

**Dondurulmuş Embriyo Siklusunda Embriyo Transfer Zamanlaması Gebelik Başarısını Etkiler Mi? Tek Merkez Deneyimi****Cleavage-Stage Or Blastocyst Transfer: Does It Affect Pregnancy And Live Birth Rate İn Frozen-Thawed Embryo Transfer Cycle ?**

Seyhan SÖNMEZ, Mustafa ÖZTÜRK, Cem KORKMAZ, Ferhan SÖNMEZ, Barış BAYKAL, Cihangir Mutlu ERCAN, Seyit Temel CEYHAN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, YÜT Merkezi, Ankara

**ÖZ**

**Amaç:** Dondurulmuş çözülmüş embriyo ve blastokist transferinin güvenilirliği ve klinik başarısı ile ilgili çelişkili yayınlara rağmen, tüm dünyada dondurulmuş embriyo ve blastokist transferi yönünde bir eğilim mevcuttur. Bu çalışmanın amacı dondurulmuş embriyo siklusunda klivaj ve blastokist evresi embriyo transferlerinin klinik ve gebelik sonuçlarını karşılaştırmaktır.

**Gereç ve Yöntemler:** Bu retrospektif çalışmada, tek bir merkezde 2014 ile 2017 tarihleri arasında gerçekleştirilen 102 dondurulmuş çözülmüş embriyo transfer (DÇET) siklusunun sonuçları incelendi ve bu dönemde yapılan 52 klivaj evresi dondurulmuş çözülmüş embriyo transfer (K-DÇET) siklusu ile 50 blastokist evresi dondurulmuş çözülmüş embriyo transfer (B-DÇET) siklusunun klinik ve canlı doğum sonuçları karşılaştırıldı.

**Bulgular:** K-DÇET ve B-DÇET gruplarındaki hastaların yaşı, infertilite nedenleri, önceden uygulanan ovulasyon indüksiyon protokolleri, toplam gonadotropin dozu, toplanan oosit sayıları ve transfer edilen ortalama embriyo sayıları benzerdi. Klinik gebelik ve canlı doğum oranları istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte B-DÇET grubunda (%50 ve %22), K-DÇET grubundan (%28 ve %16.7) yüksekti.

**Sonuç:** Dondurulmuş çözülmüş embriyo transfer siklusunda blastokist transferinin klinik sonuçları klivaj evresi embriyo transferinden daha iyi gözükmele birlikte, her iki grup arasında klinik gebelik ve canlı doğum oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur.

**Anahtar Kelimeler:** dondurulmuş embriyo, blastokist-klivaj evresi transfer, gebelik sonuçları

**ABSTRACT**

**Aim:** Despite the existence of conflicting data regarding success and safety, there has been an increasing trend to frozen embryo cycle and blastocyst transfer worldwide. The aim of this study is to evaluate clinical results and pregnancy outcomes of frozen-thawed embryo transfer with cleavage stage versus blastocyst stage.

**Material and Methods:** In this retrospective study, we evaluated 102 frozen embryo transfer (FET) cycles of single IVF center between 2014 and 2017. A total of 52 frozen-thawed cleavage stage embryo transfer cycles (C-FET) were compared with 50 FET cycles with blastocyst (B-FET).

**Results:** There was no difference in age, infertility reason, type of preceding ovulation induction protocol, cumulative dose of gonadotropin, number of retrieved oocyte and mean number of transferred embryo between the C-FET group and B-FET group. Clinical pregnancy and live birth rates were higher but not significant in B-FET group (50% and 22.5%) than C-FET group (28% and 16.7%)

**Conclusion:** This study showed that, results of blastocyst transfer in frozen embryo transfer cycle were more favorable but there was no significant difference between the two groups in terms of clinical pregnancy and live birth rates. A further large-scale prospective study is needed.

**Keywords:** Cryopreserved embryo, blastocyst-cleavage transfer, pregnancy outcome

## Giriş

Dondurulmuş çözülmüş embriyo transferi (DÇET) yardımcı üreme teknikleri (YÜT) tedavilerinin ayrılmaz bir parçasıdır. Taze embriyo transferi YÜT’de rutinde hala tercih edilen yöntem olsa da DÇET, seçilmiş YÜT sikluslarında giderek artan sıklıkta kullanım alanı bulmaktadır. DÇET sonrası ilk başarılı gebelik 1983’de elde edilmiştir (1). İlerleyen yıllarda tek embriyo transferi stratejisinin yaygınlaşması, teknolojiye gelişmeler ve avantajlarının anlaşılmasıyla ilk yıllarda OHSS’yi azaltmak veya taze siklusta artan embriyoları saklamak için kullanılırken, artık genetik inceleme yapılması için zaman kazandırmak, uygunsuz endometrium varlığında transfer zamanını ertelemek ve düşük over rezervli hastalarda embriyo havuzlanması için de kullanılabilir hale gelmiştir (2-4).

DÇET sonrası implantasyon ve devam eden klinik gebelik oranlarının, taze siklus embriyo transferinden daha iyi olabileceğine ve düşük doğum ağırlıklı bebek oranının, preterm doğumların daha az olduğuna dair yayınlar da mevcuttur (2-4).

Yıllar içerisinde tek embriyo transferi stratejisinin yaygınlaşması, teknolojiye gelişmeler ve bahsedilen avantajlarının anlaşılmasıyla DÇET sürekli olarak artmıştır. Öyle ki 2012 yılı verisine göre ABD’deki YÜT kaynaklı canlı doğumların neredeyse üçte biri, tüm dünyada ise %20’si DÇET sonrası elde edilmiştir (5, 6).

YÜT’de en önemli basamaklardan biri de embriyonun laboratuvarından uterusu nakledilmesidir. Geleneksel olarak klivaj evresindeki embriyolar transfer edilir. Ancak son onyılda 5. veya 6. gün blastokist transfer etme eğilimi vardır. Bu zamanlamanın, doğal siklusta implantasyon dönemine en yakın zaman olması, normal fizyolojiyi taklit etmesi, endometrium ve embriyo arasındaki senkronizasyonu artırabiliyor olması nedeniyle tercih edilirliliği artmıştır.

Tüm dünyada giderek daha popüler hale gelmesi ile 2012-2013 yılında Avustralya’da YÜT sikluslarının %60’dan fazlasında, ABD ve İngiltere’de ise üçte birinden fazlasında blastokist transferi yapılır hale gelmiştir (7).

Ancak embriyoların blastokist aşamasına kadar embriyo kültüründe uzayan süre, transfer yapılamayan siklus sayısının artmasına ve bir sonraki sikluslarda kullanılmak için dondurulacak canlı embriyo sayısının azalmasına da yol açabilmektedir (8).

Optimal embriyo transfer zamanlaması ile ilgili çalışmaların çoğu taze siklulardan elde edilen verilere dayanmaktadır ve taze blastokist transferinde canlı doğum oranlarının klivaj evresindeki embriyo transferinden daha iyi olduğu yönündedir (7).

Ancak DÇET açısından değerlendirildiğinde, veriler hem daha kısıtlı hem de transfer için en iyi embriyolojik gelişim evresi basamağının hangisi olduğuna dair kesin bir ortak görüş henüz yoktur (9, 10).

Bu veriler ışığında çalışmamızın amacı, YÜT merkezimizde 2014-2017 yılları arasında yapılan DÇET sikluslarında ET zamanlamasının klinik ve gebelik sonuçları üzerine etkisinin incelenmesidir.

## Gereç ve Yöntemler

Çalışmada S.B.Ü. Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, YÜT ünitesinde 2014-2017 yılları arasında DÇET uygulanmış olan hastaların verileri retrospektif olarak incelendi. Hastalar embriyo transfer gününe göre 2 alt gruba ayrıldı. Grup 1, Klivaj evresi DÇET yapılanlar (K-DÇET) (3. veya 4. Gün ET) ve Grup 2, Blastokist evresi DÇET yapılan (B-DÇET) has-

talar. Çalışmaya retrospektif olarak DÇET uygulanmış 95 hastanın 102 siklusu dahil edildi. Hastaların mevcut verilerine göre yaşı, embriyo transfer zamanı, uygulanan protokol, toplam gonodotropin dozu, toplam oosit sayısı, infertilite nedeni, tranfer edilen embriyo sayısı, klinik gebelik ve canlı doğum oranları incelendi. Gebelik ET’den 15 gün sonar  $\beta$ -HCG’ nin pozitif olarak saptanması, klinik gebelik ise transvajinal USG de fetüs veya gebelik kesesinin izlenmesi olarak kabul edildi.

Transfer edilen bütün embriyolar vitrifikasyon yöntemi ile dondurulmuştu.

DÇET siklusunda endometriumun hazırlanması için bütün hastalarda aşağıdaki protokol kullanıldı:

Adetin 21. Günü GnRH agonisti başlandı (Lucrin 10 IU) ve adet görünceye kadar devam edildi. Adet görünce doz 5 IU ye düşürülerek Progesteron başlama gününün ertesi günü bırakıldı. Adetin 1. Günü Östradiol Hemihidrat 6 mg oral (Estrofen 2mg 3x1) başlandı ve  $\beta$ -HCG bakılan güne kadar devam edildi. Siklus 4. Gününde E2 düzeyi 180 pg/mL altında olanlarda Östradiol dozu 8 mg’a çıkarıldı. 18. Gün endometrium kalınlığı 8 mm ve üzerinde olanlara vajinal 400 mg progesteron başlandı (Progestan 200mg 2x2). Endometrium kalınlığı 8 mm altında olanlarda Östradiole devam edilerek ancak endometrium 8mm ve üzerinde olunca Progesteron başlandı. Östradiol ve Progesteron gebelik elde edilenlerde 10. Haftaya kadar devam edildi. Progesteron başlandıktan 3 veya 4gün sonra klivaj dönemi DÇET yapıldı, 5 gün sonra da Blastokist evresi DÇET yapıldı.

İstatistiksel analizler SPSS 15.0 programı kullanılarak yapılmıştır. Klinik Gebelik ve Canlı Doğum için Ki-kare testi kullanılmıştır. Diğer değişkenlerin dağılımı kolmogorov test e göre değerlendirildi ve mann-whitney u test uygulandı. P değerinin <0.05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## Sonuçlar

Bu çalışma dahilinde S.B.Ü. Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi YÜT kliniğinde 2014-2017 tarihleri arasında DÇET yapılan 103 hastanın siklus bilgileri retrospektif olarak incelendi. Bu hastalardan 8 tanesinin bilgilerine ulaşılamadığından çalışma dışı bırakıldı. Hastaların demografik verileri ve DÇET’de kullanılan embriyoların elde edildiği siklus özellikleri Tablo 1’de, DÇET yapılan siklusların özellikleri ve gebelik sonuçları ise Tablo 2’de özetlenmiştir.

**Tablo 1 :** Hastaların demografik verileri ve DÇET de kullanılan embriyoların elde edildiği siklus özellikleri

Hasta ve siklus özellikleri	Klivaj evresi DÇET	Blastokist evresi DÇET	p değeri
	(n: 52)	(n: 50)	
Yaş	32,5±5,0	30,9±4,3	0,080
Kullanılan toplam gonadotropin dozu	2142,1±1354	1815±790	0,163
Toplanan oosit sayısı	18,5±8,6	18,4±8,3	0,967
İnfertilite nedeni			0,958
Açıklanamayan	23	23	
Kadın faktörü	17	15	
Erkek faktörü	12	12	
Protokol			0,718
Uzun Agonist	5	7	
Antagonist	38	36	
Lüteal faz estrogen priming	3	1	
ve GnRH antagonist	6	6	
Kısa Agonist			

**Tablo 2** : DÇET yapılan siklus özellikleri ve gebelik sonuçları

	Klivaj Evresi DÇET	Blastokist evresi DÇET	p değeri
	(n: 52)	(n: 50)	
Transfer edilen embriyo sayısı	1,4±0,49	1.3±0,46	0,277
Klinik Gebelik	20 (%38)	25 (%50)	0,995
Canlı Doğum	6/36 (%16,7)	7/31 (%22,5)	0,421

Çalışmaya dahil edilen toplam 95 hastanın 102 DÇET siklusu incelendi. Elliiki-sinde K-DÇET,50 tanesinde ise B-DÇET uygulanmıştı.

Her iki grubun DÇET'de kullanılan embriyoların elde edildiği kontrollü ovarian hiperstimülasyon (KOH) siklusları ve özellikleri de incelendi.

K-DÇET ve B-DÇET yapılan hastaların yaş ortalaması sırasıyla, 32.5±5.0 ve 30.9 ±4.3, p=0.080) olarak bulundu. İnfertilite nedenlerine bakıldığında, K-DÇET ve B-DÇET grubunda da en sık etken açıklanamayan infertiliteydi (%44.2 ve %46,p=0.958)

DÇET yapılan embriyoların elde edildiği siklusa toplanan oosit sayısı K-DÇET ve B-DÇET de benzerdi (18.5±8,6 ve 18.4±8,3).

Transfer edilen embriyo sayıları açısından her iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark yoktu. K-DÇET grubunda ortalama 1.4, B-DÇET grubunda ise ortalama 1.3 DÇET yapılmıştı (p=0.277).

K-DÇET ve B-DÇET grubunda klinik gebelik ve canlı doğum oranları B-DÇET'de %50 ve %22.5 K-DÇET'de ise %38 ve %16.7 olarak bulundu.

## Tartışma

Başarılı bir embriyo implantasyonu için sağlıklı bir embriyo ve reseptiv bir endometriuma ihtiyaç vardır. KOH sikluslarındaki multifoliküler gelişim, implantasyon yeteneğine sahip embriyo elde etme şansını belirgin olarak arttırmaktadır ancak diğer taraftan multifoliküler gelişimle ilişkili olarak fizyolojik sınırlar üzerinde seyreden seks hormonu düzeylerinin endometrium üzerinde olumsuz etki yarattığı kabul edilmektedir (11, 12). Foliküler fazda artmış progesteron düzeylerinin endometrium üzerinde erken gelişmeye ve implantasyon penceresinde kaymaya yol açarak embriyo implantasyon oranlarının düşmesine yol açtığı varsayılmaktadır (12). Buna paralel olarak tüm dünyada YÜT sikluslarında DÇET kullanımı giderek artmaktadır (13). YÜT sikluslarında en önemli sorunlardan biri de dondurma işlemi için yaşam kapasitesi en yüksek olan embriyoyu seçmektir. Günümüzde bunu tam doğrulukla tespit edebilecek teknoloji henüz yoktur. Ancak günümüzde embriyo kültüründeki gelişmeler bize blastokist aşamasına kadar embriyo kültürüne olanak sağlamak ve böylece tutunma ve yaşama kapasitesi daha yüksek embriyoyu seçme olasılığımızı arttırmaktadır. DÇET sikluslarında blastokist kullanıldığında başarı şansının artacağını düşündüren neden, uzamış kültürde canlı kalmış embriyonun dondurma çözüme işleminden sonra da canlılığını devam ettirebiliyor olmasıdır (14, 15). Aslında hem taze hem de DÇET sikluslarında, blastokist evresinde embriyo transferinin klivaj evresindeki embriyo transferine göre gebelik şansını arttırdığı yönünde yayınlar olduğu gibi, sonucu değiştirmediğine dair yayınlar da mevcuttur (9, 10, 16, 17)(18, 19). Birbiri ile çelişen yayınlar olmasına rağmen, son on yılda YÜT sikluslarında blastokist transfer eğilimi giderek artmaktadır. 2016 yılına ait 27 randomize kontrollü çalışmanın dahil edildiği bir Cochrane analize göre B-DÇET'de klinik gebelik oranı (%43.2-%56) K-DÇET'den (%37.2)

anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. Ancak kümülatif gebelik oranlarının her ikisinde de benzer olduğu görülmüştür (7).

Literatürde DÇET'de transfer zamanının gebelik sonuçlarına etkisini inceleyen çalışmalara bakıldığında: Han ve ark'ın çalışmasında(9), K-DÇET ve B-DÇET'in klinik ve devam eden gebelik sonuçlarının benzer olarak bildirdiğini, Chen ve ark'ı(10) ise B-DÇET'in klinik gebelik ve canlı doğum başarısının K-DÇET'e göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla bulduklarını görmekteyiz. Bizim çalışmamızda da istatistiksel olarak anlamlı fark olmamakla birlikte B-DÇET yapılan hastaların klinik gebelik ve canlı doğum oranları (%50' ve %22.5 ) K-DÇET yapılan hasta grubundan (%38' ve %16.7 ) fazlaydı.

Retrospektif bir çalışma olması, sadece siklus başına gebelik oranlarını içeriyor olması ve sınırlı sayıda vaka ile tüm popülasyonu yansıtmıyor olmakla birlikte çalışmamızda diğer çalışmalardan farklı olarak DÇET'e gidilen hastalarda infertilite nedeni, kullanılan gonadotropin dozu ve toplanan oosit sayıları açısından da inceledik. Bu da bize DÇET yapılan hasta ve transfer zamanına bağlı gebelik başarısından bahsederken hasta profilini daha iyi anlamamızı sağlamaktadır. Sonuçlara bakıldığında, DÇET yapılan hastaların embriyo transfer zamanından bağımsız olarak, büyük bir kısmının açıklanamayan infertiliteye sahip ve ortalama 18 oositin toplandığı normal veya yüksek over cevaplı bireylerden oluştuğunu göstermektedir.

Daha genç ve daha iyi over cevaplı hastaların dondurma işlemine gidebilecek daha fazla sayıda, daha iyi embriyoya sahip olma olasılığı doğal olarak daha fazladır. Bu nedenle bu hastaların DÇET sikluslarına daha fazla oranda dahil edilmiş olabilecekleri dile getirilmiştir (13). Bizim çalışmamızda da istatistiksel anlamlı fark olmamakla birlikte B-DÇET yapılan hastaların diğer gruptaki hastalardan daha genç (30.9'a karşılık 32.5) olduğu görülmektedir. Benzer şekilde, oosit elde edilmesi aşamasında daha az ortalama gonadotropin dozu (1815 IU'e karşılık 2142 IU) B-DÇET yapılan grupta kullanılmıştır. Bu da bu hastaların daha iyi over cevabına sahip olduklarının göstergesi olabilir.

Son yapılan çalışma ve derleme sonuçlarına göre de, elektif DÇET'in gebelik başarısındaki artışının, normal ve aşırı over cevaplı hastalar ile sınırlı olduğunu ve daha iyi obstetrik ve perinatal sonuçlara sahip olup olmadığının henüz net olmadığı sonucuna varılmıştır (20)(21).

## Sonuç

DÇET siklusuna alınan hastaların çoğunluğunu açıklanamayan infertilite nedenli iyi ve yüksek over cevabına sahip hastalar oluşturmaktadır. Blastokist ve klivaj evresindeki embriyo transferleri karşılaştırıldığında B-DÇET'in klinik gebelik ve canlı doğum oranları istatistiksel olarak anlamlı fark teşkil etmemekle birlikte K-DÇET'den daha yüksektir.

## Kaynaklar

1. Trounson, A. and L. Mohr, Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. Nature, 1983. 305(5936): p. 707-709.
2. Maheshwari A, Pandey S, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S., Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from the transfer of frozen thawed versus fresh embryos generated through in vitro fertilization treatment: a systematic review and meta-analysis. Fertility and sterility, 2012. 98(2): p. 368-377. e9.
3. Bhattacharya, S., Maternal and perinatal outcomes after fresh versus frozen embryo transfer—what is the risk-benefit ratio? Fertil Steril, 2016.

- 106(2): p. 241-243.
4. Wennerholm UB, Henningsen AK, Romundstad LB, Bergh C, Pinborg A, Skjaerven R, et al., Perinatal outcomes of children born after frozen-thawed embryo transfer: a Nordic cohort study from the CoNARTaS group. *Hum Reprod.*, 2013. 28(9): p. 2545-2553.
  5. 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. 7(6): p. 623-633.
  6. Prevention., C.f.D.C.a., 2012 Assisted Reproductive Technology Success Rates: National Summary and Fertility Clinic Reports. Atlanta.: US Department of Health and Human Services; 2014., 2014.
  7. Glujovsky, D. and C. Farquhar, Cleavage-stage or blastocyst transfer: what are the benefits and harms? *Fertil Steril*, 2016. 106(2): p. 244-250.
  8. Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine, the Society for Assisted Reproductive Technology. Blastocyst culture and transfer in clinical-assisted reproduction: a committee opinion. . *Fertil Steril* 2013. 99: p. 667-72.
  9. Han AR, Park CW, Lee HS, Yang KM, Song IO, Koong MK. Blastocyst transfer in frozen-thawed cycles. *Clin Exp Reprod Med.*, 2012. 39(3): p. 114-117.
  10. Chen H, Lv JQ, Wu XM, Xiao Y, Xi HT, Zhu CF, Huang JY, et al., Blastocyst-stage versus cleavage-stage embryo transfer in the first frozen cycles of OHSS-risk patients who deferred from fresh embryo transfer. *Gynecol Endocrinol.*, 2015. 31(9): p. 698-701.
  11. Sunkara SK, Rittenberg V, Raine-Fenning N, Bhattacharya S, Zamora J, Coomarasamy A, Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Hum Reprod* , 2011: p. der106.
  12. Venetis CA, Kolibianakis EM, Bosdou JK, Tarlatzis BC, Progesterone elevation and probability of pregnancy after IVF: a systematic review and meta-analysis of over 60 000 cycles. *Hum Reprod Update.*, 2013: 19(5):433-57
  13. Kushnir VA, Barad DH, Albertini DF, Darmon SK, Gleicher N, Systematic review of worldwide trends in assisted reproductive technology 2004–2013. *Reprod Biol Endocrinol.*, 2017. 15(1): p. 6.
  14. Noyes N, Reh A, McCaffrey C, Tan O, Krey L., Impact of developmental stage at cryopreservation and transfer on clinical outcome of frozen embryo cycles. *Reprod Biomed Online.*, 2009. 19: p. 9-15.
  15. Jones GM, Trounson AO, Lolatgis N, Wood C, Factors affecting the success of human blastocyst development and pregnancy following in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril*, 1998. 70(6): p. 1022-1029.
  16. Papanikolaou EG, Camus M, Kolibianakis EM, Van Landuyt L, Van Steirteghem A, Devroey P, In vitro fertilization with single blastocyst-stage versus single cleavage-stage embryos. *N Engl J Med.*, 2006. 354(11): p. 1139-1146.
  17. Anderson, A.R., M.L. Weikert, and J.L. Crain, Determining the most optimal stage for embryo cryopreservation. *Reproductive biomedicine online*, 2004. 8(2): p. 207-211.
  18. Shebl O, Ebner T, Sommergruber M, Sir A, Tews G, Cryopreserved blastocysts have a lower implantation but an equal live birth rate as compared to fresh blastocysts of the same quality—a case–control study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2009. 88(8): p. 944-947.
  19. Kattera, S., P. Shrivastav, I. Craft, Comparison of pregnancy outcome of pronuclear-and multicellular-stage frozen–thawed embryo transfers. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 1999. 16(7): p. 358-362.
  20. Ata, B, E. Seli, A universal freeze all strategy: why it is not warranted. *Curr Opin Obstet Gynecol.*, 2017.
  21. Roque M, Valle M, Guimarães F, Sampaio M, Geber S. Freeze-all cycle for all normal responders? *J Assist Reprod Genet.*, 2016: p. 1-7.