

EMBRYO VE FUNDAL ENDOMETRİAL YÜZEY ARASINDAKİ MESAFENİN İNTRA SİTOPLAZMİK SPERM İNJEKSİYONU SIKLUSLARINDA SONUÇLARA ETKİSİ

The Effect of the Distance Between Embryo and Fundal Endometrial Surface on the Success of Intracytoplasmic Sperm Injection Cycles

Esra Nur TOLA, Mehmet GÜNEY

ÖZET

Amaç: Çalışmadaki amacımız, intrastoplazmik sperm injeksiyonu (İCSİ) sikluslarında embryo transferi sırasında ölçülen embryo ile fundal endometrial yüzey arası mesafenin (EFM) implantasyon, klinik gebelik, eve bebek götürme ve abort oranlarına etkisini araştırmaktır.

Gerçek ve Yöntem: Taze non-donor İCSİ siklusuna alınan ve embryo transferi (ET) gerçekleştirilen 176 hasta retrospektif olarak çalışmaya alındı. 3 damla tekniği ile Wallace katetere yüklenen embryo/embriyolar transabdominal ultrason eşliğinde transfer edildi ve transfer sırasında EFM ölçüldü. Hastalar EFM'e göre ≤ 15 mm, 15-20 mm, ≥ 20 mm olarak 3 gruba kategorize edildi. ET'den 14 gün sonra bakılan gebelik testinin pozitif olması 'implantasyon', transvaginal ultrasonda gestasyonel kese görülmesi 'klinik gebelik' ve viabl canlı bebek doğumu 'eve bebek götürme' olarak kabul edildi. < 20 . gebelik haftasından önce olan gebelik kayıpları 'abort' olarak değerlendirildi.

Bulgular: En yüksek implantasyon ve klinik gebelik, $EFM \geq 20$ mm olan grupta izlenmesine rağmen eve bebek götürme oranı $EFM \leq 15$ mm olan grupta diğerlerine göre daha yüksekti. Abort, en yüksek $EFM \geq 20$ mm olan grupta izlendi. İmplantasyon, klinik gebelik, eve bebek götürme ve abort açısından gruplar arasında anlamlı fark izlenmedi. Grupların hiç birinde ektopik gebeliğe rastlanmadı. Klinik olarak gebe kalan grupta toplanan oosit sayısı, metafaz II sayısı ve embryo sayısı gebe kalmayan gruba göre anlamlı olarak yüksekti. Klinik gebelik oluşumu, EFM tarafından etkilenmiyordu. Gebelik başarısını etkilediği bilinen değişkenler kofaktör olarak alındığında da EFM implantasyon, klinik gebelik ve eve bebek götürme oranını etkilememekteydi.

Sonuç: EFM, İCSİ sikluslarında klinik sonuçları anlamlı olarak etkilemiyor gibi görünse de $EFM \leq 15$ mm olması viabl bebek doğum şansını artırıp İCSİ başarısını artırır. Optimum EFM aralığını bulmak için büyük hasta katılımlı randomize kontrollü klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: Embryo fundus mesafesi; İntra sitoplazmik sperm injeksiyonu; İmplantasyon; Gebelik; abort.

ABSTRACT

Purpose: To investigate the effect of the distance between embryo and fundal endometrial surface (EFD) on implantation, clinical pregnancy (CP), take home baby and abortion rates among intracytoplasmic sperm injection (ICSI) cycles.

Material and Methods: This was a retrospective clinical trial including 176 primer infertile women undergoing embryo transfer (ET) following fresh non-donor ICSI cycle. Embryo/embryos were transferred by Wallace catheter via three-drop technique under transabdominal ultrasound and EFD was measured. The participants were divided into three groups on the basis of EFD: ≤ 15 mm, 15-20 mm, and ≥ 20 mm. 'Implantation' was defined as positive pregnancy test following ET, 'CP' was described as the presence of a gestational sac in transvaginal ultrasonographic examination and 'take home baby' was described as having a living infant. Pregnancy loss before 20 gestational week was accepted as 'abortion'.

Results: Implantation and CP were higher in $EFM \geq 20$ mm group, however, take home baby rates were higher in $EFM \leq 15$ mm group compared the others. Abortion was more prevalent in $EFM \geq 20$ mm group. Implantation, CP, take home baby and abortion rates were comparable among three groups. There were no ectopic pregnancies in any groups. Pregnant and non-pregnant groups were significantly different from each other with regard to total oocyte count, metaphase II count, embryo count. In women who conceived, aforementioned parameters were significantly higher compared to women who didn't conceive. Implantation, CP and take home baby rates were not affected by EFD even variables which were known to affect ICSI success were taken as cofactors with EFD.

Discussion: EFD does not affect clinical success of ICSI cycles, however, take home baby rates appeared to be higher in cases with $EFM \leq 15$ mm. Further well-designed randomized clinical controlled trials with large sample-sized are needed to optimize EFD.

Keywords: Embryo fundus distance; İntra cytoplasmic sperm injection; İmplantation, pregnancy, abortion.

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Ana Bilim Dalı, İn vitro Fertilizasyon Ünitesi

Esra Nur TOLA,
Mehmet GÜNEY,

İletişim:

Esra Nur TOLA
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İn vitro Fertilizasyon Ünitesi, Isparta
Tel: 0532 792 10 84
e-mail: perinatalog@hotmail.com

Geliş tarihi/Received:30.10.2017
Kabul tarihi/Accepted:10.01.2018
DOI: 10.16919/bozoktip.347759

Bozok Tıp Derg 2018;8(2):1-10
Bozok Med J 2018;8(2):1-10

Giriş

İn vitro fertilizasyon (İVF) yöntemlerinin klinik başarısını etkileyen pek çok parametre tanımlanmıştır. Embryo transferi (ET) işlemi, İVF tedavisinin son basamağını oluşturur ve tedavi başarısında çok önemli bir yere sahiptir. Çünkü ET işlemi ile daha önce İVF hazırlığında yapılan tüm basamaklardaki harcanan zaman, emek ve para mahvedilebilir.

ET tekniği ile ilgili parametrelerin -ultrason (USG) rehberliği, kateter tipi, kateter yükleme tekniği, yüklenen medium miktarı, kateter yerleştirme işlemi, transfer sırasında kateter etrafında kan/mukus olması, kateter lokalizasyonu, injeksiyon hızı, embryo lokalizasyonu, kateterin çekilmesi, hekimin tecrübesi-İVF başarısını etkilediği düşünülmektedir (1-4). Net bir fikir birliği olmasa da deneme kateteri yapılması, yumuşak kateter kullanılması, transferden önce servikal mukusun alınması, dolu mesane, atravmatik transfer ve transferin ultrason eşliğinde yapılması başarılı ET'nin prediktörleri olarak kabul edilir (5, 6). Fundal endometrial yüzeye dokunmamak da başarılı ET'de ana basamaklardandır (4).

ET tekniğini etkileyen önemli değişkenlerden biri embryoların verildiği uterin kavite bölümüdür ve maalesef en iyi implantasyonu verecek optimal bölge net değildir. Bazı çalışmalar embrioyu uterin kavitenin üst kısmına vermenin İVF sonuçlarını iyileştirdiğini gösterirken, diğerleri kavitenin alt yarısına transferin İVF'de gebelik oranlarını arttırdığını göstermektedir (1, 2, 6-10).

USG eşliğinde ET yapılmaya başlanmasıyla embryonun optimal lokalizasyonunu belirlemek için çeşitli ultrasonografik parametreler kullanılmaya başlanmıştır. Bunlardan biri kateter ve fundal endometrial yüzey arasındaki mesafedir (KFM) ve optimal KFM'nin 1,5-2 cm olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (11, 12). KFM arttıkça gebelik oranında anlamlı artma izlenmiş ve ET iç kateteri fundustan >5mm yerleştirildiğinde gebelik oranının daha yüksek olduğu ve kateterin fundustan her ilave mm yerleşimi için klinik gebelik oranını %11 arttırdığı bulunmuştur (8). Cenksoy ve ark. ise gebe kalan ve kalmayan grup arasında KFM açısından fark bulamamalarını tüm transferleri daha

önce önerilen KFM aralığında (1.5-2 cm) yapmaları olarak öne sürmüşlerdir (12).

USG ile embryo pozisyonunu belirlemede kullanılan diğer belirteç embryoların 3 damla tekniği ile katetere yüklendiği durumlarda hava kabarcıklarının USG'de görünmesi esasına dayanır (13). ET yükleme işlemi boyunca katetere yüklenen hava kabarcıkları transfer edilen embryonun uterin kavitedeki pozisyonunun belirleyicisi olarak kabul edilir. Embryo USG ile görülemediği için çoğu çalışma embryo belirteci olarak bu hava kabarcıklarının lokalizasyonunu kullanmıştır. Hava kabarcığı pozisyonu ile embryo lokalizasyonu arasındaki ilişkiden yola çıkarak çalışmalarda embryo ve fundal endometrial yüzey arasındaki mesafe (EFM) ölçülmüştür. EFM'nin İVF başarısı üzerine etkisini araştıran çalışma sayısı hem kısıtlı hem de sonuçlar çelişkilidir (2, 7, 9, 14). Günümüze kadar optimal EFM tanımlanmamıştır ve gebelik oranının azaldığı net EFM aralığı tespit edilmemiştir.

Çalışmamızın amacı intrastoplazmik sperm injeksiyonu (İCSİ) sikluslarında ET işlemi sırasında transabdominal USG (TA-USG) ile ölçülen EFM'nin implantasyon, klinik gebelik, eve bebek götürme ve abort oranlarına etkisini araştırmaktır.

MATERYAL METOD

Katılımcılar

2014-2017 yılları arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi İVF ünitesine başvurup taze non-donor İCSİ siklusuna alınan ve TA-USG eşliğinde ET gerçekleştirilen 176 primer infertil hasta çalışmaya alındı. Çalışma fakültenin Lokal Etik Kurulunda 26/10/2017 tarihli ve 194 protokol numaralı kararı ile onaylandı.

Erkek faktör, açıklanamayan infertilite ve tubal faktör nedeni ile İVF tedavisine alınan 19-43 yaş arası infertil hastalar çalışmaya dahil edildi. Endometrial polip, kaviteye basan myom, endometrial sineşi gibi anormal uterin kaviteye neden olan durumu olan hastalar, otoimmün hastalık varlığı, transfer sırasında endometrial kalınlığı<6 mm olan vakalar, zor kateterizasyon (kateterin değiştirildiği, kateterde kan görülen ve sert kateter kullanılan hastalar),

endometriozis, şiddetli erkek faktör, dondurulmuş ET siklusları ve transfer sırasında fundusa dokunulan hastalar çalışma dışına bırakıldı. Tüm hastalara tedavi öncesi deneme kateteri uygulandı ve tüm ET'ler aynı operatör (MG) tarafından yapıldı.

Hastaların dosyalarından yaş, sigara ve alkol durumları, infertilite süreleri, kaçınıcı İVF denemesinde oldukları, infertiliteye neden olan etyolojik faktörleri ve vücut kitle indeksleri (VKİ) kaydedildi.

Kontrollü overyan stimülasyon

Siklusun 2. günü folikül stimulan hormon (FSH), luteinizan hormon (LH), estradiol (E2) ve random bir günde tiroid stimulan hormon (TSH) ve prolaktin düzeyleri bakıldı. Yaş, VKİ, antral folikül sayısına göre dozu ayarlanan rekombinan FSH (r-FSH) (Gonal F; Serono, Geneva, Switzerland) ve/veya üriner FSH (u-FSH) hastalara siklusun 2. günü başlandı. Foliküller 13-14 mm boyuta ulaştığında gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) antagonisti (Cetrotide; Serono, Geneva, Switzerland) pituitar bezi suprese etmek için başlandı. Gonadotropin dozları seri USG ve E2 ölçümlerine göre düzenlendi. En az 2 folikül >17 mm çapa ulaştığında 250 µg rekombinan human koryonik gonadotropin (hCG) (Ovitrelle, 250 mg; Serono) ovulasyonu tetiklemek için uygulandı. Transvaginal USG rehberliğinde hCG uygulamasından 36 saat sonra oosit pick-up (OPU) işlemi yapıldı. Metafaz II (MII) oranı MII sayısının toplam oosit sayısına bölünmesiyle elde edildi. MII oositlere İCSİ işlemi yapıldı ve bir gün sonra iki pronukleus görülmesi fertilizasyon olarak kabul edildi. Fertilizasyon oranı (Embryo sayısı/MII)X100 formülüyle hesaplandı. 3. gün en az 8 hücreli aşamaya gelen ve morfolojik kriterlere göre en iyi kalitede olan embryo/embryolar transfer için seçildi. Kadın yaşı, embryo kalitesi, daha önceki İVF denemelerinin sayısı ve hastanın tercihi de göz önüne alınarak 1 veya 2 embryo transferi yapıldı (15). Günlük vaginal progesteron (Crinone 8%, 90 mg; Merck Serono, Central Pharma Ltd., Bedfordshire, UK) ile luteal destek sağlandı.

ET'den 14 gün sonra bakılan hCG testinin pozitif olması 'implantasyon' pozitifliği olarak kabul edildi. ET'den 5 hafta sonra transvaginal USG'de gestasyonel kese görülmesi 'klinik gebelik' ve viabl canlı bebek doğumu 'eve bebek götürme' olarak kabul edildi. <20. gebelik

haftasından önce olan gebelik kayıpları 'abort' olarak değerlendirildi.

Embriyo kalitesi değerlendirilmesi

Embryolar 3. gün, en az 8 hücreli aşamaya geldiklerinde, invert mikroskop altında incelenerek kaliteleri değerlendirildi ve morfolojik kriterlerine göre grade 1 (iyi kalite), grade 2 (orta kalite), grade 3 (kötü kalite) olarak derecelendirildi. Blastomerlerin birbirine eşit olduğu ve fragman sayısının <5 olduğu embryolar grade 1, blastomerler arasında hafif-orta derecede boyut farklılığının olduğu ve fragman oranının %5-50 arası olduğu embryolar grade 2 ve blastomerlerin birbirinden belirgin derecede farklı olduğu ve fragman oranının >%50 olduğu embryolar grade 3 olarak sınıflandırıldı.

Embriyo transfer işlemi ve EFM ölçülmesi

ET işlemi dorsolitotomi pozisyonunda, dolu mesane varlığında ve anestezi olmadan yapıldı. ET'den önce endometrial kalınlık ölçüldü. Embryolar Wallace katetere (Smiths Medical International Ltd., Hythe, Kent, UK) 3 damla tekniği ile (10 µL hava-5 µL medium-mümkün olan en küçük hacimde medium içeren embryo-10 µL hava kabarcığı- 5 µL medium) yüklendi. Serviksi görüntülemek için spekulum takılarak öncelikle steril salinle vajen temizliği yapıldı. Servikal kanaldaki mukus pamuklu çubuk/şırınga ve kültür mediumu yardımıyla uzaklaştırıldı. Embryolar Wallace kateteriyle after-load tekniği kullanılarak TA-USG eşliğinde uterin kaviteye verildi. Boş kateter internal servikal ostan ileri ilerletildi ve iç kateter çıkarıldı ve embryo ile yüklenmiş 2. iç kateter içeri ilerletildi. İnsulin şırıngası kullanılarak embryo kaviteye doğru yavaşça itildi. Embryoların orjinal verilme bölgesinden yerinden oynama riskini minimize etmek için embriyoları verdikten sonra iç kateter yavaşça çekildi. Transfer sonunda embriyolog kateterde embryo kalıp kalmadığını kontrol etti. TA-USG hava kabarcığının yerini belirlemek için kullanıldı ve tıbbi kayıtlar için fotoğraflandı. Hava kabarcığının verdiği hiperekojenik leke ile fundal endometrial yüzey arası mesafe (EFM) ölçüldü. Bazı vakalarda hava kabarcığı muhtemel uterin kontraksiyona bağlı 30-60 sn içinde injeksiyon alanından yavaşça yer değiştirdi final pozisyonuna gelince ölçüm yapıldı. ET'den sonra yaklaşık 30 dakika hasta supin pozisyonda tutuldu.

Hastalar EFM'e göre <15 mm, 15-20 mm, >20 mm olarak 3 gruba kategorize edildi.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz 'Statistical Package for the Social Sciences, version 21 (SPSS, Chicago, IL)' ile yapıldı. $p < 0.05$ olması anlamlı kabul edildi. Veriler ortalama \pm SD ve yüzde olarak ifade edildi. Kolmogorov-Smirnov testi ile verilerin dağılımına bakıldı. One-way ANOVA testi devamlı değişkenlerin karşılaştırılması için kullanıldı. Çoklu karşılaştırmaların ikişerli karşılaştırmalarında ise Bonferroni testi kullanıldı. Kategorik değerlerin karşılaştırılmasında Ki-kare veya Fisher's exact test kullanılarak sonuçlar sıklık olarak verildi. İCSİ'nin klinik sonuçları üzerine EFM'nin etkisini araştırmada multivariat lojistik regresyon analizi kullanıldı. Sonuçlar gebelik sonucunu etkileyebilecek faktörlere göre (yaş, VKİ, transfer edilen embryo sayısı, transfer günü, embryo kalitesi, endometrial kalınlık, oosit sayısı, MII sayısı, emryo sayısı) yeniden değerlendirildi.

SONUÇLAR

İCSİ sonrası TA-USG rehberliğinde taze ET yapılan 174 primer infertil hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların ortalama yaşı 30.64 ± 5.20 (19-43) yıl, ortalama VKİ ise 25.23 ± 4.4 kg/m² idi.

EFM mesafesine göre gruplar kategorize edildiğinde (≤ 15 mm, 15-20 mm, and ≥ 20 mm) gruplar arasında yaş, VKİ, partner yaşı, partner VKİ, infertilite süresi, önceki İVF ve aşılama deneme sayıları, infertiliteye neden olan etyolojik faktör, sigara-alkol kullanım oranları, bazal hormon değerleri, total sperm sayısı ve motilite oranları açısından fark yoktu (Tablo 1).

Tüm hastalara GnRH antagonisti ile pituiter supresyon uygulandı. Hastaların %81.8'de r-FSH ve u-FSH kombinasyonu ile overyan stimülasyon yapıldı. Kullanılan gonadotropin tipi ve başlama dozu açısından 3 grup arasında fark izlenmedi. Toplanan oosit sayısı, MII sayısı ve oranı, fertilizasyon oranı, oluşan embryo sayısı, embryo kaliteleri ve transfer günleri açısından gruplar homojen dağılmıştı. 143 hastada (%81.2) tek embryo transferi (SET) yapılırken, 33 hastada (%18.8) iki embryo transferi (DET) yapıldı. Endometrial kalınlık, $EFM \leq 15$ mm olan grupta (11.81 ± 1.57 mm), $EFM \geq 20$ mm olan gruba (13.50 ± 1.80 mm, $p < 0.001$) ve $EFM = 15-$

20 mm olan gruba göre (12.63 ± 2.11 , $p = 0.037$) anlamlı olarak daha düşüktü. En yüksek implantasyon ve klinik gebelik diğerleri ile kıyaslandığında $EFM \geq 20$ mm olan grupta izlenmesine rağmen (%24.1 ve %20.7, sırayla) eve bebek götürme oranı $EFM \leq 15$ mm olan grupta diğerlerine göre daha yüksekti. Abort oranı en yüksek $EFM \geq 20$ mm olan grupta izlenirken (%10.3), $EFM \leq 15$ mm olan grupta hiç aborta rastlanmadı. İmplantasyon, klinik gebelik, eve bebek götürme ve abort oranları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ($p > 0.05$). Grupların hiç birinde ektopik gebeliğe rastlanmadı (Tablo 2).

Tüm transferlerin 30'u (%17) klinik gebelikte sonuçlandı. Klinik olarak gebe kalan grubun yaş ortalaması, partner yaşı, VKİ, infertilite süreleri, siklus sayıları ile gebe kalmayan grubun aynı parametreleri benzer özelliklere sahipti. Gebe kalan grupta toplanan oosit sayısı, MII sayısı, embryo sayısı gebe kalmayan gruba göre anlamlı olarak daha yüksek iken ($p = 0.01$, $p = 0.01$ ve $p = 0.006$, sırayla) MII oranı ve fertilizasyon oranı iki grup arasında homojen dağılmıştı. Gruplar arasında transfer edilen embryo sayıları ve transfer günleri de benzerdi. Gebe kalan grupta endometrial kalınlık 12.44 ± 1.86 mm, EFM 16.91 ± 3.88 mm iken gebe kalmayan grupta endometrial kalınlık 12.53 ± 2.01 mm, EFM ise 16.96 ± 3.09 mm idi. Klinik gebelik oranı bu mesafeler tarafından etkilenmiyordu ($p > 0.05$).

Multivariat lojistik regresyon analizinde İVF sonucunu etkileyebilecek kadın yaşı, VKİ, infertilite etyolojisi, MII sayısı, oluşan embryo sayısı, transfer edilen embryo sayısı, transfer günü, embryo kalitesi ve endometrial kalınlık EFM ile beraber kofaktör alındığında bu değişkenlerden hiç biri implantasyonu predikte etmede anlamlı değilken, embryo sayısı hem klinik gebelik [$p = 0.010$, $\beta = 0.164$, OR(%95 CI)=1.178 (1.04-1.30)] hem de eve bebek götürme oranını [$p = 0.013$, $\beta = 0.163$, OR(%95 CI)=1.177 (1.03-1.30)] pozitif yönde etkilemekteydi.

Tablo 1. Grupların temel karakteristik özellikleri

	EFM≤15 mm (n=56)	EFM=15-20 mm (n=91)	EFM≥20 mm (n=29)	Total (n=176)	p
Yaş (yıl)	30.69±5.06	30.70±5.47	30.37±4.70	30.64±5.20	0.95
Partner yaş (yıl)	33.87±5.40	33.94±5.77	35.04±5.37	34.09±5.57	0.63
VKİ (kg/m ²)	24.75±4.13	25.30±4.37	25.95±5.02	25.23±4.40	0.48
Partner VKİ (kg/m ²)	26.63±3.31	26.76±3.74	27.06±2.73	26.77±3.44	0.86
İnfertilite süresi (yıl)	5.81±4.08	6.31±4.56	7.89±4.73	6.41±4.47	0.12
Önceki İVF sayısı (n)	1.62±1	1.34±0.67	1.68±1.07	1.48±0.86	0.06
Önceki İUİ sayısı (n)	1.19±1.03	1.35±1.11	1.51±1.15	1.32±1.09	0.42
İnfertilite etyolojisi					
Kadın faktörü (n,%)	28/56 (%50)	35/91 (%38.5)	11/29 (%37.9)	74/176 (%42)	0.56
Erkek faktörü (n,%)	11/56 (%19.6)	25/91 (%27.5)	10/29 (%34.5)	46/176 (%26.1)	
Açıklanamayan (n,%)	17/56 (%30.4)	31/91 (%34.1)	8/29 (%27.6)	56/176 (%38)	
Sigara kullanımı (n,%)	3/56 (%95.4)	12/91 (%13.2)	3/29 (%10.3)	18/176 (%10.2)	0.31
Alkol kullanımı (n,%)	1/56 (%1.8)	0/91 (%0)	0/29 (%0)	1/176 (%99.4)	0.34
Partner sigara kullanımı (n,%)	14/56 (%25)	34/91 (%37.4)	9/29 (%31)	57/176 (%32.4)	0.29
Partner alkol kullanımı (n,%)	4/56 (%7.1)	1/91 (%1.1)	0/29 (%0)	5/176 (%2.8)	0.61
Bazal hormonlar					
FSH (mIU/ml)	8.47±4.45	7.84±2.93	7.09±1.87	7.92±3.38	0.19
LH (mIU/ml)	5.37±3.18	5.90±3.65	5.45±4.41	5.66±3.59	0.65
E2 (pg/ml)	58.91±89.46	59.29±7.64	52.55±33.67	58.06±75.65	0.91
PG (ng/ml)	0.80±0.83	0.76±0.55	0.82±0.35	0.78±0.63	0.89
TSH (μU/ml)	2.17±1.14	1.99±0.98	2.46±1.24	2.10±1.09	0.06
Prolaktin (ng/ml)	16.10±9.52	15.31±11.15	13.95±7.84	15.34±10.14	0.65
Spermiogram					
Total sayı	62.49±57.93	60.801±6178	92.98±96.098	66.64±68.07	0.73
Motilite (A+B) (%)	43.01±22.94	44.35±24.05	51.44±23.24	45.09±23.62	0.27

VKİ: Vücut kitle indeksi; **İVF:** İn vitro fertilizasyon; **İUİ:** İntra uterin inseminasyon; **FSH:** Folikül stimulan hormon; **LH:** Luteinizan hormon; **E2:** Estradiol; **PG:** Progesteron; **TSH:** Troid stimulan hormon; **A:** Progresif hızlı hareketli sperm; **B:** Progresif yavaş hareketli sperm.

Tablo 2. Grupların overyan stimülasyon özellikleri, oosit toplama parametreleri ve İVF sonuçları

	EFM≤15 mm (n=56)	EFM=15-20 mm (n=91)	EFM≥20 mm (n=29)	Total (n=174)	p
Gonadotropin tipi					
r-FSH	10/56 (%17.9)	19/91 (%20.9)	3/29 (510.3)	32/176(%18.2)	0.43
r-FSH+u-FSH	46/56 (%82.1)	72/91 (%79.1)	26/29 (%89.7)	144/176 (%81.8)	
r-FSH başlama dozu (IU)	253.12±59.93	236.67±66.68	222.41±67.92	239.55±65.31	0.1
u-FSH başlama dozu (IU)	125± 35.72	132.37±45.06	150±30	133.05±40.64	0.06
Total oosit sayısı (n)	10.19±6.70	10.01±6.15	12.31±558	10.44±6.26	0.21
MII sayısı (n)	7.21±4.77	6.95±4.04	8.27±3.75	7.25±4.25	0.34
MII oranı (%)	74.28±19.41	73.36±17.28	70.26±19.49	73.14±18.29	0.62
Fertilizasyon oranı (%)	63.66±25.99	60.70±27.47	50.19±20.66	59.91±26.25	0.07
Embryo sayısı (n)	4.30±3.24	3.81±2.79	3.79±2.05	3.96±2.83	0.56
Embryo grade					
Grade 1	51/56 (%91.1)	79/91 (%86.8)	26/29 (%89.7)	156/176(%88.6)	0.71
Grade 2	5756 (%8.9)	12/91 (%13.2)	3/29 (%10.3)	20/176 (%11.4)	
Grade 3	0/56 (%0)	0/91 (%0)	0/29 (%0)	0/176 (%0)	
Transfer günü					
D3	32/56 (%57.1)	54/91 (%59.3)	12/29 (%41.4)	98/176 (%55.7)	0.58
D4	13/56 (%23.2)	17/91 (%18.7)	12/29 (%41.4)	42/176 (%23.9)	
D5	9/56 (%16.1)	14/91 (%15.4)	5/29 (%17.2)	28/176 (%15.9)	
D6	2/56 (%3.6)	6/91 (%6.6)	0/29 (%0)	8/176 (%4.5)	
Transfer edilen embryo sayısı					
DET (n, %)	87/56 (%14.3)	19/91 (%20.9)	6/29 (%20.7)	33/176 (%%18.8)	0.29
SET (n, %)	48/56 (85.7)	72/91 (%79.1)	23/29 (%79.3)	143/176 (%81.2)	
Endometrial kalınlık (mm)	11.81±1.57	12.63±2.11	13.50±1.80	12.51±1.98	0.001**
İmplantasyon (n, %)	11/56 (%19.6)	16/91 (%17.6)	7/29 (%24.1)	34/176 (%19.3)	0.73
Klinik gebelik (n, %)	11/56 (%19.6)	13/91 (%14.3)	6/29 (%20.7)	30/176 (%17)	0.59
Eve bebek götürme (n, %)	11/56 (%19.6)	10/91 (%11)	4/25 (%13.8)	25/176 (%14.2)	0.34
Abort (n, %)	0/56 (%0)	6/91 (%6.6)	3/29 (%10.3)	9/176 (%5.1)	0.79

r-FSH: Rekombinan folikül stimulan hormon; u-FSH: Üriner folikül stimulan hormon; MII: Metafaz II; DET: İki embryo transferi; SET: Tek embryo transferi; D2: 2. gün embryo transferi; D3: 3. gün embryo transferi; D4: 4. gün embryo transferi; D5: 5. gün embryo transferi; D6: 6. gün embryo transferi.

**EFM≤15 mm olan grupla EFM=15-20 mm olan grup arası p=0.037, EFM≤15 mm olan grupla EFM≥20 mm arası grup arası p<0.001; EFM=15-20 mm olan grupla EFM≥20 mm olan grup arası p>0.05 (Bonferroni testi).

Tablo 3. Gebe kalan ve kalmayan grubun hasta özellikleri

	Gebe kalan grup (n=30)	Gebe kalmayan grup (n=146)	p
Yaş	29.90±3.77	30.80±5.44	0.38
Partner yaşı	33.33±4.41	34.25±5.79	0.41
VKİ (kg/m ²)	25.33±3.66	25.22±4.55	0.90
İnfertilite süresi	6.10±4.29	6.47±4.52	0.67
Siklus sayısı	1.40±0.67	1.50±0.90	0.54
Oosit sayısı	12.96±6.78	9.93±6.05	0.01
MII sayısı	9±5.08	6.89±3.98	0.01
MII oranı	71.74±18.46	73.43±18.31	0.64
Fertilizasyon oranı	64.41±24.57	58.99±26.57	0.3
Oluşan embryo sayısı	5.26±3.28	3.69±2.67	0.006
Transfer edilen embryo sayısı			
DET (n, %)	7/30 (%17.8)	26/146 (%17.8)	0.48
SET (n, %)	23/30 (%76.7)	120/146 (%82.2)	
Transfer günü			
D3 (n, %)	14/30 (%46.7)	84/146 (%46.7)	0.78
D4 (n, %)	8/30 (%26.7)	34/146 (%23.3)	
D5 (n, %)	6/30 (%20)	22/146 (%15.1)	
D6 (n, %)	2/30 (%6.7)	6/146 (%4.1)	
Endometrial kalınlık (mm)	12.44±1.86	12.53±2.01	0.83
EFM (mm)	16.91±3.88	16.96±3.091	0.94

VKİ: Vücut kitle indeksi; MII: Metafaz II; EFM: Embryo fundal endometrial yüzey arasındaki mesafe.

TARTIŞMA

İVF başarısında ET'nin önceden önemi bilinmiyordu ve çalışmalar hep klinik ve laboratuvara yöneliyordu. İyi kaliteli embriyolar geliştikçe ET tekniği ile ilgili araştırmalar başladı ve ET tekniğinin İVF'de tedavi sonuçlarını etkileyen çok önemli bir basamak olduğu kabul edildi. ET'de ana nokta embriyoları uterin kavitede implantasyonun en yüksek olasılıkla olabileceği yere yerleştirmektir. Embryo pozisyonunu belirlemede en çok kullanılanı metod TA-USG ile embryo ve fundal endometrial yüzey arasındaki mesafeyi ölçmek olarak kabul edilir. Embriyoların uterin kavitede nereye yerleştirilmesi gerektiği ile ilgili kısıtlı çalışma vardır ve sonuçlar çelişkilidir. Yapılan çalışmaların azlığı ve optimal EFM hakkında net fikir birliği olmaması nedeniyle çalışmamızda, taze non-donor ET yapılan 176 primer infertil hastada embryo fundus mesafesinin İCSİ sonuçlarına etkisine baktık.

Çalışmamızda EFM'e göre hastaları üç gruba kategorize ettiğimizde (EFM≤15 mm, 15-20 mm, ≥20 mm) gruplar arasında implantasyon, klinik gebelik ve eve bebek götürme oranları açısından anlamlı fark bulamadık. EFM≥20 mm olan grupta implantasyon ve klinik gebelik oranlarını daha yüksek izlememize rağmen, eve bebek götüme oranları EFM≤15 mm olan grupta en yüksekti. ET sırasında embriyonun uterin kaviteye yerleşim yerinin İVF başarı oranını arttırdığı ile ilgili yapılan ilk çalışmalar en iyi sonucun embriyonun fundal endometrial yüzeye yakın yere bırakıldığında ve endometrial kontraksiyonları önlemek için fundusa dokunmaktan kaçınıldığında olduğunu göstermektedir (3). Sonraki çalışmalar ise bunu desteklememiştir, hatta kateterin uterin kavitenin ortasına bırakıldığı ve fundustan >15 mm mesafede bırakıldığında gebelik oranının daha yüksek olduğunu gösteren çalışmalar

mevcuttur (9, 16). Benzer şekilde üç randomize kontrollü çalışmayı içeren bir metaanalizde, embryolar uterin kavitenin orta kısmına bırakıldığında daha yüksek gebelik oranları tespit edilmiştir (17). Embryoları fundustan 10-15 mm arası mesafeye bırakmanın diğer seviyelere bırakmaktan daha iyi İVF sonucu elde edilmesine neden olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (1, 10, 16, 19). Tiras ve ark. TA-USG eşliğinde ET yaptıkları 5055 vakayı aldıkları çalışmalarında ise, klinik gebelik ve devam eden gebelik oranının EFM 10-20 mm arasında olduğunda daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (1). Lambers ve ark. ise EFM ile klinik gebelik arasında ilişki olduğunu ve en yüksek gebelik oranının embryo fundusa en yakın olduğunda gerçekleştiğini bulmuşlardır (7).Yapılan çalışmalarda ET sırasında verilen embryo pozisyonu ile ilgili net bir görüş birliği olmasa da fundal transferin klinik gebelik oranını arttırdığı görüşü yönünde bir eğilim vardır. Cenksöy ve ark klinik gebeliğin embryo fundusa yakın olan olgularda daha yüksek olduğunu ve optimal pozisyonun EFM<10 mm olduğunu belirtmişlerdir (12). Spontan konsepsiyonların ve İVF sonrası oluşan gebeliklerin yaklaşık %85'inin fundusa yakın yerde olduğu gösterilmiştir (20). Fundal transferin İVF sonuçlarını iyileştirme nedeni net olarak belirlenememesine rağmen implantasyonla ilgili faktörlerin özellikle fundal endometriumda ekspresye edildiği düşünülmektedir (7). Bu bölgede daha stabil bir endometrial aktivite olması ve yüksek endometrial doku kan akımının olması fundusta implantasyon oranının artmasına olanak tanır (20, 21). 409 ET transferinde yapılan bir çalışmada ise klinik gebelik ve implantasyon oranı ile embryo pozisyonu arasında ilişki gözlenmemiş, klivaj ve blastokist aşamasındaki ET'lerde konsepsiyona neden olan ve olmayan ortalama EFM aynı bulunmuştur (14). Çalışma dizaynlarının farklı olması, bazı çalışmalarda transferlerin körlemesine yapıp transvaginal USG ile EFM ölçümü yapılması paradoksal sonuçlara neden olabilir.

Yüksek fundal ET ile ilişkili en büyük risk ektopik gebelik olabilmesidir (8, 18). EFM<10 mm olan transferlerin tubal gebelikle, >20 mm olan transferlerin ise servikal gebelik riskinde artışla ilişkili olabileceği düşünülmüştür (2, 18, 22). Friedman ve ark. 315 blastokist transferini aldıkları retrospektif çalışmalarında, EFM<10 mm olan

vakaların 10-20 mm ve >20 mm olan vakalara göre yüksek klinik gebelik ile ilişkili olduğunu, bununla birlikte bu grupta ektopik gebeliğin gözlenmediğini bulmuşlardır (2). Başka bir çalışmada da, hastanın temel özellikleri, tedavi rejimi, ovaryan cevap ve transferle ilgili tüm değişkenleri benzer olmasına rağmen EFM 10-15 mm olan grupta <10 mm olan gruba göre yüksek klinik gebelik ve implantasyon bulunurken ektopik gebelik oranları benzer bulunmuştur (10). Çalışmamızda da benzer şekilde, EFM'e göre kategorize ettiğimiz hiçbir grupta ektopik gebeliğe rastlamadık. İVF'de gebelik sonuçlarını etkileyen pek çok faktör vardır. İVF'den sonra gebelik şansının tahminiyle ilgili çalışmalar göstermiştir ki yaş, embryo sayısı ve kalitesi İVF'den sonra gebelik şansı için en güçlü prediktörlerdir (23, 24). Bu yüzden gebe kalan ve kalmayan grup arasında gebelik olasılığı için prognostik faktör (yaş, VKİ, transfer edilen embryo sayısı, transfer günü, embryo kalitesi, endometrial kalınlık, EFM, oosit sayısı, oluşan embryo sayısı, MII sayısı) olarak tanımlanan pek çok değişkeni de analiz ettik. Lojistik regresyon analizinden sonra, alınan kofaktörlerin hiç biri implantasyonu predikte etmezken, diğer çalışmalara benzer şekilde oluşan embryo sayısı hem klinik gebelik hem de eve bebek götürme oranını pozitif yönde etkilemekteydi. EFM ise implantasyon, klinik gebelik ve eve bebek götürme oranını tahmin etmede etkisizdi. Benzer şekilde, Kovacs ve ark. EFM'nin endometrial kalınlık, embryo kalitesi, transfer edilen embryo sayısı, gonadotropin dozu ile devamlı değişken olarak alındığında klinik gebelik için prediktif olmadığını bulmuşlardır (14). Çalışmamızın aksine, Cenksöy ve ark., klinik gebelik şansını etkileyen diğer hasta özelliklerini kontrol ettikten sonra da, ET derinliğinin klinik gebelik başarısını etkilediğini bulmuştur (12). Yaş, parite, FSH, dondurulmuş/taze transfer, İVF deneme sayısını EFM ile kofaktör alan başka bir çalışmada ise EFM<10 mm olmasının implantasyon ve klinik gebelik oranını anlamlı olarak arttırdığı bulunmuştur (2).

Embryonun uterin kaviteye verildikten sonraki saniyelerde yer değiştirmesi nadir değildir (25). Retrospektif bir çalışmada vakaların %90'ında kateter az miktarda medium ile yüklendiğinde hava kabarcığının yerinin oynamadığı gösterilmiştir (26). Biz çalışmamızda embryonun yerinin oynamaması için,

önerilen şekilde, kateteri yüklemek için çok az miktar (yaklaşık toplam 10-15 µl) medium kullandık ve orta hızda injeksiyon hızıyla yükleme yaptık (25, 27). Hava kabarcıklarının %94'ünün, ayağa kalkan hastalarda bile, ET'den sonra hareketi olmadığı bulunmuştur (28). Baba ve ark. 3 boyutlu USG ile ET'den sonra oluşan gebeliklerin %81'inin hava kabarcığı ile aynı yer olduğunu tespit etmişlerdir (29). Confino ve ark. ise ET'den sonra hava kabarcıklarının sadece %11'inde hareket olmadığı söylemektedirler (30). Rovei ve ark. vakaların %10'unda transvaginal USG ile gözlenen hava kabarcığında ET'den sonra 30-60 sn içinde hafif bir hareket izlemişler (31). Çalışmamızda da bazı vakalarda hava kabarcığı muhtemel uterin kontraksiyona bağlı 30-60 sn içinde injeksiyon alanından yavaşça yer değiştirdi bu yüzden belirli bir süre bekleyerek embriyo final pozisyonuna gelince ölçüm yaptık.

İVF tedavisi boyunca uterin kontraksiyonlar en çok hCG günü olur sonrasında kontraksiyon yoğunluğu azalır (32). Fanchin ve ark. klinik gebelik ve implantasyonun uterin kontraksiyon sıklığının artmasıyla azaldığını göstermişler (33). OPU'dan sonra progresif olarak azalan uterin kontraksiyonun blastokist transferini izleyen 7 gün içinde minimal düzeyde olduğu tespit edilmiştir (34). Uterin kontraksiyonlar, OPU'dan sonra azaldığı için klivaj aşaması ve blastokist aşaması embriyoların ayrı ayrı değerlendirilmesi görüşü önem kazanmıştır. Aynı zamanda blastokistler klivaj embriolarından daha büyüktür ve blastokist transferi implantasyon aralığına daha yakın dönemde olduğu için daha az embriyo migrasyonu beklenmektedir. Blastokist ve klivaj embriyolarını ayrı değerlendiren 2 çalışmadan ilkinde fundusa yapılan blastokist transferlerinde daha iyi klinik sonuçlar bulunmasına karşın, ikinci çalışmada klinik gebelik ile EFM arasında ilişki bulunmamıştır (2,14). Biz çalışmamızda, hasta sayımızın kısıtlı olması nedeniyle blastokist ve klivaj embriyolarını ayrı ayrı değerlendirememize rağmen multivariat regresyon analizinde İVF'nin klinik sonuçlarını değerlendirirken transfer gününü de kofaktör olarak bu etkiyi de göz önüne almış olduk.

Çalışmalarda fundal bölgeye implantasyonda alt ve orta uterin segmentlere kıyasla daha düşük abort oranı olduğu gözlenmiştir (35). Benzer şekilde alt

kısma implantasyonun yüksek aborta neden olduğu öne sürülmüştür (36). Pacchiarotti ve ark. KFM 10-15 mm olan grupta <10 mm olan gruba göre klinik gebelik ve implantasyonda anlamlı artma gözlerken abort açısından ise fark izlememişlerdir (10). Biz çalışmamızda, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, EFM≤15 mm olan grupta hiç abort izlemeyen, en yüksek abortu EFM≥20 mm olan grupta izledik. Abort oranının EFM≥20 mm olan grupta yüksek olması, bu grupta implantasyon ve klinik gebelik yüksek oranda görülürken eve bebek götürme oranının düşük olmasını açıklayabilir.

LİMİTASYONLAR

Çalışmamızın ana limitasyonları retrospektif dizaynı olması ve nispeten az vaka sayısıdır. Prospektif ve büyük vaka sayılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

ET sonrası başarı oranlarının klinisyenler arası değişiklik gösterdiği bilinmektedir (37). Çalışmamızda tek tecrübeli reproduktif endokrinolojistin tüm transferleri yapmış olması operatörden kaynaklanan transfer tekniğindeki potansiyel varyasyonların minimize olmasını sağlamıştır. Sonuçlarımızı değerlendirirken İVF'in klinik sonuçlarını etkileyen yaş, VKİ gibi hasta karakteristikleri endometrial kalınlık ve embriyo kalitesi gibi parametreleri dikkate almamız çalışmamızın diğer bir avantajıdır.

SONUÇ

İVF'de ET tedavi sonuçlarını etkileyen son derece önemli bir basamaktır. EFM, İCSİ sikluslarında klinik sonuçları anlamlı olarak etkilemiyor gibi görünse de EFM≤15 mm olması viabl bebek doğum şansını artırıp İCSİ başarısını artırır. Optimum EFM aralığını bulmak için büyük hasta katımlı randomize kontrollü klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

REFERANSLAR

1. Tiras B, Polat M, Korucuoglu U, Zeyneloglu HB, Yarali H. Impact of embryo replacement depth on in vitro fertilization and embryo transfer outcomes. *Fertil Steril.* 2010;94(4):1341-5.
2. Friedman BE, Lathi RB, Henne MB, Fisher SL, Milki AA. The effect of air bubble position after blastocyst transfer on pregnancy rates in IVF cycles. *Fertil Steril.* 2011;95(3):944-7.
3. Schoolcraft WB, Surrey ES, Gardner DK. Embryo transfer: techniques and variables affecting success. *Fertil Steril.* 2001;76(5):863-70.
4. Kovacs GT. What factors are important for successful embryo transfer after in-vitro fertilization? *Hum Reprod.* 1999;14(3):590-2.

5. Mains L, Van Voorhis BJ. Optimizing the technique of embryo transfer. *Fertil Steril.* 2010;94(3):785-90.
6. Coroleu B, Barri PN, Carreras O, Martinez F, Parriego M, Hereter L, et al. The influence of the depth of embryo replacement into the uterine cavity on implantation rates after IVF: a controlled, ultrasound-guided study. *Hum Reprod.* 2002;17(2):341-6.
7. Lambers MJ, Dogan E, Lens JW, Schats R, Hompes PG. The position of transferred air bubbles after embryo transfer is related to pregnancy rate. *Fertil Steril.* 2007;88(1):68-73.
8. Pope CS, Cook EK, Arny M, Novak A, Grow DR. Influence of embryo transfer depth on in vitro fertilization and embryo transfer outcomes. *Fertil Steril.* 2004;81(1):51-8.
9. Frankfurter D, Trimarchi JB, Silva CP, Keefe DL. Middle to lower uterine segment embryo transfer improves implantation and pregnancy rates compared with fundal embryo transfer. *Fertil Steril.* 2004;81(5):1273-7.
10. Pacchiarotti A, Mohamed MA, Micara G, Tranquilli D, Linari A, Espinola SM, et al. The impact of the depth of embryo replacement on IVF outcome. *J Assist Reprod Genet.* 2007;24(5):189-93.
11. Coroleu B, Carreras O, Veiga A, Martell A, Martinez F, Belil I, et al. Embryo transfer under ultrasound guidance improves pregnancy rates after in-vitro fertilization. *Hum Reprod.* 2000;15(3):616-20.
12. Cenksöy PO, Ficioglu C, Yesiladali M, Akcin OA, Kaspar C. The importance of the length of uterine cavity, the position of the tip of the inner catheter and the distance between the fundal endometrial surface and the air bubbles as determinants of the pregnancy rate in IVF cycles. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014;172:46-50.
13. van Weering HG, Schats R, McDonnell J, Vink JM, Vermeiden JP, Hompes PG. The impact of the embryo transfer catheter on the pregnancy rate in IVF. *Hum Reprod.* 2002;17(3):666-70.
14. Kovacs P, Sajgo A, Rarosi F, Kaali SG. Does it really matter how far from the fundus embryos are transferred? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2012;162(1):62-6.
15. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology. Guidelines on number of embryos transferred. *Fertil Steril.* 2009;92(5):1518-9.
16. Oliveira JB, Martins AM, Baruffi RL, Mauri AL, Petersen CG, Felipe V, et al. Increased implantation and pregnancy rates obtained by placing the tip of the transfer catheter in the central area of the endometrial cavity. *Reprod Biomed Online.* 2004;9(4):435-41.
17. Franco JG, Jr., Martins AM, Baruffi RL, Mauri AL, Petersen CG, Felipe V, et al. Best site for embryo transfer: the upper or lower half of endometrial cavity? *Hum Reprod.* 2004;19(8):1785-90.
18. Nazari A, Askari HA, Check JH, O'Shaughnessy A. Embryo transfer technique as a cause of ectopic pregnancy in in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 1993;60(5):919-21.
19. Abou-Setta AM. What is the best site for embryo deposition? A systematic review and meta-analysis using direct and adjusted indirect comparisons. *Reprod Biomed Online.* 2007;14(5):611-9.
20. Jinno M, Ozaki T, Iwashita M, Nakamura Y, Kudo A, Hirano H. Measurement of endometrial tissue blood flow: a novel way to assess uterine receptivity for implantation. *Fertil Steril.* 2001;76(6):1168-74.
21. van Gestel I, MM IJ, Hoogland HJ, Evers JL. Endometrial wave-like activity in the non-pregnant uterus. *Hum Reprod update.* 2003;9(2):131-8.
22. Bennett S, Waterstone J, Parsons J, Creighton S. Two cases of cervical pregnancy following in vitro fertilization and embryo transfer to the lower uterine cavity *J Assist Reprod Genet.* 1993;10(1):100-3.
23. Roberts S, McGowan L, Hirst W, Brison D, Vail A, Lieberman B. Towards single embryo transfer? Modelling clinical outcomes of potential treatment choices using multiple data sources: predictive models and patient perspectives. *Health Technol Assess.* 2010;14(38):1-237.
24. Verberg MF, Eijkemans MJ, Macklon NS, Heijnen EM, Fauser BC, Broekmans FJ. Predictors of ongoing pregnancy after single-embryo transfer following mild ovarian stimulation for IVF. *Fertil Steril.* 2008;89(5):1159-65.
25. Lauko IG, Rinaudo P, Dashev S. A computational parameter study of embryo transfer. *Ann Biomed Eng.* 2007;35(4):659-71.
26. Tiras B, Korucuoglu U, Polat M, Saltik A, Zeyneloglu HB, Yarali H. Effect of air bubble localization after transfer on embryo transfer outcomes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2012;164(1):52-4.
27. Grygoruk C, Ratowski K, Kolodziejczyk M, Gagan J, Modlinski JA, Gajda B, et al. Fluid dynamics during embryo transfer. *Fertil Steril.* 2011;96(2):324-7.
28. Woolcott R, Stanger J. Ultrasound tracking of the movement of embryo-associated air bubbles on standing after transfer. *Hum Reprod.* 1998;13(8):2107-9.
29. Baba K, Ishihara O, Hayashi N, Saitoh M, Taya J, Kinoshita K. Where does the embryo implant after embryo transfer in humans? *Fertil Steril.* 2000;73(1):123-5.
30. Confino E, Zhang J, Risquez F. Air bubble migration is a random event post embryo transfer. *J Assist Reprod Genet.* 2007;24(6):223-6.
31. Rovei V, Dalmasso P, Gennarelli G, Lantieri T, Basso G, Benedetto C, et al. IVF outcome is optimized when embryos are replaced between 5 and 15 mm from the fundal endometrial surface: a prospective analysis on 1184 IVF cycles. *Reprod Biol Endocrinol.* 2013;11:114.
32. Lesny P, Killick SR, Tetlow RL, Robinson J, Maguiness SD. Uterine junctional zone contractions during assisted reproduction cycles. *Hum Reprod update.* 1998;4(4):440-5.
33. Fanchin R, Righini C, Olivennes F, Taylor S, de Ziegler D, Frydman R. Uterine contractions at the time of embryo transfer alter pregnancy rates after in-vitro fertilization. *Hum Reprod.* 1998;13(7):1968-74.
34. Fanchin R, Ayoubi JM, Righini C, Olivennes F, Schonauer LM, Frydman R. Uterine contractility decreases at the time of blastocyst transfers. *Hum Reprod.* 2001;16(6):1115-9.
35. Minami S, Ishihara K, Araki T. Determination of blastocyst implantation site in spontaneous pregnancies using three-dimensional transvaginal ultrasound. *J Nippon Med Sch.* 2003;70(3):250-4.
36. Krampfl E, Zegermacher G, Eichler C, Obruca A, Strohmer H, Feichtinger W. Air in the uterine cavity after embryo transfer. *Fertil Steril.* 1995;63(2):366-70.
37. Hearn-Stokes RM, Miller BT, Scott L, Creuss D, Chakraborty PK, Segars JH. Pregnancy rates after embryo transfer depend on the provider at embryo transfer. *Fertil Steril.* 2000;74(1):80-6.