reprod Genet*. 2015 Jul;32(7):1057-62. doi: 10.1007/s10815-015-0499-x. Epub 2015 May 28. PMID: 26018319; PMCID: PMC4531857.
- [199] Kim YJ, Choi YS, Lee WD, Kim KC, Jee BC, Suh CS, Kim SH, Moon SY. Does a vitrified blastocyst stage embryo transfer program need hormonal priming for endometrial preparation? *J Obstet Gynaecol Res*. 2010 Aug;36(4):783-8. doi: 10.1111/j.1447-0756.2010.01243.x. PMID: 20666946.
- [200] Gingold JA, Lee JA, Rodriguez-Purata J, Whitehouse MC, Sandler B, Grunfeld L, Mukherjee T, Copperman AB. Endometrial pattern, but not endometrial thickness, affects implantation rates in euploid embryo transfers. *Fertil Steril*. 2015 Sep;104(3):620-8.e5. doi:

- 10.1016/j.fertnstert.2015.05.036. Epub 2015 Jun 13. PMID: 26079695; PMCID: PMC4561002.
- [201] Zhao J, Zhang Q, Li Y. The effect of endometrial thickness and pattern measured by ultrasonography on pregnancy outcomes during IVF-ET cycles. *Reprod Biol Endocrinol*. 2012 Nov 28;10:100. doi: 10.1186/1477-7827-10-100. PMID: 23190428; PMCID: PMC3551825.
 - [202] Loh SK, Leong NK. Factors affecting success in an embryo cryopreservation programme. *Ann Acad Med Singap*. 1999 Mar;28(2):260-5. PMID: 10497679.
 - [203] Rashidi BH, Sadeghi M, Jafarabadi M, Tehrani Nejad ES. Relationships between pregnancy rates following in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection and endometrial thickness and pattern. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2005 Jun 1;120(2):179-84. doi: 10.1016/j.ejogrb.2004.08.016. PMID: 15925048.
 - [204] Dain L, Bider D, Levron J, Zinchenko V, Westler S, Dirnfeld M. Thin endometrium in donor oocyte recipients: enigma or obstacle for implantation? *Fertil Steril*. 2013 Nov;100(5):1289-95. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.07.1966. Epub 2013 Aug 15. PMID: 23954352.
 - [205] Anton L, Brosnihan KB. Systemic and uteroplacental renin--angiotensin system in normal and pre-eclamptic pregnancies. *Ther Adv Cardiovasc Dis*. 2008 Oct;2(5):349-62. doi: 10.1177/1753944708094529. PMID: 19124433; PMCID: PMC2692864.
 - [206] Mainigi MA, Sapienza C, Butts S, Coutifaris C. A Molecular Perspective on Procedures and Outcomes with Assisted Reproductive Technologies. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016 Apr 1;6(4):a023416. doi: 10.1101/cshperspect.a023416. PMID: 26747835; PMCID: PMC4817745.
 - [207] Beltrame JS, Sordelli MS, Cañumil VA, Alonso CAI, Perez Martinez S, Ribeiro ML. Steroid hormones induce in vitro human first trimester trophoblast tubulogenesis by the lysophosphatidic acid pathway. *Mol Cell Endocrinol*. 2018 Dec 15;478:126-132. doi: 10.1016/j.mce.2018.08.003. Epub 2018 Aug 9. PMID: 30099013.

- [208] Bora Lee, Lindsay L. Kroener, Ning Xu, Erica T. Wang, Alexandra Banks, John Williams, III, Mark O. Goodarzi, Yii-der I. Chen, Jie Tang, Yizhou Wang, Vineela Gangalapudi, Margareta D. Pisarska, Function and Hormonal Regulation of GATA3 in Human First Trimester Placentation, *Biology of Reproduction*, Volume 95, Issue 5, 1 November 2016, 113, 1–9, <https://doi.org/10.1095/biolreprod.116.141861>
- [209] Conrad KP. Emerging role of relaxin in the maternal adaptations to normal pregnancy: implications for preeclampsia. *Semin Nephrol.* 2011 Jan;31(1):15-32. doi: 10.1016/j.semnephrol.2010.10.003. PMID: 21266262; PMCID: PMC3381791.
- [210] Kahraman S, Sahin Y. Is there a critical LH level for hCG trigger after the detection of LH surge in modified natural frozen-thawed single blastocyst transfer cycles? *J Assist Reprod Genet.* 2020 Dec;37(12):3025-3031. doi: 10.1007/s10815-020-01974-5. Epub 2020 Oct 14. PMID: 33057910; PMCID: PMC7714888.
- [211] Litwicka K, Mencacci C, Arrivi C, Varricchio MT, Caragia A, Minasi MG, Greco E. HCG administration after endogenous LH rise negatively influences pregnancy rate in modified natural cycle for frozen-thawed euploid blastocyst transfer: a pilot study. *J Assist Reprod Genet.* 2018 Mar;35(3):449-455. doi: 10.1007/s10815-017-1089-x. Epub 2017 Nov 17. PMID: 29147846; PMCID: PMC5904062.
- [212] 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 Apr 15;112(8):1061-7. doi: 10.1016/0002-9378(72)90181-0. PMID: 5017636.
- [213] Csapo AI, Pulkkinen MO, Wiest WG. Effects of luteectomy and progesterone replacement therapy in early pregnant patients. *Am J Obstet Gynecol.* 1973 Mar 15;115(6):759-65. doi: 10.1016/0002-9378(73)90517-6. PMID: 4688578.
- Devine K, Richter KS, Jahandideh S, Widra EA, McKeeby JL. Intramuscular progesterone optimizes live birth from programmed frozen embryo transfer: a randomized clinical trial. *Fertil Steril.* 2021 Sep;116(3):633-643. doi: 10.1016/j.fertnstert.2021.04.013. Epub 2021 May 13. PMID: 33992421.

10. EKLER

Ek 1. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakóltesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onayı

Kişisel verilerin korunması kanunu kapsamında ilgili belge açık erişime kapatılmıştır.

