T. C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM KLİNİĞİ

DONDURULMUŞ ÇÖZÜLMÜŞ EMBRİYO TRANSFERİ YAPILAN SİKLUSLARDA BAŞARIYI ETKİLEYEN FAKTÖRLERİN BELİRLENMESİ

Dr. Gamze BOLEL

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2023

T. C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM KLİNİĞİ

DONDURULMUŞ ÇÖZÜLMÜŞ EMBRİYO TRANSFERİ YAPILAN SİKLUSLARDA BAŞARIYI ETKİLEYEN FAKTÖRLERİN BELİRLENMESİ

Dr. Gamze BOLEL

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Gülşah İLHAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2023

TEŞEKKÜR

İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği eğitim sorumlumuz Doç. Dr. Işık KABAN'a,

İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği idari sorumlumuz Doç. Dr. Emre Sinan GÜNGÖR'e,

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve becerilerini aktarmaktan sakınmayan, bitirme tezimin her adımında verdiği destek ve gösterdiği anlayış için tez danışman hocam Doç. Dr. Gülşah İLHAN'a,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum başta eşkıdemlerim, diğer asistan arkadaşlarım ve üzerimde emeği olan değerli uzmanlarıma,

Bu hayatta her daim yanımda olduklarını bildiğim, üzerimde büyük emekleri olan, verdiğim her karara benden daha çok inanan ve benden asla ümitlerini kesmeyen başta melek annem, sevgili babam ve biricik ağabeyime,

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR ..... **i**
İÇİNDEKİLER ..... **ii**
KISALTMALAR ..... **iv**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **vi**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **vii**
ÖZET ..... **viii**
ABSTRACT ..... **x**
1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**
2. GENEL BİLGİLER **3**
2.1. İnfertilite 3
2.1.1. Erkek İnfertilitesi 3
2.1.2. Kadın İnfertilitesi 6
2.1.2.1. İleri Kadın Yaşı 7
2.1.2.2. Ovulatuar Faktör 7
2.1.2.3. Tubal Faktör 8
2.1.2.4. Servikal Faktör 8
2.1.2.5. Açıklanamayan İnfertilite 8
2.1.2.6. Endometriozis 9
2.1.2.7. Polikistik Over Sendromu (PKOS) 10
2.1.2.8. Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu (OHSS) 11
2.2. Kriyoprezervasyon 12
2.2.1 Kriyoprotektanlar 13
2.3. Kriyoprezervasyon Yöntemleri 15
2.3.1. Klasik Yavaş Dondurma (Slow Freezing) 15
2.3.2. Hızlı Dondurma (Rapid Freezing) 16
2.3.3.Vitrifikasyon 17
2.3.3.1.Sperm Kriyoprezervasyonu 19
2.3.3.2.Oosit Kriyoprezervasyonu 20
2.3.3.3.Embriyo Kriyoprezervasyonu 21
2.4. İnfertil Çiftlere Yaklaşım 22
2.4.1. Tanısal Tetkikler 23

2.5. İnfertilite Tedavisi 25
2.5.1. Ovulasyon İndüksiyonu 25
2.5.1.1. Klomifen Sitrat 26
2.5.1.2. Letrozol 26
2.5.1.3. Ekzojen Gonodotropinler 27
2.6. Yardımcı Üreme Teknikleri 28
2.7. Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon 29
2.8. Ovulasyon Tetiklenmesi 31
2.9. Oosit toplama ve Fertilizasyon 31
2.10. Luteal Faz Desteği 31
2.11. Embriyo Yönetimi 32
2.12. Dondurulmuş Embriyo Transferi 32
2.13. Dondurulmuş Embriyo Transferinde Endometrium Hazırlığı 33
3. GEREÇ VE YÖNTEMİ 34
3.1. ARAŞTIRMAYA DAHİL ETME VE DIŞLANMA KRİTERLERİ 34
3.2. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM 34
3.3. ETİK KURUL İZNİ 35
4. BULGULAR 36
5.TARTIŞMA 44
6. SONUÇLAR 49
7. KAYNAKÇA 50

KISALTMALAR

AMH : Anti-Müllerian Hormon

B-hCG: Beta Human Chorionic Gonadotropin

BMI: Body Mass Index

CC : Klomifen Sitrat

DÇET: Dondurulmuş Çözülmüş Embriyo Transferi

DOR : Azalmış Over Rezervi (Diminished Ovarian Reserve)

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

E2 : Estradiol

FET : Frozen-thawed Embryo Transfer

FSH : Follicle Stimulating Hormone

GnRH : Gonadotropin Releasing Hormone

GV : Germinal Vezikül

HSG : Histerosalpingografi

ICSI : İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu

IVF : In Vitro Fertilizasyon

KOH : Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon

LH : Luteinizan Hormon

M1 : Metafaz-1

M2 : Metafaz-2

OHSS : Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu

OKS : Oral Kontraseptif

OPU : Oosit Pick-Up – Oosit Toplanması

P4 : Progesteron

PCOS : Polikistik Over Sendromu

TESE : Testiküler Sperm Aspirasyonu

USG : Ultrasonografi

YÜT : Yardımcı Üreme Teknikleri

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. 2021 WHO kriterlerine göre normal semen parametreleri 4

Tablo 2. Kruger kesin kriterlerine göre sperm morfolojisi 5

Tablo 3. Hücre içine nüfus etme özelliklerine göre kriyoprotektan türleri 13

Tablo 4. Kriyoprezervasyon basamakları 14

Tablo 5. Yardımcı üreme teknikleri 28

Tablo 6. GnRH agonistleri doz şekilleri 30

Tablo 7. Demografik özelliklerin istatistikleri 37

Tablo 8. Demografik özelliklerin istatistikleri (devamı) 38

Tablo 9. Gebelik sonuçlarına göre klinik parametrelerin karşılaştırılması 39

Tablo 10. Gebelik sonuçlarına göre klinik parametrelerin karşılaştırılması (devamı) 40

Tablo 11. Tek ve çift embriyo transferi yapılan gruplar arasında klinik parametrelerin karşılaştırılması 41

Tablo 12. Tek ve çift embriyo transferi yapılan gruplar arasında klinik parametrelerin karşılaştırılması (devamı) 42

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. İnfertilite nedenlerine göre gebelik oranları 40

Şekil 2. DÇET endikasyonlarına göre transfer edilen embriyo sayısı oranları 43

ÖZET

Amaç: Dondurulmuş çözülmüş embriyo transferi yapılan sikluslarda demografik özellikler, uygulanan tedavi protokolleri, hormonal değerler, toplanan oosit sayısı ve kalitesi, dondurulan embriyo sayısı, gradi, endometrial kalınlık, progesteron değerinin gebelik başarısı üzerine etkilerini belirlemek amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü İnfertilite ve Tüp Bebek Kliniği'nde 2017-2022 yılları arasında dondurulmuş-çözülmüş embriyo transfer (DÇET) tedavisi uygulanan 300 hastanın verileri retrospektif olarak incelendi. DÇET sikluslarını etkileyebilecek parametrelerden yaş, vücut kitle indeksi, infertilite nedeni, infertilite derecesi, DÇET yapılma nedeni, KOH protokolünde uygulanan tedavi türü, uygulanan tedavi dozu, embriyonun transfer edildiği günü, hastanın başlangıç FSH, LH, AMH ve prolaktin düzeyi, OPU günü toplanan toplam oosit, M1, M2, GV aşama oosit sayıları, dondurulan embriyo sayısı, embriyo dondurulma günü, embriyo gradi, transfer edilen embriyo sayısı, progesteron düzeyleri, endometrium kalınlığı ve eşinin sperm sayısının gebelik başarısı üzerine etkileri araştırıldı. Analizlerde SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 28.0 programı kullanılmıştır.

Bulgular: Araştırmaya toplam 300 hasta dahil edilmiştir. Hastaların yaş ortalaması 31.5 ± 4.9 'dur. Vücut kitle indexleri 25.9 ± 4.2 kg/m2 olarak bulunmuştur. DÇET yapılma nedenleri arasında en yüksek oran %39.6 ile OHSS ve ikinci sırada %34.2 ile fazladan embriyo elde edilmesi gelmektedir. En az görülen endikasyon ise %0.3 ile genetik inceleme nedenli faktörlerdir. DÇET yapılan hastalar arasında primer infertilitesi olanlar %80.2 ile sekonder infertilitesi olanlardan (%19.8) daha yüksek çıkmıştır. İnfertilite nedenleri arasından açıklanamayan infertilite %40.9 ile en yüksek, ikinci sırada ise male faktör %35.9 gelmektedir. Uygulanan tedavi türü olarak Antagonist protokol %52.3 ile daha yüksek orandadır. Dondurulan embriyo sayısı ortalaması 4.3 ± 2.4, dondurulma günü ortalaması 3.5 ± 1.1, transfer edilen embriyo günü ortalaması 4.1 ± 1.2, endometrium kalınlığı ortalaması 9.2 ± 2.5 şeklinde bulunmuştur. Tek embriyo transferi yapılan hasta sayısı oranı %65.8 ile daha yüksek çıkmıştır. İstatistiksel sonuçlara göre pozitif gebelik sonucu %26.8, negatif gebelik sonucu ise %73.2 olarak saptanmıştır.

Gebelik sonucu pozitif olan grupta BMI değeri gebelik sonucu negatif olan gruptan anlamlı olarak daha düşük çıkmıştır ($p < 0.05$). Gebelik sonucu pozitif olan grupta Açıklanamayan infetilite nedeni gebelik sonucu negatif olan gruptan anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Diğer infertilite nedenlerinden DOR, Male Faktör, Tubal Faktör, genetik inceleme arasında gebelik sonuçları açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Tek ve çift embriyo transferi olan gruplar arasında gebelik sonucu anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$).

Ayrıca çalışmamızda uygulanan tedavi türünün, dondurulan embriyo sayısı ve gradinin, dondurulma gününün, transfer edilen embriyo sayısının, progesteron düzeyinin ve endometriyum kalınlığının gebelik sonucunda anlamlı bir fark yaratmadığı saptanmıştır ($p > 0.05$).

Sonuç: DÇET tedavilerinde gebelik başarısında BMI değerinin anlamlı bir farklılık yarattığı ortaya konuldu. Bu sebeple hastalara özellikle yardımcı üreme tedavilerine başvurmadan önce hayat tarzı değişiklikleri, diyet, egzersiz gibi öneriler ve sağlıklı kilo verdirme teşvik edilmelidir. Transfer edilen embriyo sayısının ve endometriyum kalınlığının önemini vurgulayan literatürdeki çalışmalarının aksine çalışmamız tek ve çift transfer yapılan hastalarda gebelik sonuçları açısından fark olmadığını ortaya koymuş ve yine gebelik sonucu pozitifliğini endometriyum kalınlığı ile ilişkilendirememiştir.

Anahtar Kelimeler: Dondurulmuş Çözülmüş Embriyo Transferi, Gebelik, In Vitro Fertilizasyon, İnfertilite.

ABSTRACT

Objective: It was aimed to determine the effects of demographic characteristics, treatment protocols, hormonal values, number and quality of collected oocytes, number and quality of frozen embryos, embryo grade, endometrial thickness, progesterone value on pregnancy success in frozen-thawed embryo transfer cycles.

Materials and Methods: The data of 300 patients who underwent frozen-thawed embryo transfer (FET) treatment between 2017 and 2022 in the Infertility and IVF Clinic of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Istanbul Training and Research Hospital were retrospectively analyzed. Among the parameters that may affect FET cycles are age, body mass index, cause of infertility, degree of infertility, reason for performing FET, the type of treatment applied in the KOH protocol, the treatment dose applied, the day of embryo transfer, the patient's initial FSH, LH, AMH and prolactin level, the total collected on the day of OPU. The effects of oocyte, M1, M2, GV stage oocytes, number of frozen embryos, embryo freezing day, embryo quality, number of embryos transferred, progesterone levels, endometrial thickness and spouse's sperm count on pregnancy success were investigated. SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 28.0 program was used in the analysis.

Results: A total of 300 patients were included in the study. Patients' age the mean is 31.5 ± 4.9. Body mass indexes were found to be 25.9 ± 4.2 kg/m2. Among the reasons for performing DÇET, the highest rate is OHSS with 39.6% and the second place is getting extra embryos with 34.2%. The least common indication is the factors caused by genetic examination with 0.3%. Among the patients who underwent DÇET, those with primary infertility were 80.2% higher than those with secondary infertility (19.8%). Among the causes of infertility, unexplained infertility is the highest with 40.9%, followed by the male factor with 35.9%. Antagonist protocol as the type of treatment applied is higher with 52.3%. The mean number of frozen embryos was 4.3 ± 2.4, the mean of freezing day was 3.5 ± 1.1, the mean of transferred embryo day was 4.1 ± 1.2, the mean of endometrial thickness was 9.2 ± 2.5. The rate of the number of patients who underwent single embryo transfer was

higher with 65.8%. According to statistical results, positive pregnancy result was 26.8% and negative pregnancy result was 73.2%. The BMI value in the group with positive pregnancy result was significantly lower than the group with negative pregnancy result ($p < 0.05$). The cause of unexplained infertility in the group with positive pregnancy result was found to be significantly higher than the group with negative pregnancy result ($p < 0.05$). No significant difference was found between DOR, Male Factor, BTT, and Thalassemia among other infertility causes in terms of pregnancy outcomes. The pregnancy outcome did not differ significantly between the groups with single and double embryo transfer ($p > 0.05$).

In addition, it was found that the type of treatment applied in our study, the number and grade of frozen embryos, the day of freezing, the number of embryos transferred, the level of progesterone and the thickness of the endometrium did not make a significant difference in the outcome of pregnancy ($p > 0.05$).

Conclusion: It was revealed that BMI value made a significant difference in pregnancy success in DÇET treatments. For this reason, lifestyle changes, recommendations such as diet, exercise, and healthy weight loss should be encouraged, especially before resorting to assisted reproductive treatments. Contrary to studies in the literature emphasizing the importance of the number of embryos transferred and the thickness of the endometrium, our study revealed that there was no difference in pregnancy outcomes in patients who underwent single and double transfer, and again, it could not associate the positivity of pregnancy result with the thickness of the endometrium.

Keywords: Frozen Thawed Embryo Transfer, Pregnancy, In Vitro Fertilization, Infertility.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnfertilite, 12 ay boyunca düzenli ve korunmasız cinsel ilişkiye rağmen klinik olarak gebelik oluşmaması durumudur (1,2). Hastalık tanımı, "vücudun herhangi bir bölümünün, organının veya sisteminin normal yapısından veya işlevinden karakteristik semptom ve belirtilerle kendini gösteren herhangi bir sapma veya kesinti; etiyoloji, patoloji ve prognoz biliniyor veya bilinmiyor olabilir" şeklinde olması sebebiyle infertilite bir hastalıktır (3).

Dünya genelinde reprodüktif dönemdeki çiftlerin %8 ila 12'sinin bu hastalıktan etkilendiği düşünülmektedir (1). Reprodüktif dönemdeki kadınlarda infertilite görülme sıklığı Batı'da her yedi çiftten biri ve gelişmekte olan ülkelerde her dört çiftten birinin olduğu düşünülmektedir. Dünyanın bazı yerlerinde infertilite oranları %30'u bulabiliyor. İnfertilite vakalarının %20-30'unda sadece erkeklerin payı olduğu, ancak %50'sine de sebep olduğu saptanmıştır (1). İnfertil çiftler mental olarak sağlıklı olarak görülse de, bir takım çalışmalar infertilite probleminin depresyon ve anksiyete gibi psikolojik kötü hallerin artması ile ilişkili olabileceğini göstermektedir (4,5,6). Bu da çiftlere fazladan bir problemin daha yanında gelebileceği sorununu yaratmaktadır. Buna rağmen üreme çağındaki çiftlerin ancak yarısı yardımcı üreme teknikleri konusunda yardım alabilmektedir (7). Bunun başlıca sebepleri ekonomik güçsüzlük, YÜT'lerine ulaşamama, dini inanç, sosyal çevre v.b. şeklinde sayılabilir. İnfertilite, ovulatuar ve tubal faktörler, endometriyotik hastalık, sperm sayı ve şekil bozuklukları, nedeni bilinmeyen infertilite ve genetik bozukluklar gibi kadın ve erkeğin her ikisinide ilgilendiren birçok nedenle birlikte ele alınır (8). Kısırlığın iyileştirilmesi veya çözümü için ise yardımcı üreme tekniklerinden (YÜT) yararlanılmaktadır. YÜT alanında 30 yıldır bir hayli gelişme kaydedilmiştir (7). Yardımcı üreme tedavi protokollerindeki gelişmeler, bu tedavilere artan talep ve kriyoprezervasyon tekniklerindeki gelişmelerinde buna katkıda bulunduğu söylenebilir (9). In-vitro fertilizasyon (IVF) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI), infertilite tedavilerinin son kısmını oluşturmaktadır. Tedavideki amaç, over stimülasyonu sonrası overlerden elde edilen oositler ile semenden veya TESE yardımıyla direkt yolla testislerden elde edilen spermlerin dış ortamda döllendirilerek bunun sonucunda oluşan embriyoların uterus içine naklidir (7). Embriyo transferi,

taze siklus embriyo transferi ve dondurulmuş çözülmüş embriyo transferi olmak üzere iki şekilde yapılır. Dondurulmuş çözülmüş embriyo transferi (DÇET) başlarda hemen embriyo naklinin gerçekleşemediği durumlarda kullanılmış olup sonradan kriyoprezervasyon alanındaki ilerlemeler ve diğer birçok nedenden dolayı popülaritesi artmıştır. DÇET ilk başlarda OHSS'yi azaltmak ya da taze siklusta fazladan kalan embriyoları saklamak için kullanılırdı. Ancak ilerleyen zamanlarda tek embriyo transferi yönteminin yaygınlaşması, teknolojik gelişmeler ve genetik inceleme yapılabilmesi için, uygun olmayan endometriyum durumunda nakil vaktini ötelemek, düşük over rezervli kadınlarda veya kanser gibi fertiliteyi kötü etkileyecek hastalıklarda embriyo depolanması için de kullanılmaktadır (10). Bunlara ek olarak DÇET protokolünde başarılı klinik gebelik oranında, taze siklus embriyo transferine (ET) kıyasla daha iyi sonuç alınabilceğine ve düşük doğum ağırlıklı bebek oranının, erken doğumların daha az oranda görüldüğüne dair çalışmalar da bulunur (11,12). 2012 yılından bir veri sonucuna göre ABD'de YÜT'den yaralanılarak meydana gelen canlı doğumların yaklaşık %30'u, bütün dünyada ise %20'si DÇET protokolünden sağlanmıştır (13,14). DÇET uygulanan hastalarda, başarıyı etkileyen birçok faktör öne sürülmüştür. DÇET protokolünde başarı oranı, embriyo kalitesine, dondurma gününe, kullanılan medyuma, dondurma-çözdürme yöntemine, çözdürme medyumuna, çözdürme gününe, klinisyene, transfer edilme gününe, indükleme tedavilerine, genetik faktörlere,endometriyum durumuna ve anne yaşına bağlı olarak değişebilmektedir (15). Bunların dışında daha birçok sebep mevcuttur. Ancak hala tam olarak kesinlik kazanamamıştır.

DÇET'nin giderek artan önemini düşündüğümüzde, biz çalışmamızda DÇET sikluslarında başarıyı etkileyebilecek çok sayıda bileşeni ele alarak daha kapsamlı bir sonuç almayı planladık. Böylece DÇET protokolü ile arttırabileceğimiz gebelik oranı sayesinde infertil çiftlere daha kesin sonuç tavsiyesi sağlayabileceğiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnfertilite

Fertilite, klinik anlamda gebelik oluşturabilme yeteneği olarak açıklanabilir. İnfertilite, 12 ay boyunca düzenli ve korunmasız cinsel ilişkiye rağmen klinik olarak gebelik oluşmaması durumudur (1,2). Ancak bazı durumlarda bu 12 aylık süreyi beklemek yerine erken müdahale yapmak gerekir. Kadınlar için; 35 yaş üstü, oligo/amenore, uterin veya tubal hastalığı olan, endometriozis, pelvik cerrahi geçirenlerdir. Erkekler için; semen anomaliliği olan, ürogenital cerrahi geçmişi olan, genital patolojik durumu olan veya cinsel yolla bulaşan hastalık geçirenlerdir (16). Özgeçmişinde üreme ile ilgili hiçbir sorunu olmayan çiftlerin büyük bir kısmı ilk 6 ayda olmak üzere, %90'na yakınının 1 yıl içinde olumlu bir gebelik sonucu beklenir (17,18). Son yıllarda gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde büyüyen bir sorun haline gelmiştir. İnfertilite, primer ve sekonder olmak üzere ikiye ayrılır. Primer infertilite, bir kadının daha önce hiç gebe kalamamasına denir. Sekonder infertilite ise en az bir sefer gebelik yaşadıktan sonra artık gebe kalamamasına denir. İnfertil çiftlerde yapılan bir analizde infertilite nedeninin yaklaşık %40'ı erkek faktör, yaklaşık %50 kadarında da kadın faktörü bulunmuştur. %25 kadarında ise çiftin her ikisine ait sorunlar belirlenmiştir. %15 çiftte ise herhangi bir infertilite nedeni saptanamamıştır (19).

2.1.1. Erkek İnfertilitesi

İnfertilite denildiğinde halk arasında ilk akla gelen kadınlar olmasına rağmen erkekler kısırlığın %30-40 gibi önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Bu yüzden erkek partnerlerden de ilk başta alacağımız anamnez önemli yer tutmaktadır. Özellikle çocuklukta geçirilen ateşli hastalıklar, genito-üriner cerrahiler ve travmalar, inmemiş testis öyküsü, böbrek hastalığı, diyabet öyküsü açısından değerlendirilmelidir. Bunların yanında kronik ilaç kullanımı, kronik stres, sigara ve alkol gibi fertiliteyi etkileyecek diğer durumlarda akılda tutulmalıdır (20). Erkek infertilitesini değerlendirirken üretim, işleyiş ve transport sorunları olmak üzere üç parçaya ayırabiliriz. Bunlar; sperm yapımındaki bozukluklar, spermin fonksiyonel bozuklukları ve sperm iletim sistemindeki anormalliklere bağlı tıkanıklıklardır. Tedaviye karar verirken ise genetik nedenler, gonadotropin yetmezliği, anatomik

sebepler, enfeksiyonlar, immünolojik ve idiopatik olarak 6 gruba ayırmak mümkündür (21). Erkek infertilitesini değerlendirirken ilk adımda yararlanılan test semen analizidir. Semen analizi testi 3-5 gün süren bir cinsel perhiz sonrası mastürbasyon yoluyla veya sperm için toksik maddeler muhafaza etmeyen özel bir semen biriktirme prezervatifi kullanılarak cinsel ilişki yoluyla toplanabilir. Uygun olanı testi laboratuvar ortamında yapmaktır. Ancak hasta testi evden getiriyorsa optimal sıcaklıkta tutup en az 1 saat içinde laboratuvara ulaştırmalıdır. Semen analizi değerleri farklı zamanlarda farklılıklar gösterebilir. Bu nedenle değerlendirme yaparken en az 2 hafta ara olucak şekilde uygun şartlarda yapılmış 2 semen analizi olması gereklidir. Testte bakmamız gereken en önemli parametreler ise konsantrasyon, motilite ve morfoloji olmalıdır (22).

2021 WHO yeni güncellenen sperm analizi klavuzu referans değerleri aşağıdaki gibi verilmiştir (23).

Tablo 1: 2021 WHO kriterlerine göre normal semen parametreleri (23).

PARAMETRE	**WHO 2021**
Semen Hacmi	1,4 mL
Toplam Sperm Sayısı	39 milyon
Hareketli Sperm Sayısı	%42
İleri Hareketli Sperm	%30
İleri Hareketli Olmayan Sperm	%1
Hareketsiz Sperm	%20
Vitalite (Canlı Sperm)	%54
Sperm Morfolojisi	%4
pH	>%7,2

Tablo 2: Kruger kesin kriterlerine göre sperm morfolojisi (24)

Baş	Uzunluk 5-6 mikron Genişlik 2.5-3.5 mikron
Akrozom	Başın %40-%70'ini oluşturmalı
Boyun	Genişlik 1 mikron Uzunluk 1.5 x baş uzunluğu
Kuyruk	Boyu yaklaşık 45 mikron Uniform Orta parçadan daha ince Kıvrık olmayan Kırık içermeyen

Eğer erkeğin semen analizi testi WHO kriterlerine uygun ise daha başka tetkikler yapmaya ihtiyaç duyulmaz. Test sonuçlarında bir anormallik olması halinde daha ileri bir araştırma gereklidir. Öncelikle detaylı bir anamnez, fizik muayene ile değerlendirmeye başlanır. Genetik ve hormonal testler, biyopsi ve ya radyolojik tanı yöntemleri de kullanılabilir. Gerektiğinde tekrarlayan semen analizleri, boşalma sonrası idrar tahlili, meni ve sperm üzerinde özel testler gibi tetkikler değerlendirme de önerilebilir (25).

Erkek infertilitesinin etyolojisi ve yüzdelik dağılımı (26) :

-İdiyopatik semen bozuklukları (OAT) sendromu) veya gösterilebilir bir neden yokluğu % 75.1

-Varikosel % 12.3

-Ürogenital enfeksiyonlar % 6.6

-İmmünolojik faktörler % 3.1

-Diğer hastalıklar % 3.0

-Konjenital anomaliler % 2.1

-Cinsel faktörler % 1.7

-Endokrin bozukluklar % 0.6

2.1.2. Kadın İnfertilitesi

WHO'ya göre infertilitenin tüm dünyada yaklaşık 80 milyon kadının ve %10'un üzerinde evli kadının sorunu olduğu ve bu kadınlardan sadece neredeyse üçte birinin yardımcı üreme tedavileri için bir sağlık kuruluşuna geldiğini tahmin edilmektedir (27).

İnfertil bir çifti değerlendirirken, kadın faktörünün değerlendirilmesi tanı ve tedavide önemlidir. Anamnez ve fizik muayene ilk adımı oluşturmasının yanında hem basit ve ucuz hemde çok önemli bir yer tutar. Anamnezde mevcut doğurganlık girişimleri hakkında detaylı bilgi, obstetrik ve jinekolojik geçmiş, tıbbi geçmiş, aile öyküsü başlıca bileşenlerdir. Fizik muayenede ise USG muayenesi başta olmak üzere spekulum muayenesi, meme, tiroid, cilt muayeneleri bulunur. Cilt muayenesinde hastada hirşutizm, androjenik alopesi v.s. gibi hiperandrojenizm kaynaklı bulgular değerlendirilmelidir. Tiroid muayenesinde bezin boyutu, nodülarite, hassasiyet veya servikal adenopati varlığı değerlendirilmelidir. Meme muayenesinde hormonal aksın bir bozukluğu olan galaktore açısından değerlendirilebilir, bunun yanında kitleler, ele gelen hassasiyet, deri değişiklikleri ve diğer meme başı akıntısı türleride göz ardı edilmemelidir. Spekulum muayenesi vajinal ve servikal anormallikler, lezyonlar ve

rahim ağzı poliplerini tespit etmeyi içerir. Bunlara ek olarak bimanuel pelvik muayenede kesin bir şart olmamakla birlikte USG muayenesi yapılamayan hastalarda yardımcıdır (28). Kadınlar da fertilite üreme sisteminin hormonal komponenti olan hipotalamus, pituiter ve ovaryan aksın birbirleriyle düzenli çalışması sayesinde olur. Bu yüzden kadınlarda infertilite bu aksı etkileyen diğer hastalıklardan, reprodüktif sistem, nöroendokrin ve immün sistemin disfonksiyonundan oluşabilmektedir. Kadın infertilitesinin etiyolojisinde en çok görülenler; ileri kadın yaşı, ovulatuar bozukluklar, tubal nedenler, servikal nedenler ve açıklanamayan infertilitedir (29).

2.1.2.1. İleri Kadın Yaşı

İnfertilite de yaş faktörünün kadın ve erkek için önemli olduğu bilinmektedir. Ancak ilerleyen yaşla birlikte over rezervindeki azalma kadınlarda erkeklerdeki sperm kalite ve sayısındaki azalmaya göre daha belirgindir. Kadının fertilitesindeki düşüş 30'lu yaşlardan sonra yavaş yavaş kendini göstermeye başlar ve 37 yaşından sonra daha hızlı olarak azalır. Yaşın ilerlemesine bağlı fertilitede beklenen düşüş, infertiliteye sebep olan bozuklukların görülme sıklığındaki artış ve artan gebelik kayıpları düşünüldüğünde, 35 yaşın üzerindeki hastalar için 6 ay veya daha erken araştırılmaya başlanmalıdır. 40 yaşın üzerindeki hastalar için ise daha acil olarak araştırılmaya başlanmalıdır (30).

Kadın yaşı ilerledikçe elde edilen oosit ve embriyo sayısı ve kalitesinde azalma, embriyo fragmentasyonunda artma ve bunun sonucunda implantasyon başarısında azalma görülmektedir (31).

2.1.2.2. Ovulatuar Faktör

Ovulatuar disfonksiyon, üreme dönemindeki kızlarda ve kadınlarda sık görülür. Üreme sisteminin nöroendokrin komponenti olan hipotalamus, hipofiz ve ovaryan aksın aralıklı veya kronik olarak işlev görememesidir (32). Bunun sonucunda ortaya çıkan düzensiz menstrüel siklus, amenore, anovulasyon ve infertilite problemleri kadının yaşam kalitesini kötü etkileyebilir. Ovulatuar disfonksiyon kadın infertilitesinin yaklaşık %30-40'lık kısmından sorumludur. Kronik anovulasyon infertilitenin yaygın görülen bir sebebidir (33). Anovulasyon tanısı konulan bir hastada hipotalamus-hipofiz bozuklukları, polikistik over

sendromu (PKOS), prematüre over yetmezliği ve hipotiroidizm gibi hastalıklar akla gelmelidir (33).

2.1.2.3. Tubal Faktör

Kadın da tubal ve peritoneal kaynaklı sebepler infertilitenin en çok görülen sebeplerinden bir diğeridir. Görülme sıklığı yaklaşık %25-35 oranındadır (34). Hasta anamnezinde geçirilmiş pelvik enflamatuvar hastalık, rüptüre appendisit öyküsü, septik abortus, rahim içi araç kullanımı, endometriyosiz, tubal cerrahi veya ektopik gebelik öyküsü özellikle sorgulanmalıdır. Tanıda kullanılan en temel yöntemler histerosalpingografi (HSG) ve laparoskopidir (L/S). Kontrast madde kullanılarak yapılan HSG ile aynı zamanda uterus hakkında da bilgi edinilebilir. Uterin kavite ve tüplerde görülen dolum defekti ile tanıda fikir sahibi olunur. HSG tanı için kullanılmasının yanında terapötik etkisi de vardır (30).

2.1.2.4. Servikal Faktör

İnfertil kadınların yaklaşık % 5-10'un servikal faktör suçlanır. Oran olarak daha küçük bir kısmı oluştursa da serviks spermin oosit ile birleşme yolculuğundaki ilk geçit olması sebebiyle önemlidir. Burdaki hücrelerden üretilen mukusun kalitesinde meydana gelen bir değişim, enfeksiyon ve ya immünolojik nedenler fertilitede sorun yaratabilir (35). Hastanın anamnezinden elde edilen daha önceki bir anormal smear sonucu, geçirilmiş servikal cerrahi, postkoiatal kanama, kriyoterapi gibi uygulamalar servikal faktörü öne çıkarır (30). Mukus yeterliliğini ve sperm-mukus etkileşimini değerlendirmek için postkoital testten yararlanılır. Mukusun incelenmesinde hareketli spermatozoa görüldüğünde test pozitif kabul edilip servikal faktör düşünülmez (36).

2.1.2.5. Açıklanamayan İnfertilite

Merkezlere başvuran çiftlerin yaklaşık % 15'ine açıklanamayan infertilite tanısı konulmaktadır (37). Açıklanamayan infertilite, 1 yıl boyunca korunmasız cinsel ilişkiye rağmen, tanı konulmuş bir neden olmaksızın gebeliğin gerçekleşememesidir (38). Çoğunlukla hafif bir ovaryen stimülasyon tedavisi ile başlanıp intrauterin inseminasyon yapılarak gebe kalma zamanlaması iyileştirilir. Her ne kadar OHSS ve çoğul gebelik riski artsada, oosit sayısını arttırması sebebiyle

avantajlıdır. Son olarak IVF, oosit ve spermin karşılaşmasını sınırlayan bir takım engellerden şüpheleniliyorsa kullanılır. Tek embriyo transfer yöntemi kullanılarak çoğul gebelik riskini azaltılabilir (39). Açıklanamayan infertilitede olası nedenler şöyle sıralanabilir; anormal servikal sekresyonlar, bozulmuş endometrial reseptivite, bozulmuş tubal siliyal aktivite, defektif ovulatuar mekanizması, lüteinize unrüptüre follikül sendromu, ek hormonal anomaliler (örnek: luteal faz defekti), bozulmuş oosit ve/veya sperm fertilizasyon kapasitesi, orta düzeyde endometriozis, immünolojik faktörler, bozulmuş peritoneal makrofaj aktivitesi, bozulmuş pertoneal sıvı fonksiyonu, implantasyon başarısızlıklarıdır (40).

Açıklanamayan infertilite tanısı konulmadan önce, ovaryan disfonksiyonlar, uterin ve tubal bozukluklar ve anormal semen analiz testleri v.s. gibi sonuçların hepsi ekarte edilmelidir. Açıklanamayan infertilitede nedenin kaynağı bulunamadığından ampirik tedaviler uygulanır. Tedavi, her siklusta gebelik şansını artırmaya yöneliktir.

2.1.2.6. Endometriozis

Endometriozis, endometrial dokunun (gland ve stroma) uterus kavitesi dışında olmasıdır. Reprodüktif dönemdeki kadınlarda sık görülen bir hastalıktır (41). İnfertil kadınların neredeyse %25 ila 50'sinde endometriosiz gözlemlenir ve endometriozisli kadınların yaklaşık %30 ila 50'si bu sebepten fertilite problemi yaşar (42). Endometriozis, pelvik tabandaki birkaç küçük implanttan, geniş adezyon ve fibrozise, komşu organ tutulumlarına ve pelvis dışındaki bölgelerde lezyonlara kadar birçok anatomik bozukluğa sebep olan kronik inflamatuar bir hastalıktır (43). Hastalarda asemptomatik olarak da seyredebileceği gibi çoğu hastanın kronik pelvik ağrı, adneksiyel kitle ve kısırlık gibi kliniklerle başvurmalarına neden olabilir. Sıklıkla infertilite ile ilişkilendirilmesine rağmen, altta yatan mekanizmalar hala tam olarak bilinmemektedir (42).

Endometriozisli kadınlarda fertilite azalmasındaki olası nedenler (43) :

Adezyonlar
Disfonksiyonel uterotubal hareketlilik
Kronik intraperitoneal inflamasyon
Spermatozoa üzerindeki zararlı etkiler
Anti-endometrial antikorlar

Bozulmuş folikülogenez

Luteal faz kusurları

Progesteron direnci

Luteinize kırılmamış folikül

Endometrioziste, medikal tedaviyi öne çıkarıp ve tekrarlayan cerrahi işlemlerden kaçınmak amacıyla hastaya kişiselleştirilmiş bir tedavi planı gerekmektedir. Tedavi planı oluşturulurken kadın yaşı, infertilite süresi, pelvik ağrı ve endometriozisin evresi dikkate alınarak her bir kadın için bireysel olarak yapılmalıdır. Tedavi medikal, cerrahi veya bu iki prosedürün bir kombinasyonunu şeklinde olabilir (44). YÜT konusunda da aynı şekilde hastaya özel bir tedavi planı oluşturulmalıdır.

2.1.2.7. Polikistik Over Sendromu (PKOS)

Polikistik over sendromu (PKOS), kadınlarda sık görülen genetik ve çevresel faktörlerden etkilenen bir endokrin-metabolik bozukluktur. Hiperandrojenizm (klinik veya biyokimyasal), ovulatuar disfonksiyon (oligo-anovülasyon) ve polikistik overler gibi belirti ve bulgularla giden bir hastalıktır. Etiyolojisi hala net olarak bilinmemekte olup, tedavisi daha çok semptomatiktir (45). Daha çok hirsutizm, düzensiz adet döngüsü ve infertilite ile kendini gösterir. Bununla birlikte PKOS'lu hastalarda metabolik bozukluklar, kardiyovasküler hastalıklar, tip 2 diabetes mellitus (T2DM) ve endometriyal kanser görülme sıklığı artmıştır (46,47).

Rotterdam kriterlerine göre polikistik over tanısı için, belirtilen 3 kriterden en az ikisinin bulunması gereklidir. Bu kriterler ;

-Oligo ve/veya anovulasyon izlenmesi,

-Hiperandrojenizm klinik ve/veya biyokimyasal bulguların varlığı,

-Ultrasonografide polikistik overlerin görülmesi olarak belirlenmiştir (48).

PKOS, kadınların yaklaşık %70'inde anovulatuar kaynaklı infertilitenin nedeni olarak bildirilmektedir (49). Fertilite sonuçlarını iyileştirmek için ilk adım olarak daha çok dengeli kilo verme ve düzenli fiziksel aktivitelere odaklı yaşam tarzı değişiklikleri ve psikolojik sağlığın optimalize edilmesi önemlidir (50). Medikal tedavide seçenekler arasında letrozol, klomifen sitrat (CC), metformin ve gonadotropinler ile ovulasyon indüksiyonu yer alır. İn vitro fertilizasyon (IVF) ovulasyon indüksiyonuna yanıt alınamaması, tubal hasar, erkek infertilitesi gibi durumlar varlığında son seçenek tedavidir (51).

2.1.2.8. Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu (OHSS)

Over hiperstimülasyon sendromu (OHSS), belirgin over büyümesi, yüksek serum düzeyinde seks steroidleri ve ekstravasküler alana sıvı kaçışına bağlı eksüda birikimi ile seyreden iatrojenik bir sendromdur (52). Daha çok eksojen gonadotropin stimülasyonuna bağlı gelişir, diğer ajanların (klomifen sitrat (CC) gibi) kullanımı ile nadiren gözlenir (53). Patofizyolojisinde sıvının intravasküler boşluktan ekstravasküler boşluklara kaymasına neden olan artan kapiller geçirgenlik suçlanır. Dahil olan durumlar şöyle sıralanır;

- Hiperstimüle overlerden veya peritoneal dokudan protein içeriği zengin sıvı kaçağı veya salgısının artışı (54,55,56,57)

- Foliküler sıvı prorenin ve renin seviyelerindeki artış (58,59)

- Kılcal damar geçirgenliğindeki değişiklikler (59,60)

Yukarıda belirtilen patofizyolojik değişikliklere bağlı olarak üçüncü boşluklarda sıvı birikimi, intravasküler alandan sıvı kaçışına bağlı gelişen hemokonsantrasyon sonucunda hastada abdominal distansiyon, asit, elektrolit bozuklukları, hipovolemi, oligüri, plevral ve/veya perikardiak efüzyon, böbrek ve karaciger fonksiyonlarında bozulma, solunum güçlüğü, hemodinamik instabilite ortaya çıkabilir (61). OHSS risk faktörleri arasında genç yaş, düşük kilo, polikistik over sendromu (PCOS), yüksek doz ekzojen gonadotropin tedavisi, yüksek veya hızla yükselen serum E2 seviyeleri, OHSS öyküsü bulunur (53,61).

OHSS riskine karşı aşağıdaki sonuçlardan en az biri görüldüğünde dikkatli olunmalıdır;

- Serum E2 düzeyinin hızlı yükselmesi
- E2 konsantrasyonunun 2.500 pg/mL'yi aşması
- Çok sayıda orta büyüklükte foliküllerin (10–14 mm) gelişmesi (53)

OHSS riskine karşı tedavide alınabilecek önlemler ise;

-E2 seviyesi düşene kadar hCG uygulamasını geciktirmek(62,63)
-Daha düşük bir hCG dozu uygulamak (64)
-hCG kullanımı yerine GnRH agonisti kullanmak (65)
-Aynı siklusta transfer işleminin yapılmayarak tüm embriyoların dondurulması ve OHSS bulgularının görülmediği başka bir siklusta transfer işleminin yapılması (66).

2.2. Kriyoprezervasyon

Kriyoprezervasyon, hücrelerin veya dokuların -196 °C'lere kadar soğutulup tüm biyolojik aktivitelerinin durmasını sağlayarak canlılıklarının ve fizyolojik aktivitelerinin ileride kullanılmak saklanması prosedürüdür. Buradaki amaç sıfırın altındaki derecelerde canlı bir hücre veya dokunun, en az zararla ve işlev kaybı olmadan uzun bir süre saklanabilmesidir. Bu işlem YÜT'de herhangi bir sebeple oosit, sperm veya embriyoların saklanması gereken durumlarda (OHSS, anatomik veya hormonal nedenler, kanser, kemoterapi, genetik inceleme, ovaryen yetmezlikte fertiliteyi korumak amaçlı v.b) bu hücrelerinin başka bir protokolde çözdürülüp kullanılmasına avantaj sağlayarak fertilitenin devamı için bir fırsat sağlar (67). Bu yöntem ilk olarak 1770'li yıllarda Lazaro Spallanzani tarafından hayvan spermlerinin dondurarak saklanması ile kullanıldı (68). Daha sonra 1953'te Sherman ve Bunge tarafından dondurulup çözülme işlemi sonrası pozitif bir gebelik ve ardından canlı doğum ile sonuçlanan ilk insan spermatozoasının kriyoprezervasyonu rapor edildi (69). İlk hayvana ait embriyo kriyoprezervasyonu ise 1971'de Whittingham tarafından bildirildi (70). İnsanlardaki ilk embriyo kriyoprezervasyonu ise 1983'te sağlandı ve ilk canlı doğum 1984'te gerçekleşti (71,72). Dondurma prosedürü birçok komponentin birleşiminden meydana gelir. Bu komponentler dondurmada kullanılacak maddenin türü, yoğunluğu, maddenin uygulanma biçimi, soğutma, depolama, çözdürme ve maddenin ortamdan uzaklaştırılmasını kapsar (73).

2.2.1 Kriyoprotektanlar

Kriyoprotektanlar dondurma ve çözme işlemleri sırasında hücrelerin meydana gelebilecek zararlardan korunması amacıyla kullanılan kimyasal maddelerdir. Aynı zamanda bu maddeler hücreler için toksik etkili ajanlardır. Kriyoprotektanlar koruyucu etkilerini göstermek için mutlaka intrasellüler alanda bulunmaları gerekmez.

Kriyoprotektanlar, hücre içine girenler ve hücre dışında kalanlar olarak ikiye ayrılır. İntrasellüler olanlar küçük molekül ağırlığında ve biraz daha amfifilik olma özelliğine sahiptir. Hücre içindeki suya H2 bağı ile bağlanarak suyun donma sıcaklığını düşürürler (74). Aynı zamanda suyun hücre dışına akışını arttırarak hücre içinde dehidratasyona neden olurlar. Bu yollarla intrasellüler alanda buz kristalleri oluşumunu engellerler (75). Ayrıca dondurma solüsyonları en az bir adet intrasellüler kriyoprotektan içermek zorundadır. Ekstrasellüler olanlar ise hücre de dehidratasyonu sağlamak için hücre dışı ortamda ozmolariteyi artıran moleküllerdir (76). Hücre membranını osmotik değişikliklere karşı koruyup, çözdürme işlemi esnasında hücrenin aşırı şişmesine engel olurlar (77).

Tablo 3: Hücre içine nüfus etme özelliklerine göre kriyoprotektan türleri (78)

Hücre İçine Giren Kriyoprotektanlar	**Hücre Dışında Kalan kriyoprotektanlar**	
Dimetilsülfoksit (DMSO)	Makromoleküller	Sakkaritler
Gliserol	Dekstran	Glukoz
Etilen Glikol (EG)	Ficoll 70	Sükroz
Propilen Glikol (PROH)	Polivinilprolidon	Trehaloz
2,3 Bütanediol	Bovin serum albumin (BSA)	Galaktoz
Dimetilasetamid (DMA)	Mannitol	Raffinoz

Etkileri kullanılan kriyoprotektan cinsine ve dondurma protokolüne göre değişir. Standart dondurma prosedürlerinde en sık kullanılan ajanlar içerisinde dimetil sülfoksit (DMSO) ve gliserol yer alır (76). Yapılan bir araştırmada DMSO'nun dondurma esnasında -40 °C'de hücre membranındaki yapısal hasarları azaltabildiğini ve çözdürme sürecinde ısıya bağlı protein denatürasyonunu azaltabildiği göstererilmiştir (79). Gliserol ise örneklerin kademeli bir şekilde soğutulması esnasında hücrelerdeki suyun ozmotik akışını kolaylaştırdığı bulunmuştur (80). Dondurma protokolünde insan embriyolarının her döneminde kullanılabilen en uygun kriyoprotektan ajan DMSO'dur (71,81). Trehaloz, rafinoz gibi indirgeme özelliği bulunmayan sakkaritler hücrelerde koruma sağlayabilir ve standart intrasellüler kriyoprotektanlar bir alternatif olabilirler (76). Ekstrasellüler kriyoprotektanlardan galaktoz, sükroz veya trehaloz gibi sakkaritlerinde toksisiteyi en az seviyelere düşürebilen ajanlar olduğu bildirilmiştir (82).

Dondurma işleminde hücre de meydana gelebilecek hasarın başlıca sebepleri içerisinde ozmotik şok, buz kristali oluşumu, kriyoprotektanın toksik etkisi yer alır (83).

Tablo 4: Kriyoprezervasyon Basamakları (84)

● Hücre veya dokuların 0°C'nin altındaki sıcaklıklarda kriyoprotektan (KPA) solüsyon içinde muhafaza edilerek soğutulması
● -130°C'nin altında hücre veya dokuların korunup saklanması
● Çözdürme işlemi
● Kriyoprotektan ajanların uzaklaştırılması

2.3. Kriyoprezervasyon Yöntemleri

Kriyoprezervasyonda kullanılan yöntemler 3 temel gruba ayrılmıştır.

1) Klasik yavaş dondurma (slow-freezing)
2) Hızlı dondurma (rapid-freezing)
3) Vitrifikasyon (camlaştırma)

Bu kriyoprezervasyon yöntemleri arasındaki başlıca farklar, kullanılan kriyoprotektan ajanların konsantrasyonları ve uygulanan soğutma hızlarıdır.

2.3.1. Klasik Yavaş Dondurma (Slow Freezing)

Yavaş dondurma yöntemi sıcaklığın belirli hızlarda aşamalı olarak azaltılmasına dayalı bir prosedürdür. Aynı zamanda bu yöntemle daha az konsantrasyonda kriyoprotektan madde kullanılır. Bilgisayar üzerinden bir program yardımı ile hücre içinde buz kristali oluşumu, hücrenin dışında buz kristali oluşturularak önlenir.

Klasik yavaş dondurma tekniği sırasıyla şu adımlardan oluşmaktadır (85,86):

1) İlk olarak ozmotik dengeyi sağlamak amacıyla embriyolar oda sıcaklığında gliserol, DMSO, propilen glikol ya da etilen glikol gibi intrasellüler etki gösteren küçük molekül yapılı kriyoprotektanlardan birine ait solüsyona bırakılır,

2) Buz kristallerinin oluşumunun -5 ile -6°C'ler arasında indüklenerek kontrollü olarak başlatılır,

3) Embriyo dondurma programı yardımıyla soğutma hızı 0.2-2.0°C/dakika olacak şekilde kontrollü bir şekilde -30 ile -70°C'ler arasındaki bir sıcaklığa ulaşıncaya kadar kademeli yavaş soğutma sağlanır,

4) Belirlenen sıcaklığa ulaşıldığında, sıvı azot (-196°C) içerisine daldırılır ve saklanır.

Belirtilen her işlem, başarılı bir embriyo dondurma prosedürü için son derece önemlidir. Yavaş dondurma yönteminde hücrelerin 2 tip hasara maruz kalma riski vardır. Bunlar;

1) Soğutma işleminin çok hızlı olması halinde hücre içindeki suyun yeterince hücre dışına çıkamamasına bağlı olarak hücre içinde buz kristalleri oluşması ve hücrede hasar izlenmesi,

2) Soğutma işleminin çok yavaş olması halinde ise kriyoprotektana maruz bırakılma süresinin artmasıyla toksik etkisinden dolayı hücrede hasar meydana gelmesidir (87).

Dondurma işlemlerinde dondurulacak hücrelerin veya dokuların hasar almadan canlı kalma şansınlarını en üst düzeye çıkarmak için örnek hacmi, soğutma hızı, ısıtma hızı ve kriyoprotektan madde konsantrasyonları, hücre veya dokuların cinslerine göre optimize edilmelidir (88).

Neredeyse 20 yıl boyunca, intrasellüler kriyoprotektan olarak 1,5 M propilen glikol (PROH) ve ekstrasellüler kriyoprotektan olan 0,1 M sukrozun karışımından oluşan protokol en yaygın olarak kullanılan protokol olmuştur (89).

2.3.2. Hızlı Dondurma (Rapid Freezing)

Hızlı dondurma prosedürü, yüksek donma hızlarının (yaklaşık 1200-1250°C/dakika) uygulanmasından önce hücrelerin dehidre edildiği dondurma türüne denir. Bu işlemden sonra dondurulan örnek önce sıvı azot buharında çok kısa bekletilip ardından -196 °C sıvı azot içersine koyulur. Bu teknik ile olumlu bir sonuç alabilmek için DMSO, gliserol, etilen glikol veya propandiol gibi intrasellüler alana girebilen kriyoprotektanlardan birisinin 2 ile 4.5 M'lık ve laktoz, galaktoz, sükroz veya trehaloz gibi ekstrasellüler alanda kalan kriyoprotektanlardan birisinin 0.25 ile 0.5 M'lık konsantrasyonlardaki karışımlarından meydana gelen dondurma solüsyonlarının dahil edilmesi gereklidir (90,91).

Bu hızlı dondurma prosedüründe ekstrasellüler alanın ozmolaritesinde artma meydana gelebilir. Buna bağlı olarakta intrasellüler su ekstrasellüler alana geçiş yapar. Eğer çözdürme sırasında yanlış çözünme hızları uygulanırsa, hücre içinde buz kristalleri şekillenebileceğinden, hücre hasar görebilir (85).

2.3.3.Vitrifikasyon

Vitrifikasyon donma olayı olmadan ayrı bir fiziksel değişim sürecidir. Yüksek soğutma hızları kullanılarak hücrelerin, dokuların veya organların düşük sıcaklıklarda intrasellüler alanlarının tamamen vitröz veya camsı bir hal alması sağlanarak dondurulmasının amaçlandığı bir diğer dondurma yöntemidir. Uygulanan bu prosedür sayesinde dondurulacak örneklerde buz kristali oluşumu önlenmektedir. Literatürde vitrifikasyon yöntemi kullanılarak yapılan ilk deneme fare embriyoları üzerinde denenmiş ve olumlu sonuçlanmıştır (92). Yapılan bir bir çalışmada küçük boyutlardaki biyolojik örneklerin (örn. insan spermi) vitrifikasyonunun kriyoprotektan ajan olmadan çok yüksek bir soğutma hızı sağlanarak elde edilebileceği bulunmuştur (93). Ancak olumlu bir vitrifikasyon sonucu elde edebilmek için, ortamda çok yüksek bir yoğunlukta viskozite sağlanması gereklidir. Bu nedenle uygulanabilecek iki yol vardır. Bunlar;

1) Yüksek soğutma hızı uygulamak,
2) Düşük sıcaklık değerlerinde viskozitede artış sağlayan ve buz kristallerinin oluşmasını engelleyen kriyoprotektan ajan içeren solüsyonların kullanımıdır (94).

Bunlarla birlikte örnek dokunun hacmide soğutma hızını etkileyebilceği için ayrıca önemlidir. Vitrifikasyon prosedüründe payetlerin doğrudan sıvı azot içerisine bırakılmasıyla elde edilen en üst seviye dondurma hızı, 2500°C/dakika'ya ulaşabilmiştir. Strawlar içerisindeki örnek embriyo ve onların hücre zarlarında meydana gelebilecek hasarları engellemek amacıyla daha önce bahsedilen soğutma ve ısıtma oranlarının tamamıyla yapılamayacağı yapılan çalışmalar da gösterilmiştir (95,96). Bu yöntemde kriyoprotektan maddelerin konsantrasyonu klasik yavaş dondurmadaki konsantrasyonlarından yaklaşık olarak 2-3 katı daha fazla kullanılarak camlaşmanın elde edilebileceği gösterilmiştir (97). Kriyoprotektanların buz kristali oluşumunu ve hücre hasarını engellemekteki rolleri oldukça önemlidir. Her bir kriyoprotektan ajanın su molekülleri ile bağ oluşturabilme yeteneği farklı olması sebebiyle, vitrifikasyonda kullanılan kriyoprotektan türüne göre donma eğilimini azaltma ve camsı özellik kazanma oranı değişkenlik göstermektedir (85,98). Bununla

birlikte hızlı, yüksek soğutma işleminde vitrifikasyonun elde edilebilmesi için kriyoprotektan maddenin yüksek konsantrasyon da (>%30) bulunması gereklidir. Bu sebeple kriyoprotektan madde toksisitesi vitrifikasyonda önemli bir yere sahiptir (99). Yüksek konsantrasyondaki kriyoprotektan maddelerin hücreler üzerindeki bu toksik etkilerini en alt düzeye indirgeyebilmek için hücreye nüfus edebilen ve edemeyen olmak üzere iki veya daha fazla kriyoprotektanın birlikte kullanılması tekniğinden yararlanılmıştır (100).

Solüsyonların dondurma ve çözdürme işlemleri boyunca vitrifikasyon sağlanmasında gliserole kıyasla polietilen glikol ve 2.3 bütanediol gibi intrasellüler kriyoprotektan ajanlar hücrelere daha hızlı girebilmelerinden dolayı solüsyonlarda kullanılabilecek ideal maddeler olarak bulunmuştur (85). Ayrıca kriyoprotektanlar kritik ısınma oranlarını da etkileyebilir ve bu sayede devitrifikasyon riskini azaltabilirler. Devitrifikasyon, örnek çözeltinin ısıtılma işlemi sırasında yeniden buz kristali oluşumu ve şekillenmesi olayı olarak tanımlanır (87).

Vitrifikasyonda başarılı bir sonuç sağlamak için,

- Kullanılan kriyoprotektan maddenin düşük toksisiteli, küçük molekül ağırlıklı ve nüfus etme özelliğinin iyi olması,

- Solüsyondaki kriyoprotektan maddenin uygun bir konsantrasyonda olması,

- Dondurma işlemi düşük sıcaklıklarda yapılması,

- Hücrede meydna gelebilecek hasarları önlemek amacıyla ortam düzenleyicilerinin dahil edilmesi gerektirmektedir (95).

Vitrifikasyon prosedüründe yeterli hızda soğutma olmaması halinde buz kristalleri meydana gelerek camlaşmanın tam olarak oluşamaması durumu görülebilir. Bu durum çözdürmede hücrelerin zarar görmesine neden olur (101).

Vitrifikasyon prosedürünün avantajı, donmaya bağlı hasar riskinin düşük olması ve bunun sonucunda hücrede yüksek bir canlı kalma oranı sağlamasıdır. Ancak patojenik ajanlarla bulaş potansiyeli yüksektir (102). Embriyolar 1.günden 6.

güne kadar büyüme evrelerinin her döneminde dondurulabilmektedir. Blastokist ve oosit evrelerinde daha anlamlı sonuçlar için vitrifikasyon prosedürü kullanır. Erken klivaj ve PN evresindeki embriyolarda ise klasik yavaş dondurma prosedürü daha iyi sonuçlar vermiştir. Hızlı dondurma tekniği ise daha yaygın olarak sperm dondurma işlemlerinde kullanılır(103).

2.3.3.1.Sperm Kriyoprezervasyonu

Sperm kriyoprezervasyonu uzun yıllardır yardımcı üreme tekniklerinde kullanılmak üzere taşıma ve muhafaza etmeyi kolaylaştıran bir yöntemdir. Daha çok yavaş dondurma tekniklerinden yararlanılan sperm kriyoprezervasyonu yaygın olarak kullanılmakta olup hatırı sayılır sonuçlarla büyük hacimde örneklerin muhafaza edilmesine olanak sağlamaktadır (104). Bununla birlikte son yıllarda yapılan birçok çalışmanın sonucunda vitrifikasyon prosedürü de insan sperminin kriyoprezervasyonu için daha etkili hale gelmeye başlamıştır (105). İlk olarak 1953'te iki araştırmacı tarafından yapılan bir çalışmada ilk dondurulmuş sperm kullanılarak pozitif bir gebelik sonucu bildirildi (69). Yaklaşık 40 yıl kadar sıvı azotta bekletildikten sonra çözdürülüp kullanılan sperm örneklerinden canlı doğumlar da bildirilmiştir (106). Yardımcı üreme tedavilerinde erkek fertilitesinin koruması ve devam ettirilmesinde önemli yeri olan sperm dondurma prosedürünün başlıca nedenleri şu şekilde sıralanabilir (106);

- Kemoterapi, radyoterapi gibi spermatogenez üzerinde zararlı etkileri olan spesifik tedavi rejimleri alacak hastalar
- Tıbbi bir sebep veya hastalığa bağlı testis, prostat cerrahisi geçirecek olan hastalar
- Toplanan spermlerin başka bir tedavide kullanılmak üzere saklanması gereken durumlarda
- Ejakulatuar bozukluklara sahip olan hastalar
- Şiddetli oligospermisi olan hastalar
- ICSI/IVF tedavilerine hazırlanan çiftlerde TESE yöntemi ile önceden spermleri toplanan hastaların eşlerinin hazırlanma sürecini beklerken, bu aynı zamanda tekrarlayan cerrahi risk ve komplikasyonlarının azaltılmasında yararlıdır.

Sperm dondurma işlemlerinde sperm hücresinin yapı ve fonksiyonunda bozulmalar görülebilir. Son dönemlerde yayınlanan araştırmalarda yardımcı üreme tedavilerinde, sperm DNA'sında bozulmalar, döllenme sonrası elde edilen düşük kalitede embriyolar, rekürren implantasyon başarısızlıkları bildirilmiştir. Bununla birlikte pozitif gebelik sonucu elde edilen hastaların takiplerinde abort ve ya bebekte doğumsal kusurlarda eşleşmeler bildirilmiştir (107). Sperm DNA'sındaki bu bozukluğun başlıca sebebi sperm hücresinde meydana gelen oksidatif stresin bir sonucudur (108).

Ayrıca sperm canlılığı ve motilitesi üzerinde olumsuz sonucu olan bir takım enfeksiyonlar (viral, bakteriyel veya mantar enf. gibi) kriyoprezervasyon işlemi esnasında tehdit oluşturabilir (109).

Son dönemlerde yapılan 2428 yayınlanmış makaleyi içeren bir meta analize göre, vitrifikasyon yöntemi her ne kadar uygulanan protokol ve örneğin kalitesi ile değişkenlik göstersede, çözdürülme sonrasında sperm hareketliliğinde klasik dondurma yöntemine kıyasla daha iyi olduğu bulunmuştur (110). Yapılan küçük çaplı bir başka çalışmada ise, bu iki yöntemi karşılaştırmak için normal sperm bulguları olan erkekler yerine şiddetli oligoastenozoospermisi olan subfertil erkekler dahil edilip ve yalnız ekstrasellüler kriyoprotektanlardan yararlanılan vitrifikasyon yönteminin, klasik yavaş dondurma yöntemine ayrı bir seçenek olabileceği bulundu (111). Ayrıca bu dondurma çözdürme yöntemlerinde spermin canlılığı, sperm kalite ve özelliklerine de bağlıdır (105).

2.3.3.2.Oosit Kriyoprezervasyonu

Oosit kriyoprezervasyonu sadece in vitro fertilizasyon prosedüründe OHSS, anatomik, hormonal nedenler veya hastanın herhangi başka bir sebeple yumurtalarının bekletilmesi gereken durumlar da değil, aynı zamanda kadının fertilitesinin korunması ve devamı açısından da fayda sağlar (112). Kanser veya kemoterapi görenler, primer ovaryen yetmezliği olanlar, gebeliği ileri bir zamana ertelemek isteyenler, otoimmün hastalığı olanlar için fertilite potansiyelinin korunmasına katkıda bulunur. Ayrıca genetik inceleme testleri ve donör yumurta bankaları gibi hizmetlere yarar sağlar (113). Sperm ve embriyo kriyoprezervasyonunun yanında, oosit kriyoprezervasyonunun yakın döneme kadar

üzerine pek düşülmemiştir. Üreme hücreleri arasında metafaz II fazındaki oositler, büyük boyutları, yüzdesel olarak yüksek oranda su içermeleri, hücre membranı geçirgenliklerindeki farklılıklar, geniş yüzey alanına sahip olmaları ve mayotik iğciklerin olması gibi sebeplerden dolayı kriyoprezervasyona daha savunmasızdır. Bu yüzden kullanılan kriyoprotektan madde türü, konsantrasyonu, doğru soğutma/ısıtma hızları veya saklanma ortamlarında kriyoprotektana maruz kalma sıcaklığı ve süresi gibi kriyoprezervasyon işlemi sırasında geçilen her aşamanın ayrıca değerlendirilmesi önemlidir (114). Rutinde kullanılan iki yöntem klasik yavaş dondurma ve vitrifikasyon yöntemleridir. Vitrifikasyon yönteminin embriyolojik ve klinik sonuçlar bakımından daha iyi olduğunu gösteren ilk çalışmadan sonra birçok araştırmacı bu yöntemi kullanarak bir takım geliştirilmiş sonuçlar elde etmiştir (115,116).

2.3.3.3.Embriyo Kriyoprezervasyonu

Whittingham ve Wilmut'un 8 hücreli fare embriyosu üzerinde kriyoprezervasyon denemesinden sağladıkları başarıyla yayınlanan ilk raporlar 1971 yılına dayanmaktadır (70). Sonrasında Trounson ve Mohr, 1983 yılında insana ait dondurulmuş bir embriyo ile yapılan bir transferden pozitif bir gebelik sonucu aldılar (71). YÜT'te önemli bir yere sahip olan embriyo kriyoprezervasyonu hastaya uygulanan mevcut transferin başarısız olması, daha sonradan hastanın tekrar çocuk sahibi olmak istemesi veya embriyo transferinin riskli bulunup ertelenmesini gerektiren hallerde embriyoların saklanarak tekrar kullanılmasını sağlayan bir prosedürdür. Bunlara ek olarak genetik incelemeler açısından da olanak sağlar. Oosit ve sperm kriyoprezervasyonunda da açıklandığı gibi embriyolar içinde optimal dondurma/çözülme hızları, uygun bir kriyoprotektan ajan seçimi, saklama koşulları uygulanacak işlemin başarısını etkileyen önemli unsurlardandır. Uzun bir dönem dondurulacak embriyo aşaması olarak zigot ve erken bölünme aşamaları kullanılmıştır. Elde edilen zigotların sadece dörtte birinin sağlıklı olarak blastosist aşamasına ulaşabilmesi ve klinik getirilerinin düşük olması sebebiyle blastokist dondurma yöntemine uzun yıllar ara verilmiştir (117). İlerleyen teknoloji ile birlikte ko-kültür ve sıralı besiyeri gibi yeni geliştirilen embriyo kültür ortamlarının yardımıyla blastokist geliştirme başarısının %50-60'lara çıkması sonucunda

blastokist dondurma prosedürü son 8-10 yılda oldukça gelişme göstermiştir (118). Embriyo kriyoprezervasyonunda da klasik yavaş dondurma ve vitrifikasyon yöntemlerinden yararlanılır. Embriyoların çok hücreli ve hacim olarak büyük olmalarının getirdiği dayanıklı yapıları sayesinde dondurma ve çözdürmeye karşı daha az hassas olması ilk başlarda yavaş dondurma yönteminin daha yaygın ve başarılı olarak uygulanmasını sağlamıştır. Dünya çapında yaygın olarak kullanılmasına rağmen buz kristali oluşumu gibi tamamen önlenemeyen yan etkilerinden dolayı vitrifikasyon yönteminede başvurulmuştur (119). Yavaş dondurmaya kıyasla vitrifikasyon prosedürünün daha kısa sürede olması, az oranda sıvı nitrojen gerektirmesi ve kullanılan araçların düşük masraf tutması sebebiyle daha çok tercih edilebilir görünmektedir. Ancak yüksek konsantrasyonlardaki kriyoprotektan madde karışımları gerektirmesi sebebiyle toksisite, ozmotik şok gibi yan etkiler açısından endişe uyandırmaktadır (120). İnsan embriyolarının incelendiği 1984 ila 2006 yılları arasında yapılan bir litaratür taramasına göre vitrifikasyonun çözdürme işlemi sonrası sağlıklı kalan embriyolar açısından yavaş dondurmaya kıyasla daha iyi sonuçlar çıkardığı görülmektedir (121).

2.4. İnfertil Çiftlere Yaklaşım

Çocuk istemi ile başvuran çiftlerin değerlendirilmesinde ilk adım korunmasız, düzenli ve yumurtlama zamanı ile korele bir cinsel ilişkide bulunup bulunmadıklarını sorgulamaktır. İnfertilite tanımı kadın bireyin 35 yaş altında olması halinde 12 ay, 35 yaşın üzerine olması halinde 6 ay olarak belirlenen bir zaman diliminde çiftin çocuk sahibi olamamasını kapsar. Belli durumlar varlığında ise 6 aydan daha kısa bir süre içerisinde yardımcı üreme tekniklerine başvurulması gerekebilir (30). Bu durumlar şu şekilde sıralanabilir:

40 yaş üzeri kadınlar,
Oligomenoreik/amenoreik döngü tarifleyen kadınlar,
Kemoterapi/radyoterapi alacak kadınlar,
Evre 3 veya 4 endometriosizi olan kadınlar,
Uterus, over veya tubal hastalığı veya cerrahi öyküsü olan kadınlar, Kemoterapi/radyoterapi, testis cerrahi öyküsü olan veya cinsel işlev bozukluğu olan erkekler (122).

Ek bir özelliği olmayan genç çiftlere düzenli, yumurtlama zamanı ile korele bir cinsel ilişki hakkında eğitim verilebilir. Bunlarla birlikte yaşam tarzı değişiklikleri, kilo fazlası olan çiftlere kilo verme, sigara alışkanlığının bırakılması, alkol ve kafeinin azaltılması önerilebilir. İnfertilite kliniğine başvuran çiftler olabildiğince birlikte değerlendirilmelidir. İlk başvuruda çiftlere daha önce yapılan medikal veya cerrahi infertilite tedavileri hakkında bilgi edinmek önemlidir. Kadının öyküsü alınırken varsa daha önceki gebeliği, hastalıkları, geçirilmiş pelvik enfeksiyon veya cerrahi öyküsü, adet döngüsü özellikleri, doğum kontrol hapı kullanımı, koit sıklığı sorgulanmalıdır. Düzenli bir menstrüal siklus (her 21-35 günde bir olan) ve premenstrüal semptomlar (memelerde hassasiyet, ödem, duygudurum değişiklikleri vb.) sağlıklı bir ovulasyonun göstergesi açısından önemlidir. Oligomenore veya amenore tarifleyen hastada anovülasyon düşünülmelidir. Şiddetli dismenore, disparoni tarifleyen hastalarda endometriosiz olabileceği atlanmamalıdır. Erkeğin öyküsünde önceki fertilite öyküsü, geçirmiş olduğu hastalıklar (kafa içi travma, kabakulak vb.), geçirilmiş testis cerrahisi, cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar, sigara-alkol gibi madde bağımlılıkları ayrıntılı bir şekilde sorgulanmalıdır. Fizik muayene çiftin her ikisi içinde kapıdan girdiklerinde başlar. Primer amenore tarifleyen hastalarda fizik muayenede sekonder seks karakterleri ayrıca incelenmelidir. Hirşutizm, galaktore, akne, erkek tipi kellik, obezite veya Turner Sendromu bulguları dahil birçok faktör değerlendirilebilir. Ultrason muayenesinde ise olağan bulgular dışında herhangi bir ovaryan kitle, endometriosiz bulguları, myomlar, endometrial/servikal polip, uterin veya tubal anomaliler, enfeksiyon açısından dikkatle incelenmelidir. Erkekler için varikosel açısından muayene önemlidir (123).

2.4.1. Tanısal Tetkikler

İlk başvuruda çiftin öykü ve fizik muayenesi yapıldıktan sonra istenecek başlıca testler; erkek bireyin semen analizi, kadın bireyin ovulasyonunu değerlendirebilmek için adetin 2-4. günleri arasında hormonal testler (FSH, E2), over rezervi için herhangi bir zamanda bakılabilen anti müllerian hormon düzeyi (AMH) ile ultrasonda antral foliküllerin incelenmesi ve son olarak uterin ve tubal patolojiler açısından histerosalpingografi (HSG) çekilmesidir. HSG aynı zamanda tüpler ve

kavitedeki yapışıklıkları açarak tedavi edici etkileri olmasından dolayı uterus ve tüplerin değerlendirilmesinde ilk basamak tetkiktir. Bazı durumlarda herhangi başka bir neden bulunamaz veya uterin patolojiyi tam olarak saptayabilmek adına tanısal laparoskopi işlemi ile birlikte histerosalpingografi yapılabilir. Ovulasyonun daha kesin sonucu için adetin 21. gününde bakılan kanda progesteron düzeyi (3 ng/dL'nin üzerinde olması) testi yardımcı olabilir. Ultrason muayenesinde takip edilen düzenli büyüyen bir folikülün yumurtlama dönemine denk gelen bir zamanda kaybolması güçlü belirteçlerden biridir. Bunlara ek olarak daha geleneksel yöntemler olan bazal vücut sıcaklığı takibi, servikal mukustaki değişiklikler, endometrial biyopside tanıda yardımcı olur. Bazal vücut sıcaklığı takibi, endometrial biyopsiye göre daha basit, maliyeti düşük ve noninvaziv bir yöntem olması açısından daha avantajlıdır. Üriner LH seviyesi saptayan kitler ile evde de ovulasyon takibi yapılabilir.

Over rezervinin değerlendirilmesinde kesin tek bir tetkik yoktur. Adet döneminde bakılan FSH-Estrodiol düzeyleri, herhangi bir zamanda bakılan AMH düzeyi ve ultrasonda antral folikül sayımı rutinde daha çok kullanılan testlerdir.

Klomifen sitrat challenge testi (CCCT) ve inhibin B düzeyleri her siklusta farklılık göstermesi, CCCT'de ayrıca ilaç kullanılmak zorunda olunması sebebiyle eski popülerliklerini kaybetmiştir. AMH primer, preantral ve antral foliküllerde bulunan granüloza hücrelerinin sekrete ettiği glikoprotein yapıda bir hormon olup kadının mevcut oosit rezervi hakkında bilgi sağlar. Adetli veya adetsiz dönemlerden etkilenmemesi ekstra bir avantaj sağlar. Semen analizi 3-5 gün süren cinsel perhiz sonrası yapılıp 1 saat içerisinde laboratuvara ulaştırılmalıdır. Farklı zamanlarda farklı sonuçlar çıkabileceğinden en az 2 hafta arayla yapılmış iki semen analizi gereklidir. Testte bakılacak başlıca parametreler sperm konsantrasyonu, motilite ve morfolojisidir (22). Semen analizi için referans değerler WHO tarafından belirlenmiş olup Tablo 1 de gösterilmiştir. Anormal semen parametreleri endokrin, genetik, konjenital bozukluklardan veya ilaç kullanımı, çevresel toksinler, enfeksiyon ve geçirilmiş cerrahiler gibi edinilmiş sebeplere bağlı görülebilir. Oligospermi/azospermi varlığında endokrin bozukluklar açısından FSH, prolaktin, tiroid fonksiyon testlerine bakılmalıdır. Eğer hormon testleri normal gelirse bir retrogradejekülasyon şüphesi açısından ejekülasyon sonrası bir idrar testinden faydalanılabilir. Konjenital bozukluklar veya duktus sistemindeki bir tıkanıklığı

saptamak için vasogram, testiküler biyopsiden yararlanılabilir (123). Skrotal ultrason muayenesi varikosel gibi durumların dışlanması açısından önemlidir.

2.5. İnfertilite Tedavisi

İnfertilite dünya çapında milyonlarca çocuk sahibi olmak isteyen çift için önde gelen sorunlardan biridir. Yardımcı üreme tekniklerinin geliştirilmesi ve tatmin edici sonuçları ile birlikte tıbbi, psikososyal ve mali olarak bir yükün altına giren çiftlere umut ışığı olmuştur. İnfertilite nedenine göre tedavi medikal, cerrahi veya her ikisi birlikte yapılabilmektedir. Tedaviye başlarken hastanın sadece genital organlarına veya üreme sistemi hormonal bozukluklarına bakılmaksızın hasta bir bütün olarak muayene edilmelidir. Eğer mevcut kontrolsüz bir medikal hastalığı varsa tiroid bozuklukları, diyabet, obezite gibi ilgili branş hekimlerine yönlendirilerek multidisipliner yaklaşım benimsenmelidir. Özellikle diyabet ve obezitenin PCOS hastalarında sık görülmesi sonucu yapılan çalışmalarda kilo vermenin bu hasta grubunda gebelik şansını arttırdığı gösterilmiştir (124). Çiftin her ikisi için de geçerli olan sigara alışkanlığını bıraktırma, alkol-kafein kullanımını azaltma gibi yaşam tarzı değişiklikleri de önerilmelidir.

2.5.1. Ovulasyon İndüksiyonu

Ovulasyon indüksiyonu yardımcı üreme tekniklerine geçmeden önce ovulatuar fonksiyonu bozuk olan kadınlarda en az bir follikül geliştirebilmek için yaygın kullanılan bir tedavi türüdür. Başlıca kullanım endikasyonları şunlardır:

- Anovulatuar kadınlarda,
- Açıklanamayan infertilite veya erkek faktörü nedenli IUI yapılacak normoovulatuar kadınlarda
- IVF'te kontrollü over hiperstimülasyonu yapılacak hastalarda.

Ovulasyon indüksiyonunda kullanılan geleneksel bir ajan olan klomifen sitratın dışında gonodotropinler, GnRH analogları, aromataz inhibitörleri ve diğer adjuvan ajanlar kullanılmaktadır. Her hastanın tedavisi bireyselleştirilerek planlanır. Hipotalamik-pitüiter yetmezlik, disfonksiyon veya hipergonodotropik hipogonadizm

gibi etiyolojilere bağlı olarak kullanılan ajanların kombinasyonu değişkenlik gösterebilir.

2.5.1.1. Klomifen Sitrat

Klomifen sitrat hipotalamus ve hipofiz bezinde östrojenin negatif feedback mekanizmasını inhibe ederek etki gösteren seçici östrojen-reseptör modülatörü bir ajandır. Gonadotropin uyarıcı hormon sekresyonunu arttırması sonucu hipofiz bezinden folikül uyarıcı hormon (FSH) ve lüteinizan hormon (LH) sekresyonunu indükler. Bu hormonlar overlerde folikül matürasyonuna etkiyerek ovulasyonu destekler. Daha çok hipotalamik-pitüiter disfonksiyonlu hasta grubunda kullanılır. Uterus, serviks ve vajende antiöstrojenik etkilidir. Oral olarak alınır. Adetin 2-5. günlerinde 50 mg/gün olarak başlanılıp 5 gün süreyle kullanılır. Son dozdan 3-5 gün sonra düzenli koitusa başlanır. Ovulasyon olmayan hastalarda doz 50'şer mg olarak arttırılabilinir. Maximum doz 250 mg'a kadardır. Başarı oranı %70-80'lerde olan bir tedavidir. Yan etki olarak görme bozuklukları, sıcak basması, bulantı-kusma, baş ağrısı görülebilir.

2.5.1.2. Letrozol

Letrozol ilk olarak 1980'li yıllarda meme kanseri tedavisinde kullanılan bir aromataz inhibitörüdür. Sonraki yıllarda ilk olarak hayvanlar deneylerinde ovulasyon indüksiyonu amacıyla kullanılmıştır. İnsanlar üzerinde ilk olarak 2000 yılında PKOS hastalarında ovulasyonu arttırdığı gösterilmiştir (125). Östrojenin hipotalamustaki negatif etkisini azaltarak FSH sekresyonunun artmasını sağlar. Uterus ve serviks üzerinde olumsuz etkisi yoktur. OHSS ve çoğul gebelik riski klomifen sitrata göre daha düşüktür. Siklusun 3-7. günleri arasında 2.5-7.5 mg dozlar arasında 5 günlük kullanımı kapsar. Letrozol ayrıca östrojen bağımlı kanseri olan kadınların fertilitesini korumak ve DÇET sikluslarında endometriyumu implantasyona hazırlamak için de kullanılır(126). 2014 yılında yayımlanan çift-kör, çok merkezli bir çalışmada letrozol olan PCOS'lu hastalarda klomifen sitrat alanlara göre ovulasyon ve canlı doğum oranlarında yükseklik bulunmuştur (127). Yan etkileri klomifen sitrat ile benzerdir.

2.5.1.3. Ekzojen Gonodotropinler

Enjekte edilerek verilen bir ajan olan gonodotropinler, diğer ovulasyon indüksiyon ajanlarına dirençli veya kontrollü ovaryen hiperstimülasyon yapılacak hastalarda foliküllerin gelişimini destekleyen direkt overlere etkili ajanlardır. Özellikle hipotalamik-pitüiter yetmezliği olan hasta grubunda etkilidir. Ancak daha çok birinci basamak ajanlara dirençli PCOS'lu kadınlarda kullanılır. Tedavi protokolleri şu şekildedir:

1. Konvansiyonel Protokol
2. Düşük Doz Protokoller
    a. Step-up
        - Düşük Doz
        - Kronik Düşük Doz
    b. Step-down
    c. Ardışık Step-up/down

Konvansiyonel protokolde 150 IU dozda 5-7 gün kullanılır. Düşük doz protokollerinden "step-up" rejiminde 75 IU/gün gibi düşük bir doz ile başlanır, 7-14 gün kullanım sonrasında kanda östrojen düzeyi ölçülür. Östrojen seviyesine göre doz aynı kalır veya arttırılır. Maximum doz 225 IU'yi geçmemelidir. Hasta monitörizasyonu sık aralıklarla kanda östrojen seviyesi takibi ve ultrason muayenesi yardımıyla yapılır. Dominant folikül 16-18 mm çapa eriştiğinde hCG ile ovulasyon indüklenir. Kronik düşük doz rejiminde ise 37,5-75 IU/gün gibi daha düşük dozlarda başlanır. 7-14 gün kullanım sonrası doz daha düşük oranlarda arttırılmalıdır. Bu rejimde çoğul gebelik, multipl foliküler gelişim ve OHSS riski daha düşük olduğundan PCOS'lu hastalarda daha çok tercih edilir. Step-down rejimi normal vücut hormon düzeniyle koreledir ve 150 IU/gün doz ile başlanır. Gelişen folikülün boyutuna göre doz 37,5 IU/gün olarak azaltılır. Ardışık rejimde dominant folikülün boyutuna göre doz azaltımı yapılır. Gelişebilecek komplikasyonlar açısından hastaların sıkı ve düzenli takibi önemlidir. Özellikle PCOS hastalarında OHSS gelişme riski yüksek olduğundan takip ayrıca önem kazanmaktadır. Tedavinin iptal edilmesi gereken durumlar şu şekilde sıralanabilir:

Estradiol seviyesinin 1000 pg/mL üzerine çıkması,
Çapı 16 mm'den büyük 2 ve üzeri folikül olması,
Dominant folikül elde edilememesi,
Prematür Luteinizasyon.

2.6. Yardımcı Üreme Teknikleri

Yardımcı üreme teknikleri infertilite tedavilerinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Tarihte IVF ile sağlanan ilk gebelik 1976 yılında gerçekleşmiştir (71). Artan bilimsel gelişmeler ile birlikte YÜT'deki başarı ve uygulama sıklığı giderek artmaktadır.

Tablo 5: Yardımcı Üreme Teknikleri

IUI	İntrauterin İnseminasyon
IVF	İn-vitro Fertilizasyon
ICSI	İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu
DÇET	Donmuş-Çözdürülmüş Embriyo Transferi
GIFT	Gamet İntrafallopian Transfer
ZIFT	Zigot İntrafallopian Transfer
TET	Tubal Embriyo Transfer
TESE, TESA, MESA, PESA	Azospermik hastada sperm elde etme işlemi

2.7. Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon

Kontrollü over hiperstimülasyonu (KOH) YÜT'te başlıca kullanılan vazgeçilmez yöntemlerden biridir. Ovulasyon indüksiyonuna kıyasla tek bir folikül gelişimi değil, yüksek kalitede ve multipl folikül gelişimi amaçlanır. Böylelikle fertilizasyon için uygun çok sayıda oosit elde edilmesi amaçlanarak sağlıklı embriyo oluşturma şansı arttırılır. KOH endikasyonları açıklanamayan infertilite, erkek faktörü, hipotalamik pitüiter yetmezliği olan veya disfonksiyonu olan hasta grupları olarak sıralanabilir. KOH tedavi rejimleri uzun ve kısa rejimler olarak ikiye ayrılır. Tedavi rejimi seçiminde hasta yaşı, over rezervi, infertilite tipi ve süresi, daha önceki infertilite tedavileri ve diğer ilgili olabilecek patolojiler göz önünde bulundurularak yapılmalıdır.

Uzun protokolde, bir önceki adet döneminin luteal fazının ortasına denk gelen bir zamanda tedaviye başlanır. GnRH agonist rejimi bu protokolde sık kullanılır. Hipotalamo-hipofizier aksı baskılayarak FSH ve LH salgısının azaltır. Bunun sonucunda hastada vajinal kanama görülür. Tedaviden yaklaşık 14 gün sonra kanda estradiol değeri 50 pg/mL'nin altına indiğinde veya ultrasonda 10 mm çaptan büyük folikül görülmüyorsa baskılanmanın olduğu tastiklenir. Eğer baskılanma olmamışsa agonist tedavisine devam edilebilir veya doz arttırılabilir. İndükleme aşamasında, hMG veya FSH foliküler matürasyonu tetiklemek için, subkutan olarak 225-300 IU/gün dozda uygulanmaya başlanır. Olası bir LH pikine karşı GnRH agonisti düşük bir dozda devam ettirilir. Daha sonrasında gonodotropin tedavisinde olduğu gibi kanda estradiol değeri ölçümleri ve sık ultrason muayenesi takipleri ile doz ayarlamaları yapılır. Uzun protokolde FSH salgısının azaltılması ile, FSH'ın dominant folikül seçilimini ve tek folikül gelişimini indükleme rolünün engellenmesiyle çok sayıda folikül gelişimi amaçlanır. LH salgısının azaltılmasıyla da, oluşabilecek LH piklerinin önüne geçilerek ovulasyonun ve prematür luteinizasyonun önüne geçilmesi amaçlanır (128).

Tablo 6: GnRH Agonistleri Doz Şekilleri

GnRH Anoloğu	**Kullanım Yolu**	**Standart Doz**	**Minidoz**	**Ultraminidoz**
Leuprolide Asetat	Subkutan	2 - 1 mg	1 - 0,5 mg	0,5 - 0,25 mg
Nafarelin Asetat	İntranazal	1200 - 600 ugr	800 - 400 ugr	400 - 200 ugr
Buserelin Asetat	Subkutan/İntranazal	900 - 450 ugr	600 - 300 ugr	-
Triptorelin	Subkutan	500 - 100 ugr	300 - 100 ugr	-

Kısa protokolde ise GnRH agonistleri, GnRH antagonistleri veya gonodotropinlerin çeşitli kombinasyonlarından yararlanılır. GnRH agonisti + Gonodotropin rejiminde, GnRH agonistinin uzun dönem kullanımda getirdiği negatif etkisinin yerine kısa süre kullanımıyla overler üzerinde pozitif etkili indükleyici etkisinden yararlanılır. "Co-flare" protokolü olarak adlandırılan bu rejimde adet başlangıcıyla GnRH agonistine başlanır hemen ardından gonodotropinler tedaviye eklenir. GnRH anoloğunun baskılayıcı etkisinin 1 haftanın sonunda başlaması beklendiğinden 6. günden itibaren dozu azaltılarak devam edilir. GnRH antagonist rejimlerinde ise 2 ayrı yol izlenebilir. Önce gonodotropin başlanıp 6. günde direkt GnRH antagonisti eklenip devam edilebilir ya da takiplerde folikül çapı 13-14mm'e erişmesiyle GnRh antagonisti eklenip devam edilebilir. Antagonist rejimi, aşırı over yanıtı oluşturabilecek hastalarda (OHSS kliniği gibi) veya over rezervi çok düşük olan hastalarda avantaj sağlamaktadır. 2009 yılında yayınlanan randomize kontrollü 220 hasta üzerinde yapılan bir çalışmaya göre antagonist rejimde, agonist rejime göre daha düşük OHSS riski, kullanılan gonodotropin sürenin daha kısa olması ve buna bağlı olarak maruz kalınan dozun daha az olduğu bulunmuştur. Ancak gebelik başarılarının benzer olduğu kaydedilmiştir (129). Ayrıca çok kısa sürede başlayan

endojen FSH ve LH'ı azaltma etkisi sebebiyle siklusta en büyük endişe verici olan LH piki korkusunun önüne geçilebilmektedir.

2.8. Ovulasyon Tetiklenmesi

Uygulanan KOH protokolü sonucunda ultrason muayenesinde en az 2 folikülün 18 mm çapa eriştiği görüldüğünde veya kanda estradiol düzeyinin her bir olgun folikül için 200 pg/mL'ye ulaşması halinde tetikleme işlemine geçilir. Ovulasyon tetiklenmesindeki asıl amaç oositin metafaz-2 aşamasına geçmesini sağlamaktır. Bunun için üriner HCG, rekombinant LH preparatı veya GnRH analoglarının indükleyici etkisinden yararlanılır.

2.9. Oosit toplama ve Fertilizasyon

Oosit toplama işlemi transvajinal, abdominal veya laparoskopik yöntemlerle yapılabilir. Rutinde daha çok transvajinal yöntem tercih edilir. Bu işlemin ardından en uygun oosit ve spermatozoalar optimum koşullarda altında uygun bir ortama aktarılır. Döllenme başarısızlığı durumlarında ICSI yöntemi kullanılabilir.

2.10. Luteal Faz Desteği

Luteal faz döneminde granüloza hücrelerinden sekrete edilen progesteron endometriyumu kalınlaştırıp, damarlaşmayı arttırarak gebeliğe hazırlar. KOH siklusları, oosit toplama gibi işlemler sebebiyle LH salgısının azalması, Estradiol/progesteron oranındaki uyumsuzluk, korpus luteum ve folikül hücrelerinin OPU sırasında hasar almasına bağlı düzgün işlev görememesi sonucu progesteron sekresyonunu azalttığı düşünülür. Progesteron takviyesi implantasyona hazırlanan bir endometriyum için önem taşır. Bu sebeple transfer edilen embriyonun endometriyuma implantasyonunu sağlamlaştırmak amacıyla yapılan bir prosedürdür (130). Progesteron takviyesine rutinde embriyo transfer günü veya OPU gününde başlanabilmektedir (131). Tedavi rejimleri progesteron, HCG preparatı, GnRH analogları veya östrojenin progesteron ile kombine verilmesi olarak ayrılabilir.

Progesteron takviyesinde birçok yol tercih edilebilir. Oral yoldan (300-800 mg/gün), vajinal tablet olarak (100-600 mg/gün), vajinal jel formunda (90 mg/gün) veya kas içine enjeksiyon (25-50 mg/gün) şeklinde verilebilir. HCG uygulamasında

ise 1500-2500 IU enjeksiyon 3 gün aralıklarla uygulanabilir.

Bu tedavilerin ne kadar süre boyunca uygulanacağı konusunda net bir görüş yoktur. Kanda bakılan BHCG'nin pozitifleştiğini gördüğünde veya sağlıklı bir gebelik kesesi görüldükten sonra 12.haftaya kadar devam etmeyi tercih eden klinisyenler vardır.

2.11. Embriyo Yönetimi

Embriyo kültürlerinin en uygun koşullarda yapılması, en kaliteli embriyoyu seçmek ve transfer koşullarını iyileştirmek IVF tedavilerinde önemli yer taşır. Embriyonun canlılığını devam ettirebilmesi ya da endometrial yüzeye tutunabilmesi için sekiz hücreli aşamaya (3. gün) ulaşması gerekir. Embriyonun blastokist safhasına ulaşması için 5 gün geçmesi gereklidir. Rutinde yaygın olarak 2. ve 3. gün embriyoların transferi yapılır. Transfer edilecek embriyo sayısı ülkeler arasında farklılık gösterebilir. Ülkemizde transfer edilecek maximum embriyo sayısı 2'dir. Bu sayı hastanın yaşına, infertilite nedenine, daha önce uygulanan tedavilere göre belirlenmektedir. Embriyolar bir kateter yardımı ile uterin kaviteye veya fallopi tüplerine bırakilabilir. Çoğunlukla vajinal yol tercih edilir. Fundusa varmadan birkaç cm önce transfer işlemi gerçekleştirilir ve böylece mekanik etkiye bağlı tepkisel kasılma önlenmiş olur. Bunun nedeni embriyonun düzgün bir tutunma sağlanması ve ektopik yerleşiminin önlenmesi amacıyladır.

Transfer başarısını etkileyebilecek nedenler arasında ultrason aracılığıyla prosedürün gerçekleşmesi, uygulayacak klinisyenin tecrübesi, ortam koşulları, kullanılan kateterin türü sayılabilir (132).

2.12. Dondurulmuş Embriyo Transferi

Embriyo kriyoprezervasyonu, YÜT işlemleri sonucunda elde edilen fazladan embriyoların veya mevcut siklusta transfer edilemeyecek embriyoların dondurularak saklanması prosedürüdür. Daha güvenli dondurma tekniklerinin geliştirilmesi, yeni çalışmalar sonucunda "Freeze-all" gibi yeni rejimlerin denenmeye başlaması ile birlikte DÇET döngüleri dünya genelinde artmaya başlamıştır. Dondurulmuş embriyo transfer endikasyonları şu şekilde sıralanabilir:

- Mevcut sikluslarda fazladan embriyo elde edilmesi,
- Transfer için endometriumun çok ince olması,
- Beklenmeyen vajinal kanama olması,
- KOH protokolleri sonucunda OHSS kliniği gelişmesi,
- Transfer döneminde medikal veya cerrahi girişim gerektirecek rahatsızlığa sahip olma,
- Hormonal bozukluklar,
- Genetik testlere olanak sağlanması,
- Birtakım sosyal nedenler.

2.13. Dondurulmuş Embriyo Transferinde Endometrium Hazırlığı

Dondurulmuş çözülmüş embriyo transfer protokollerinde embriyo transferi yapılmadan önce endometrium hazırlanmalıdır. Bunun için doğal fizyolojisinde olduğu gibi öncelikle endometrium östrojen yardımıyla dolgunlaştırılması, ardından "implantasyon penceresi" ni açabilmek için de tedaviye progesteron eklenmesi gerekmektedir (131). Bu amaçla doğal siklus, modifiye siklus veya hormonal tedavilerin (HT) uygulandığı sikluslardan yararlanılır. Günümüzde DÇET sikluslarındaki yaygınlaşmaya rağmen hala endometriyum hazırlığında hangi tedavi rejiminin daha iyi olduğu tartışmalıdır (131). Doğal siklusta, spontan olarak, hastalara ek bir tedavi verilmeksizin günlük LH seviyeleri takip edilir. Modifiye siklusta ise doğal siklustan farklı olarak hastanın ovulasyon zamanını kontrol altında tutabilmek amacıyla hCG tetiklemesi yapılır. Bu tedaviler anovulasyonu olmayan, adet döngüsü düzenli olan hastalarda yapılabilmektedir. Hormonal tedavi rejimi ise anovulasyonu olan veya olmayan, adet döngüsü düzenli olup olmamasına bakılmaksızın her hastada yapılabilmektedir (133). Endometrium hazırlığı için normal fizyoloji de olduğu gibi önce proliferatif fazı desteklemek amacıyla adetin ilk günü östrojen verilir. Östrojen takviyesinde vajinal, oral veya transdermal yollar kullanılabilir. Ardından sekretuar fazı desteklemek için endometrium kalınlığı 7-9 mm olduğunda tedaviye progesteron eklenir. Bu tedavide nörohormonal aksta tam anlamıyla bir baskılanma gerçekleşmezse olası bir LH piki ve bunun sonucunda ovulasyon meydana gelebilir. Bu durumu önlemek amacıyla tedavi rejimine GnRH agonistleri eklenebilir (133,134).

3. GEREÇ VE YÖNTEMİ

Çalışmamız retrospektif bir araştırma olup 2017-2022 yılları arasında T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü İnfertilite ve Tüp Bebek Kliniği'nde dondurulmuş-çözülmüş embriyo transfer (DÇET) tedavisi uygulanan 300 hastanın verilerinin, etik kurul izinleri kapsamında incelenmesi ile yapılmıştır. Dondurulmuş-çözülmüş embriyo transfer sikluslarında (DÇET) başarıyı etkileyen faktörleri belirlemek amacıyla yaptığımız çalışmada 19-48 yaş arasında; düşük over rezervi, male faktör, açıklanamayan infertilite, tubal faktör endikasyonlarını bulunduran tüm hastalar dahil edilmiştir. Hastaların yaş, vücut kitle indeksi, infertilite nedeni, infertilite derecesi, DÇET yapılma nedeni, KOH protokolünde uygulanan tedavi türü, uygulanan tedavi dozu, embriyonun transfer edildiği günü, hastanın başlangıç FSH, LH, AMH ve prolaktin düzeyi, progesteron düzeyleri, OPU günü toplanan toplam oosit, M1, M2, GV aşama oosit sayıları, dondurulan embriyo sayısı, embriyo dondurulma günü, embriyo kalitesi, transfer edilen embriyo sayısı, endometrium kalınlığı ve eşinin sperm sayısı parametreleri değerlendirilmeye alınarak dondurulmuş-çözülmüş embriyo transfer sikluslarında gebelik sonucunda başarıya etkileri araştırılmıştır.

3.1. ARAŞTIRMAYA DAHİL ETME VE DIŞLANMA KRİTERLERİ

Çalışmamıza hasta dahil etme kriterlerimiz; hastanemizin infertilite ve tüp bebek kliniğinde 2017-2021 yılları arasında, uygulanan KOH protokolleri yardımıyla IVF tedavisi uygulanan 19 ile 48 yaş aralığındaki dondurulmuş çözülmüş embriyo tranferi yapılan hastalardır. Dışlama kriterlerimizden; hipotalamik-hipofiz-adrenal eksen bozukluğu olan, ince endometrium veya herhangi bir endometrial patolojisi olan, daha önce kemoterapi/radyoterapi alan, embriyo gelişmeyen ve ya taze embriyo transferi yapılan hastalar çalışma dışı tutulmuştur.

3.2. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan en düşük, en yüksek, frekans ve oran değerleri kullanılmıştır. Değişkenlerin dağılımı kolmogorov simirnov testi ile ölçülmüştür. Nicel bağımsız verilerin analizinde

ANOVA (Tukey test), bağımsız örneklem t test, Kruskal-wallis, mann-whitney u test kullanılmıştır. Nitel bağımsız verilerin analizinde ki-kare test, ki-kare test koşulları sağlanmadığında fischer test kullanılmıştır. Analizlerde SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 28.0 programı kullanılmıştır. P-değerinin 0.05'in altında bulunan sonuçlar istatistiksel açıdan anlamlı sonuçlar olarak değerlendirilmiştir.

3.3. ETİK KURUL İZNİ

Çalışmamız T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu'nun 30.09.2022 tarihli ve 299 nolu kararı ile etik onayını almıştır. Araştırma için toplanan hastalara ait tüm veriler sadece bilimsel araştırmamız için kullanılmış olup herhangi bir üçüncü şahıs ve ya kurumlar ile paylaşılmamıştır.

4. BULGULAR

T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü İnfertilite ve Tüp Bebek Kliniği'nde 2017-2022 yılları arasında dondurulmuş-çözülmüş embriyo transfer (DÇET) tedavisi uygulanan 300 hastanın verileri retrospektif olarak araştırılmıştır. DÇET sikluslarını etkileyebilecek parametrelerden yaş, vücut kitle indeksi, infertilite nedeni, infertilite derecesi, DÇET yapılma nedeni, KOH protokolünde uygulanan tedavi türü, uygulanan tedavi dozu, embriyonun transfer edildiği günü, hastanın başlangıç FSH, LH, AMH ve prolaktin düzeyi, progesteron düzeyleri, OPU günü toplanan toplam oosit, M1, M2, GV aşama oosit sayıları, dondurulan embriyo sayısı, embriyo dondurulma günü, embriyo kalitesi, transfer edilen embriyo sayısı, endometrium kalınlığı ve eşinin sperm sayısı kullanılmıştır. İlk olarak tüm hastalar gebelik sonucunun pozitif ve negatif olmasına göre iki gruba ayrılarak parametreler değerlendirilmiştir. Bununla birlikte transfer edilen embriyo sayısının çift olmasının tek embriyo transferine göre gebelik başarısında oransal olarak direk artış sağlayabileceği gerekçesiyle hastalar ayrıca tek ve çift embriyo transferi yapılan gruplar olarak da ikiye ayrılarak parametreler tek tek değerlendirilmiştir.

DÇET protokolü uygulanan 300 hastanın değerlendirilmesinde yaş ortalaması 31.5 ± 4.9'dur. Vücut kitle indexleri 25.9 ± 4.2 kg/m2 olarak bulunmuştur. Hastalara ait değerlendirilen diğer klinik parametrelerin istatistikleri aşağıdaki tabloda yer almaktadır (Tablo 7).

Tablo 7: Demografik Özelliklerin İstatistikleri

Tablo-7

	Min-Mak	Medyan	Ort.±ss/n-%
Yaş	19.0 - 48.0	31.0	31.5 ± 4.9
BMI	16.9 - 46.0	25.7	25.9 ± 4.2
DÇET Nedenleri			
OHSS			118 39.6%
Uterin Anomali			53 17.8%
Fazla Embriyo			102 34.2%
Hormonal			18 6.0%
Anormal Uterin Kanama			6 2.0%
Genetik İnceleme			1 0.3%
Sperm Sayısı	0.0 - 36.4	3.8	5.7 ± 6.4
Tedavi Dozu	300 - 6750	2700	2959 ± 1208
Transfer Edildiği Gün	1.0 - 6.0	4.0	4.1 ± 1.2
İnfertilite Derecesi			
Primer			239 80.2%
Sekonder			59 19.8%
FSH Düzeyi	4.0 - 23.0	7.0	9.3 ± 4.8
LH Düzeyi	0.3 - 51.7	4.3	5.2 ± 4.4
PRL Düzeyi	1.9 - 263.0	16.0	19.7 ± 20.6
AMH Düzeyi	0.0 - 27.6	4.0	4.9 ± 4.0
İnfertilite Nedeni			
DOR			51 17.1%
Male Faktör			107 35.9%
Açıklanamayan			122 40.9%
Tubal Faktör			17 5.7%
Genetik İnceleme			1 0.3%
Toplanan OOSİT Sayısı	0.0 - 45.0	13.0	14.3 ± 8.4
M1 Kalite OOSİT Sayısı	0.0 - 11.0	0.0	0.83 ± 1.73
M2 Kalite OOSİT Sayısı	1.0 - 39.0	10.0	10.9 ± 6.5
GV Kalite OOSİT Sayısı	0.0 - 12.0	0.0	1.12 ± 1.89

BMI: Body mass index, DÇET: Dondurulmuş çözülmüş embriyo transferi, OHSS: Ovaryen hiperstimülasyon sendromu, AUK: Anormal uterin kanama, FSH:Foliküler stimülan hormon, LH: Luteinizan hormon, PRL: Prolaktin, AMH: Antimüllerian hormon, DOR: Düşük over rezervi.

DÇET yapılma nedenleri arasında en yüksek oran %39.6 ile OHSS kliniğidir. En az görülen endikasyon ise %0.3 ile genetik inceleme nedenli faktörlerdir. DÇET yapılan hastalar arasında primer infertilitesi olanlar %80.2 ile sekonder infertilitesi olanlardan (%19.8) daha yüksek çıkmıştır. İnfertilite nedenleri arasından açıklanamayan infertilite %40.9 ile en yüksek, ikinci sırada ise male faktör %35.9 gelmektedir. Genetik inceleme, DÇET yapılan hastalar içerisinde infertilite nedeni olarak %0.3 ile en düşük bulunmuştur (Tablo 7). Hastalarda uygulanan tedavi türü olarak Antagonist protokol %52.3 ile daha yüksek orandadır. Genel analizde pozitif gebelik sonucu %26.8, negatif gebelik sonucu ise %73.2 olarak saptanmıştır. Dondurulan embriyo sayısı ortalaması 4.3 ± 2.4, dondurulma günü ortalaması 3.5 ± 1.1, transfer edilen embriyo günü ortalaması 4.1 ± 1.2, endometrium kalınlığı ortalaması 9.2 ± 2.5 şeklinde bulunmuştur. Tek embriyo transferi yapılan hasta sayısı oranı %65.8 ile daha yüksektir (Tablo 8).

Tablo 8: Demografik Özelliklerin İstatistikleri

Tablo-8

		Min-Mak	Medyan	Ort.±ss/n-%	
Uygulanan Tedavi Türü					
Oks Long Protokol				142	47.7%
Antagonist Protokol				156	52.3%
Gebelik Sonucu	(+)			80	26.8%
	(-)			218	73.2%
Embriyo Gradi					
İyi Kalite				204	68.5%
Orta Kalite				94	31.5%
Dondurulan Embriyo Sayısı		1.0 - 17.0	4.0	4.3 ± 2.4	
Dondurulma Günü		1.0 - 6.0	3.0	3.5 ± 1.1	
Progesteron Düzeyi		0.0 - 1.5	0.5	0.6 ± 0.9	
Endometriyum Kalınlığı		4.0 - 16.0	9.0	9.2 ± 2.5	
Transfer Edilen Embiyo Sayısı	I			196	65.8%
	II			102	34.2%

Gebelik sonucu pozitif ve negatif olan gruplar arasında hastaların yaşı, DÇET yapılma endikasyonları, sperm sayısı, uygulanan tedavi dozu ve türü, embriyo transfer günü, infertilite derecesi, FSH, LH, prolaktin, AMH, progesteron düzeyleri, toplanan M1, M2 ve GV kalite oosit sayıları, embriyo gradisi, dondurulan embriyo

sayısı, embriyo dondurulma günü ve endometrium kalınlığı arasında anlamlı bir farklılık gösterilmemiştir (p > 0.05) (Tablo 9,10).

Tablo 9: Gebelik Sonuçlarına Göre Klinik Parametrelerin Karşılaştırılması

Tablo-9

	Gebelik Sonucu (+)		Gebelik Sonucu (-)		p	
	Ort.±ss/n-%	Medyan	Ort.±ss/n-%	Medyan		
Yaş	31.7 ± 4.5	31.0	31.5 ± 5.1	31.0	0.818	t
BMI	25.5 ± 4.2	25.5	26.9 ± 4.0	26.2	***0.016***	t
DÇET Nedenleri						
OHSS	36 45.0%		82 37.6%		0.248	x^2
Uterin Anomali	11 13.8%		42 19.3%		0.270	x^2
Fazla Embriyo	27 33.8%		75 34.4%		0.916	x^2
Hormonal	4 5.0%		14 6.4%		0.648	x^2
AUK	2 2.5%		4 1.8%		0.661	x^2
Genetik İnceleme	0 0.0%		1 0.5%		1.000	x^2
Sperm Sayısı	5.9 ± 6.4	4.0	5.6 ± 6.5	3.6	0.618	m
Tedavi Dozu	2911 ± 1210	2676	2977 ± 1210	2700	0.675	t
Transfer Edildiği Gün	4.1 ± 1.2	4.0	4.1 ± 1.2	4.0	0.846	m
İnfertilite Derecesi						
Primer	62 77.5%		177 81.2%		0.478	x^2
Sekonder	18 22.5%		41 18.8%			
FSH Düzeyi	8.7 ± 5.1	6.5	9.5 ± 4.8	8.0	0.434	m
LH Düzeyi	5.1 ± 3.0	4.2	5.3 ± 4.8	4.3	0.978	m
PRL Düzeyi	17.9 ± 8.7	16.9	20.3 ± 23.5	16.0	0.721	m
AMH Düzeyi	5.6 ± 4.6	4.3	4.7 ± 3.8	3.8	0.132	m
İnfertilite Nedeni						
DOR	9 11.3%		42 19.3%		0.103	x^2
Male Faktör	26 32.5%		81 37.2%		0.458	x^2
Açıklanamayan	42 52.5%		80 36.7%		***0.014***	x^2
Tubal Faktör	3 3.8%		14 6.4%		0.378	x^2
Genetik İnceleme	0 0.0%		1 0.5%		1.000	x^2
Toplanan OOSİT Sayısı	14.7 ± 8.1	14.0	14.2 ± 8.5	12.5	0.651	t
M1 Kalite OOSİT Sayısı	0.9 ± 1.6	0.0	0.8 ± 1.8	0.0	0.306	m
M2 Kalite OOSİT Sayısı	11.5 ± 6.0	10.5	10.7 ± 6.6	9.0	0.371	t
GV Kalite OOSİT Sayısı	1.1 ± 2.0	0.0	1.1 ± 1.9	0.0	0.931	m

[m] Mann-whitney u test / [t] Bağımsız Örneklem t test / [x^2] Ki-Kare test

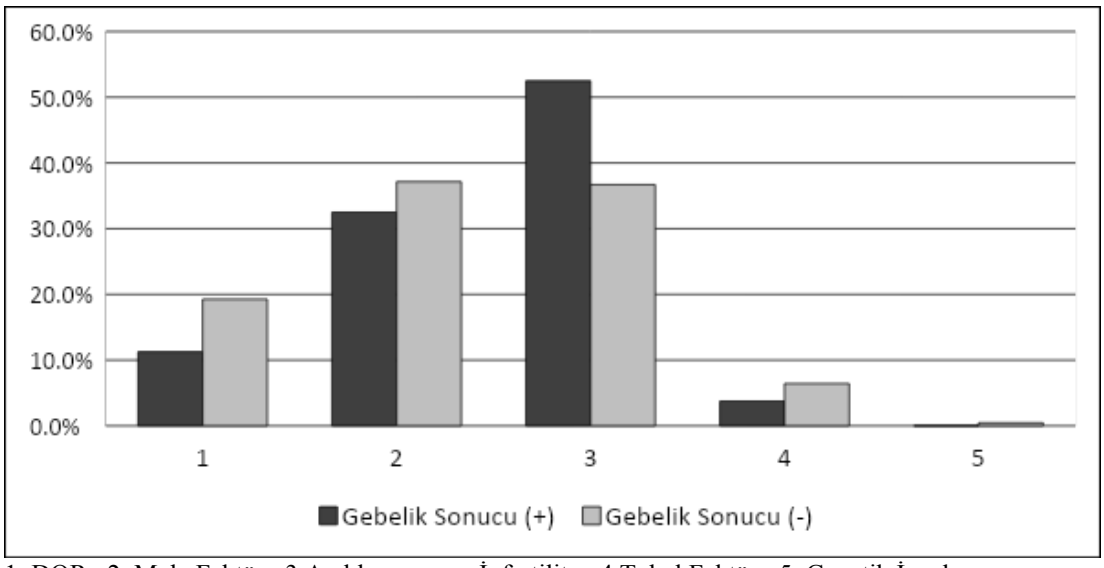
Tablo 10: Gebelik Sonuçlarına Göre Klinik Parametrelerin Karşılaştırılması

Tablo-10

		Gebelik Sonucu (+)		Gebelik Sonucu (-)		p	
		Ort.±ss/n-%	Medyan	Ort.±ss/n-%	Medyan		
Uygulanan Tedavi Türü							
Oks Long Protokol		43 53.8%		99 45.4%		0.202	x^2
Antagonist Protokol		37 46.3%		119 54.6%			
Embriyo Gradi							
İyi Kalite		51 63.8%		153 70.2%		0.290	x^2
Orta Kalite		29 36.3%		65 29.8%			
Dondurulan Embriyo Sayısı		4.6 ± 2.5	4.0	4.2 ± 2.4	4.0	0.416	m
Dondurulma Günü		3.5 ± 1.1	3.0	3.5 ± 1.0	3.0	0.879	m
Progesteron Düzeyi		0.5 ± 0.3	0.4	0.6 ± 1.1	0.5	0.416	m
Endometriyum Kalınlığı		9.5 ± 3.7	9.0	9.1 ± 1.9	9.0	0.950	m
Transfer Edilen Embiyo Sayısı	I	52 65.0%		144 66.1%		0.865	x^2
	II	28 35.0%		74 33.9%			

m Mann-whitney u test / t Bağımsız Örneklem t test / x^2 Ki-Kare test

Gebelik sonucu pozitif olan grupta BMI değeri gebelik sonucu negatif olan gruptan anlamlı olarak daha düşük çıkmıştır ($p < 0.05$) (Tablo 9). Gebelik sonucu pozitif olan grupta Açıklanamayan infertilite nedeni gebelik sonucu negatif olan gruptan anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Diğer infertilite nedenlerinden DOR, Male Faktör, Tubal Faktör, genetik inceleme nedenleri arasında gebelik sonuçları açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Tablo 9).



1. DOR 2. Male Faktör 3.Açıklanamayan İnfertilite 4.Tubal Faktör 5. Genetik İnceleme

Şekil 1. İnfertilite Nedenlerine Göre Gebelik Sonucu Oranları

Tek ve çift embriyo transferi olan gruplar arasında BMI, infertilite nedeni, DÇET endikasyonları, sperm sayısı, embriyo transfer günü, FSH, LH, prolaktin düzeyleri, toplanan M1, M2 ve GV kalite oosit sayısı, uygulanan tedavi türü açısından anlamlı bir farklılık gösterilmemiştir (p > 0.05) (Tablo 11).

Tablo 11: Tek ve Çift Embriyo Transferi Yapılan Gruplar Arasında Klinik Parametrelerin Karşılaştırılması

Tablo-11

	Tek Embiriyo		Çift Embiriyo		p	
	Ort.±ss/n-%	Medyan	Ort.±ss/n-%	Medyan		
Yaş	29.9 ± 4.4	30.0	34.7 ± 4.3	35.0	***0.000***	m
BMI	25.8 ± 4.0	25.7	26.1 ± 4.7	25.8	0.543	t
DÇET Nedenleri						
OHSS	94 48.0%		24 23.5%		***0.000***	X²
Uterin Anomali	35 17.9%		18 17.6%		0.964	X²
Fazla Embriyo	50 25.5%		52 51.0%		***0.000***	X²
Hormonal	13 6.6%		5 4.9%		0.552	X²
Anormal Uterin Kanama	3 1.5%		3 2.9%		0.411	X²
Genetik İnceleme	1 0.5%		0 0.0%		1.000	X²
Sperm Sayısı	5.1 ± 5.8	3.6	6.7 ± 7.4	4.1	0.154	m
Tedavi Dozu	2847 ± 1215	2625	3176 ± 1171	3075	***0.001***	m
Transfer Edildiği Gün	4.1 ± 1.2	4.0	4.0 ± 1.2	4.0	0.263	m
İnfertilite Derecesi						
Primer	165 84.2%		74 72.5%		***0.017***	X²
Sekonder	31 15.8%		28 27.5%			
FSH Düzeyi	8.8 ± 4.6	7.0	9.8 ± 5.0	8.0	0.460	m
LH Düzeyi	5.4 ± 5.0	4.3	5.0 ± 2.9	4.3	0.863	m
PRL Düzeyi	19.5 ± 15.0	16.5	20.0 ± 28.5	15.2	0.230	m
AMH Düzeyi	5.3 ± 4.3	4.3	4.3 ± 3.4	3.4	***0.035***	m
İnfertilite Nedeni						
DOR	34 17.3%		17 16.7%		0.882	X²
Male Faktör	72 36.7%		35 34.3%		0.679	X²
Açıklanamayan	81 41.3%		41 40.2%		0.851	X²
Tubal Faktör	9 4.6%		8 7.8%		0.251	X²
Genetik İnceleme	0 0.0%		1 1.0%		0.342	X²
Toplanan OOSİT Sayısı	14.5 ± 8.8	13.0	14.0 ± 7.6	13.0	0.641	t
M1 Kalite OOSİT Sayısı	0.9 ± 1.6	0.0	0.8 ± 2.0	0.0	0.115	m
M2 Kalite OOSİT Sayısı	11.1 ± 6.8	10.0	10.6 ± 5.7	10.0	0.475	t
GV Kalite OOSİT Sayısı	1.2 ± 2.0	0.0	1.0 ± 1.6	0.0	0.919	m

[m] Mann-whitney u test / [t] Bağımsız Örneklem t test / [X²] Ki-Kare test

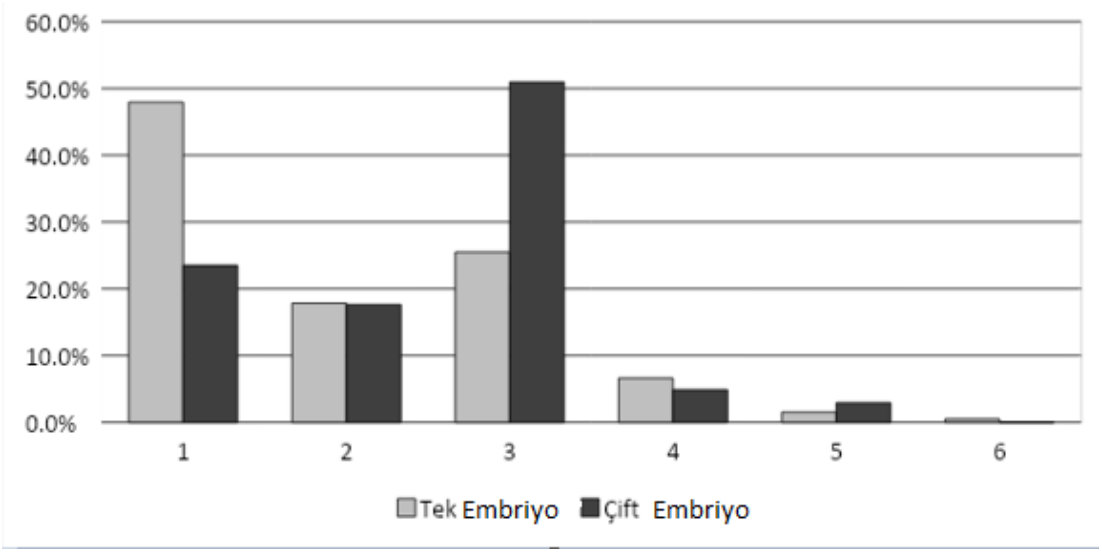
Tablo 12: Tek ve Çift Embriyo Transferi Yapılan Gruplar Arasında Klinik Parametrelerin Karşılaştırılması

Tablo-12

		Tek Embiriyo		Çift Embiriyo		p
		Ort.±ss/n-%	Medyan	Ort.±ss/n-%	Medyan	
Uygulanan Tedavi Türü						
Oks Long Protokol		93	47.4%	49	48.0%	0.923 [x²]
Antagonist Protokol		103	52.6%	53	52.0%	
Gebelik Sonucu	(+)	52	26.5%	28	27.5%	0.865 [x²]
	(-)	144	73.5%	74	72.5%	
Embriyo Gradi						
İyi Kalite		125	63.8%	79	77.5%	***0.016*** [x²]
Orta Kalite		71	36.2%	23	22.5%	
Dondurulan Embriyo S.		4.2 ± 2.4	4.0	4.6 ± 2.5	4.0	0.170 [m]
Dondurulma Günü		3.5 ± 1.1	3.0	3.4 ± 1.1	3.0	0.125 [m]
Progesteron Düzeyi		0.6 ± 1.1	0.5	0.5 ± 0.3	0.5	0.325 [m]
Endometriyum Kalınlığı		9.1 ± 2.7	9.0	9.3 ± 2.1	9.0	0.278 [m]

[m] Mann-whitney u test / [t] Bağımsız Örneklem t test / [x²] Ki-Kare test

Tek ve çift embriyo transferi olan gruplar arasında **gebelik sonucu** anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$) (Tablo 12). Çift embriyo transferi yapılan grupta hastaların yaşı tek embriyo transferi olan gruptan anlamlı olarak daha yüksektir ($p < 0.05$). Çift embriyo transferi yapılan grupta DÇET nedenlerinden OHSS oranı tek embriyo transferi olan gruptan anlamlı olarak daha düşük çıkmıştır ($p < 0.05$). Çift embriyo transferi yapılan grupta Tedavi Dozu tek embriyo transferi olan gruptan anlamlı olarak daha yüksektir ($p < 0.05$). Çift embriyo transferi yapılan grupta sekonder infertilite oranı tek embriyo transferi olan gruptan anlamlı olarak daha yüksektir ($p < 0.05$) (Tablo 11). Çift embriyo transferi yapılan grupta AMH Düzeyi tek embriyo transferi olan gruptan anlamlı olarak daha düşüktür ($p < 0.05$) (Tablo 11).



1.OHSS 2.Uterin Anomali 3.Fazla Embriyo 4.Hormonal 5.AUK 6.Genetik İnceleme

Şekil 2. DÇET Endikasyonlarına Göre Transfer Edilen Embriyo Sayısı Oranları

5.TARTIŞMA

Yardımcı üreme tekniklerinin giderek yaygınlaştığı günümüzde DÇET sikluslarınada, elde edilen embriyonun çeşitli endikasyonlara bağlı olarak aynı siklusta transfer edilememesi ve giderek artan teknolojik geliştirmelerle birlikte yönelimin artmakta olduğunu görmekteyiz. Çalışmamızda DÇET tedavisi uygulanmış 300 hasta üzerine gebelik sonucuna etki eden yaş, vücut kitle indeksi, infertilite nedeni, infertilite derecesi, DÇET yapılma nedeni, KOH protokolünde uygulanan tedavi türü, uygulanan tedavi dozu, embriyonun transfer edildiği günü, hastanın başlangıç FSH, LH, AMH ve prolaktin düzeyi, progesteron düzeyleri, OPU günü toplanan toplam oosit, M1, M2, GV aşama oosit sayıları, dondurulan embriyo sayısı, embriyo dondurulma günü, embriyo kalitesi, transfer edilen embriyo sayısı, endometrium kalınlığı ve eşinin sperm sayısı gibi birçok parametre değerlendirilmiştir.

DÇET tedavilerinde başarıyı etkileyen birçok faktör olduğu bilinmektedir. Bu klinik faktörler içerisinden, YÜT sırasında artan kadın yaşının DÇET sonrası istenen gebelik sonucu kötüleştirdiği bilinmektedir. 2007'de İsveç'te yapılan bir araştırmada kadın yaşında artışla birlikte gebelik sonuçlarının olumsuz etkilendiği bulunmuştur (135). Yine 2011'de yapılan 40 yaş üstü ve 40 yaş altı kadınların dahil edildiği retrospektif bir çalışmada kadın yaşının gebelik sonuçlarını etkilemediği bulunmuştur (136). 2009-2011 yılları arasında DÇET yapılan 347 olgunun retrospektif bir incelemesinde 35 yaş altı olan kadınlarda gebelik oranı %57.7 iken 35 yaş üstü kadınlarda bu oran %29.2 çıkarak istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yaratmıştır (137). Bizim çalışmamızda 19-48 yaş aralığında dahil ettiğimiz kadınlarda yaş faktörünün gebelik sonucuna istatistiksel anlamda bir etkisinin olmadığı bulundu. Yaşla birlikte azalan over rezervi ve buna bağlı olarak KOH protokollerinde elde edilen oositlerin azalmasına rağmen gebelik sonucunun etkilenmemesi belkide gebelik başarısında anne yaşından ve elde edilen oosit miktarından çok diğer klinik parametrelerin daha önemli olabileceğini bize göstermektedir.

BMI değerindeki artışın istenilen gebelik sonuçlarında ve canlı doğum oranlarında olumsuz etki yaptığı birçok çalışmada gösterilmiştir (138). Ancak 2006-2007 yılları arasında yapılan retrospektif bir analizde DÇET siklusu uygulanan toplam 233 hastadan BMI >25 kg/ m2 olan kadınlarda iyi kalitede embriyo transferi yapıldığında elde edilen gebelik oranlarının BMI <25 kg/ m2 olan kadınlardan anlamlı düzeyde bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir (139). Jan Willem van der Steeg ve ark.'nın 2002-2004 yılları arasında yaptığı subfertil çiftlerin incelendiği ileriye dönük bir kohort çalışmasında BMI >29 kg/ m2 olduğunda spontan gebelik şansının azaldığı, BMI'ı yüksek olan kadınlarda her kg/m2 artışı başına %4 oranında gebelik başarısının düştüğü belirlenmiştir (140). Vivian Rittenberg ve ark.'ının yaptığı bir literatür taramasında da BMI'daki yükselişin in vitro fertilizasyon (IVF) tedavisi alan kadınlarda gebelik başarısı ve canlı doğum oranlarında olumsuz bir etki yaptığı ve bunun yanında abort etme ihtimalinide arttırdığını bulmuşlardır. Ayrıca bu çalışmada, artan BMI değeri ile daha kötü gebelik sonuçları ortaya çıkabilsede, gebelik başarısındaki bu daha kötü sonuçların sadece daha yüksek BMI değerlerine bağlı olmadığınıda göstermişlerdir (141). BMI ortalamasının 25.9 ± 4.2 olarak hesaplandığı bizim çalışmamızda da gebelik sonucu pozitif olan gruplarda BMI değerinin anlamlı olarak daha düşük çıktığı bulunmuştur.

Önceki dönemlerde yapılan araştırmalarda transfer edilen embriyo sayısı, embriyo kalitesi ve endometrium kalınlığının gebelik sonucunda olumlu katkısı olduğu bilinmektedir (136). 2020 yılında yayınlanan randomize kontrollü bir çalışmada da transfer edilen embriyo sayısı ve endometrium kalınlığının olumlu bir gebelik sonucu elde edilmesinde doğru orantılı bir ilişki tespit edilmiştir. Ancak aynı çalışmada transfer edilen embriyonun kalitesi ile gebelik sonucu arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (142). 2012-2013 yılları arasında 1512 hastanın incelendiği retrospektif bir çalışmada da endometrial kalınlık ile canlı doğum oranları arasında bir ilişki bulunmamıştır (143). Tarek El-Toukhy ve ark.'ı 2008 yılında yayınladığı bir çalışmada endometrium kalınlığı ≥15 mm ve <7 mm olan gruplarda gebelik başarısını daha düşük ve endometrium kalınlığı 9-14 mm arası olan grupta ise gebelik başarısını daha yüksek oranlarda bulmuşlardır (144). Yapılan bazı çalışmalarda implantasyon için gerekli endometrium kalınlığının en az sırasıyla 8 mm ve 8.2 mm olması gerektiği sonuçlarına ulaşılmış olup ayrıca sonografik

görüntülemelerde endometrium trilaminar paterninde implantasyon açısından gebelik sonuçlarına katkısı olabileceği belirlenmiştir (145,134,146). 2011 yılında yayınlanan retrospektif bir incelemede çift sayıda blastokist transferi yapılan gruplarda gebelik başarısının ve ikiz canlı doğum oranlarının anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur (147). Yangqin Peng ve ark.'nın 2022 yılında yayınladığı retrospektif bir araştırmanın sonucunda ise çift embriyo transferi ile ardışık iki tek embriyo transfer döngüsü arasında canlı doğum oranları açısından benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Ayrıca ardışık iki tek embriyo transferi grubunda maternal ve fetal sonuçların daha iyi olduğunu saptamışlardır (148). İsveç'te 2007-2017 yılları arasının tarandığı bir kohort çalışmasına göre çift ve tek embriyo transfer gruplarında gebelik sonuçları açısından çok az bir fark görülsede çift embriyo transferi yapılan gruplarda kötü sonuçlar daha yüksek bulunmuştur. Ancak bu sonuçlara rağmen çalışmada yaşı ileri veya fertil yeteneği düşük kadınlarda çift embriyo transferinin yapılabileceğini desteklemiştir (149). Bizim çalışmamızda çift ve tek embriyo transferi yapılan gruplar arasında pozitif ve negatif gebelik sonuçları açısından anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. Aynı şekilde transfer edilen embriyo kalitesinin ve endometrium kalınlığının gebelik başarısı üzerinde etkili bir faktör olmadığı analizler sonucunda belirlenmiştir.

Uygulanan tedavi türünün (GnRH agonist ve antagonist protokolü) ve sonucunda elde edilen toplam oosit sayısının gebelik başarısına katkı sağladığı 2011'de yayınlanan 247 hastanın dahil edildiği bir çalışmada gösterilmiştir (136). Ancak bizim çalışmamızda tedavi türü ve elde edilen oosit sayısının gebelik sonucunda anlamlı bir etkisi olmadığı bulunmuştur.

Geçmişte, infertil çiftlerde yapılan analizlerde infertilite nedeninin yaklaşık %40'ı erkek faktör, yaklaşık %50 kadarında da kadın faktörü bulunmuştur. %25 kadarında ise çiftin her ikisine ait sorunlar belirlenmişken, %15 çiftte ise herhangi bir infertilite nedeni saptanamamıştır (19). İnfertilite sebeplerini de araştırdığımız çalışmamızda en çok görülen infertilite sebebi %40.9 ile açıklanamayan infertilite olarak olarak saptanmıştır. İkinci sırada %35.9 ile male faktör ve üçüncü sırada ise %17.1 ile DOR nedeni bulunmuştur.

Literatürde yapılan birçok çalışmada progesteron düzeylerinin gebelik sonuçlarında etkili olduğu gösterilmiştir (150). Pei Chen Huang ve ark.'nın 599 olgu

üzerinde yaptığı bir retrospektif araştırmada ise yüksek ve düşük progesteron düzeylerinin YÜT'lerinde gebelik sonucu üzerinde istatistiksel anlamda farklılık yaratmadığını bulmuşlardır (151). Çalışmamızda progesteron düzeyinin gebelik sonucuna etki etmediği bulunmuştur.

Literatürde FSH, prolaktin, AMH değerlerinin ovulatuar fonksiyonlarda etkili olduğu bilinmektedir. Artmış bir FSH değerinin overin iyi çalışmadığını gösterdiği veya azalmış bir FSH değerinde ise overin yeterli uyarımının sağlanmadığı düşünülür. Artan prolaktin düzeyinin ise ovulatuar fonksiyonları bozduğu bilinmektedir. AMH ise preantral ve antral foliküllerdeki granüloza hücrelerinden üretildiği için bize overlerdeki folikül rezerv durumunu bildirir (152). Artan FSH ve prolaktin düzeylerinde ovulatuar fonksiyonların bozulması sebebiyle sağlıklı bir ovulasyonun gerçekleşemez. Bunun yanında azalmış AMH düzeyi bize yeterli ovaryen rezervin olmadığını gösterir. Geçmiş çalışmalarda FSH ve prolaktin düzeylerinin ve azalan AMH değerlerinin gebelik sonuçlarında etkili olduğu gösterilmiştir (137,152). Bizim çalışmamızda FSH, prolaktin ve AMH düzeylerinin gebelik sonuçlarına etki etmediği sonucu çıkarılmıştır.

Yapılan bazı çalışmalarda embriyo transfer gününün implantasyon aşaması ve canlı doğum oranlarında anlamlı olduğu veya olmadığı gösterilmiştir (153,154). Bizim çalışmamızda embriyo transfer gününün pozitif gebelik sonucunda bir katkısı olmadığı bulunmuştur.

Çalışmamızda araştırdığımız diğer klinik parametrelerden infertilite derecesi, DÇET yapılma nedenleri, KOH protokolünde uygulanan tedavi dozu, dondurulan embriyo sayısı, embriyo dondurulma günü ve sperm sayısının gebelik sonuçlarında anlamlı bir farklılık yaratmadığı görülmüştür.

DÇET protokolünde, daha sonra yapılacak olan embriyo transferi için endometriumun implantasyon hazırlığını yapılır. Doğal siklus ve hormon tedavisi verilen sikluslar olmak üzere temelde iki adet tedavi rejimi vardır (133). Bizim kliniğimizde tüm hastalara hormon tedavisi verilmesi sebebiyle bu klinik parametre üzerine ayırt edici bir analiz yapılamamıştır. Hala hangi tedavi şekli olması konusunda tartışmalar devam ederken literatürde bunu üzerine yapılan birtakım çalışmalar mevcuttur (131). Glujovsky ve ark.'nın 2020'de yaptığı bir araştırmada doğal siklus veya hormon tedavisinin uygulandığı sikluslarda anlamlı bir farklılık

gösterilmemiştir (131). Aynı şekilde 2016'da yapılan randomize kontrollü bir çalışmada da DÇET protokolünde endometrium hazırlığında doğal siklus ile hormonal tedavinin yapıldığı sikluslarda birbirine üstünlük bulunamamıştır (133).

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda dondurulmuş çözülmüş embriyo transferi yapılan hasta gruplarında gebelik başarısını etkileyen klinik faktörleri belirlemeyi amaçladık. Çalışmamız retrospektif ve tek merkezli bir araştırma olup 300 hastanın verileri incelenmiştir. Birçok klinik parametreye yer verdiğimiz çalışmamızda gelecek DÇET tedavileri açısından destekleyici ve katkı sağlayabileceğini düşündüğümüz birkaç anlamlı sonuca ulaştık. BMI değerindeki artışın gebelik sonuçlarına olan olumsuz etkisi araştırmamızın istatistiksel analizinde de aynı şekilde desteklendi. Bu sebeple yardımcı üreme tedavilerinden yararlanacak özellikle sedanter tip hastalara hayat tarzı değişiklikleri, diyet, dengeli beslenme, düzenli egzersiz gibi önerilerin daha çok üzerinde durulması gerektiğini düşünüyoruz.

Transfer edilen embriyo sayısının ve endometriyum kalınlığının önemini vurgulayan literatürdeki çalışmaların aksine, çalışmamız tek ve çift transfer yapılan hastalarda gebelik sonuçları açısından fark olmadığını ortaya koymuş ve yine gebelik sonucu pozitifliğini endometriyum kalınlığı ile ilişkilendirememiştir.

7. KAYNAKÇA

1. Vander Borght M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. Clin Biochem. 2018 Dec;62:2-10. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012. Epub 2018 Mar 16. PMID: 29555319.
2. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, Sullivan E, Vanderpoel S; International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology; World Health Organization. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. Fertil Steril. 2009 Nov;92(5):1520-4. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.09.009. Epub 2009 Oct 14. PMID: 19828144.
3. Dorland'ın Resimli Tıp Sözlüğü. 29. Baskı. Saunders , Philadelphia 2000
4. Edelmann RJ, Connolly KJ, Bartlett H. IVF için başvuran çiftlerin başa çıkma stratejileri ve psikolojik uyumu . *J Psychosom Res* 1994; 38 :355–64. 10.1016/0022-3999(94)90040-X
5. Eugster A, Vingerhoets AJ. Tüp bebek tedavisinin psikolojik yönleri: Bir gözden geçirme . *Sosyal Bilimler Med* 1999; 48 :575–89. 10.1016/S0277-9536(98)00386-4
6. Stanton AL, Dunkel-Schetter C, editörler. Kısırlık: stres ve başa çıkma araştırmalarından bakış açıları . İçinde: *Kısırlığa psikolojik uyum: kavramsal yaklaşımlara genel bir bakış* . Stres ve başa çıkma üzerine Plenum serisi New York, NY, ABD: Plenum Press, 1991:3–16.
7. Boivin, J., Griffiths, E., & Venetis, C. A. (n.d.). reproductive technologies : meta-analysis of prospective. 1–9. https://doi.org/10.1136/bmj.d223
8. Homan GF, Davies M, Norman R. The impact of lifestyle factors on reproductive performance in the general population and those undergoing infertility treatment: a review. Hum Reprod Update. 2007 May-Jun;13(3):209-23. doi: 10.1093/humupd/dml056. Epub 2007 Jan 5. PMID: 17208948.
9. Bosch E, De Vos M, Humaidan P. The Future of Cryopreservation in Assisted Reproductive Technologies. Front Endocrinol (Lausanne). 2020 Feb 20;11:67. doi: 10.3389/fendo.2020.00067. PMID: 32153506; PMCID: PMC7044122.
10. Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, Aguirre M, Hudson C. Clinical rationale for cryopreservation of entire embryo cohorts in lieu of fresh transfer. Fertil Steril. 2014 Jul;102(1):3-9. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.04.018. Epub 2014 May 17. PMID: 24842675.
11. Bhattacharya S. Maternal and perinatal outcomes after fresh versus frozen embryo transfer-what is the risk-benefit ratio? Fertility and Sterility. 2016;106(2):241-243.
12. Wennerholm UB, Henningsen AK, Romundstad LB, Bergh C, Pinborg A, Skjaerven R, et al. Peri- natal outcomes of children born after frozen- thawed embryo transfer: a Nordic cohort study from the CoNARTaS group. Human Reproduc- tion (Oxford, England). 2013;28(9):2545-2553.

13. Liebermann J, Dietl J, Vanderzwalmen P, Tucker MJ. Recent develop- ments in human oocyte, embryo and blastocyst vitrification: where are we now? Reprod Biomed Online., 2003. 7(6): p. 623-633.

14. Prevention., C.f.D.C.a., 2012 Assisted Reproductive Technology Suc- cess Rates: National Summary and Fertility Clinic Reports. Atlanta:. US Department of Health and Human Services; 2014., 2014.

15. Karabulut, S. , Korkmaz, O. , Delikara, N. & Keskin, İ. (2018). Dondurulmuş-Çözülmüş Embriyo Sikluslarında Anne Yaşına Göre Optimum Transfer Gününün Belirlenmesi . Zeynep Kamil Tıp Bülteni , -EK SAYI , 133-135 . DOI: 10.16948/zktipb.332476

16. The Practice Committee of the America Society for Reproductive Medicine. Optimal evaluation of the infertil female. Fertil Steril 2004; 82: 196-72.

17. C. Gnoth, D. Godehardt, E. Godehardt, P. Frank-Herrmann, and G. Freundl, "Time to pregnancy: Results of the German prospective study and impact on the management of infertility," *Human Reproduction*, vol. 18, no. 9, pp. 1959–1966, Sep. 2003, doi: 10.1093/humrep/deg366.

18. X. Wang *et al.*, "Conception, early pregnancy loss, and time to clinical pregnancy: A population-based prospective study," *Fertility and Sterility*, vol. 79, no. 3, pp. 577– 584, Mar. 2003, doi: 10.1016/S0015-0282(02)04694-0.

19. Gomel V, Urman B, Yarali H. Investigation of the infertile couple. In: Aksel S , Beksac S, editors.Reproductive Endocrinology and Infertility Medical Network, Ankara, 1993.p.143-55.

20. Sharma R, Biedenharn KR, Fedor JM, Agarwal A. Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. Reprod Biol Endocrinol. 2013 Jul 16;11:66. doi: 10.1186/1477-7827-11-66. PMID: 23870423; PMCID: PMC3717046.

21. Glover D.T, Barratt L.R.C (1999). Male Fertility and Infertility Cambridge Uviversity Press 1.published

22. Orhan E., (2008), 'Erkek İnfertilitesi', Temel Üreme Endokrinolojisi ve İnfertilite, 1. Baskı, Çeviri Editörü, Nedim Çiçek, Palme Yayıncılık, Ankara, 109148.

23. Boitrelle F, Shah R, Saleh R, Henkel R, Kandil H, Chung E, Vogiatzi P, Zini A, Arafa M, Agarwal A. The Sixth Edition of the WHO Manual for Human Semen Analysis: A Critical Review and SWOT Analysis. Life (Basel). 2021 Dec 9;11(12):1368. doi: 10.3390/life11121368. PMID: 34947899; PMCID: PMC8706130.

24. Kruger, TF., Menkveld, R., Stander, FS., Lombard, CJ., Van der Merwe, JP., van Zyl, JA., et al., (1986), "Sperm morphological features as a prognostic factor in in vitro fertilization", *Fertil Steril*, 46, 1118-23.

25. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Diagnostic evaluation of the infertile male: a committee opinion. Fertil Steril. 2015 Mar;103(3):e18-25. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.12.103. Epub 2015 Jan 15. PMID: 25597249.

26. World Health Organization. WHO Manual for the Standardised Investigation and Diagnosis of the Infertile Male. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.

27. Bayer SR, Alper MM, Penzias AŞ. *Kısırlık el kitabı.* 2. baskı Boston: Informa Healthcare; 2007. sayfa 1–259.

28. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: asrm@asrm.org; Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Fertility evaluation of infertile women: a committee opinion. Fertil Steril. 2021 Nov;116(5):1255-1265. doi: 10.1016/j.fertnstert.2021.08.038. Epub 2021 Oct 2. PMID: 34607703.

29. Smith, S., Pfeifer, SM., Collins, JA., (2003), "Diagnosis and management of female infertility", JAMA, 290(13), 1767-70.

30. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Gynecologic Practice and Practice Committee. Female age-related fertility decline. Committee Opinion No. 589. Fertil Steril. 2014 Mar;101(3):633-4. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.12.032. PMID: 24559617.

31. Ziebe S, Loft A, Petersen JH, Andersen AG, Lindenberg S, Petersen K, Andersen AN. Embryo quality and developmental potential is compromised by age. Acta Obstet Gynecol Scand. 2001 Feb;80(2):169-74. doi: 10.1034/j.1600-0412.2001.080002169.x. PMID: 11167214.

32. Hickey M, Balen A. Ergenlikte adet bozuklukları: soruşturma ve yönetim . *Hum Reprod Güncellemesi* 2003; 9 :493–504.

33. Miller JH, Weinberg RK, Canino NL, Klein NA, Soules MR. The pattern of infertility diagnoses in women of advanced reproductive age. Am J Obstet Gynecol. 1999 Oct;181(4):952-7. doi: 10.1016/s0002-9378(99)70331-5. PMID: 10521760.

34. G. M. Honoré, A. E. C. Holden, and R. S. Schenken, "Pathophysiology and management of proximal tubal blockage," *Fertility and Sterility*, vol. 71, no. 5. Fertil Steril, pp. 785–795, May 1999. doi: 10.1016/S0015-0282(99)00014-X.

35. Ozan, YD., (2013), "Watson'ın İnsan Bakım Kuramına Temellendirilmiş Hemşirelik Bakımının İnfertilite Tedavisi Gören Kadınların, Anksiyete, Baş Etme Ve İnfertilite Etkilenme Durumlarına Etkisi", Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

36. Eimers, JM., Te Velde, ER., Gerritse, R., Van Kooy, RJ., Kremer, J., Habbema, JD., (1994), "The validity of the postcoital test for estimating the probability of conceiving", *Am J Obstet Gynecol*, 171, 65-70.

37. Hatasaka H. New perspectives for unexplained infertility. Clin Obstet Gynecol. 2011 Dec;54(4):727-33. doi: 10.1097/GRF.0b013e3182353e54. PMID: 22031262.

38. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S. et al. Kısırlık ve doğurganlık bakımına ilişkin uluslararası sözlük, 2017 . Uğultu Çoğaltma 2017; 32 (09) 1786-1801

39. Mol BW, Hart RJ. Unexplained Infertility. Semin Reprod Med. 2020 Jan;38(1):1-2. doi: 10.1055/s-0040-1721425. Epub 2020 Nov 24. PMID: 33232985.

40. Preutthıpan, S., Linasmita, V., (2003), "A prospective comparative study between hysterosalpingography and hysteroscopy in detection of intrauterine pathology in patients with infertility", *J Obstet Gynaecol Res*, 29, 33-37.

41. Burney RO, Giudice LC. Endometriozisin patogenezi ve patofizyolojisi. *Fertil Steril.* 2012; 98 :511–519. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.06.029.

42. ASRM. Amerikan Üreme Tıbbı Derneği Uygulama Komitesi Endometriozis ve kısırlık: bir komite görüşü. *Fertil Steril.* 2012; 98 :591–598. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.05.031.

43. Tanbo T, Fedorcsak P. Endometriosis-associated infertility: aspects of pathophysiological mechanisms and treatment options. Acta Obstet Gynecol Scand. 2017 Jun;96(6):659-667. doi: 10.1111/aogs.13082. Epub 2017 Jan 30. PMID: 27998009.

44. Bulletti C, Coccia ME, Battistoni S, Borini A. Endometriosis and infertility. J Assist Reprod Genet. 2010 Aug;27(8):441-7. doi: 10.1007/s10815-010-9436-1. Epub 2010 Jun 25. PMID: 20574791; PMCID: PMC2941592.

45. American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins—Gynecology. ACOG Practice Bulletin No. 194: Polycystic Ovary Syndrome. Obstet Gynecol. 2018 Jun;131(6):e157-e171. doi: 10.1097/AOG.0000000000002656. Erratum in: Obstet Gynecol. 2020 Sep;136(3):638. PMID: 29794677.

46. Jayasena, C., Franks, S. The management of patients with polycystic ovary syndrome. *Nat Rev Endocrinol* 10, 624–636 (2014). https://doi.org/10.1038/nrendo.2014.102

47. Ali AT. Polycystic ovary syndrome and metabolic syndrome. Ceska Gynekol. 2015 Aug;80(4):279-89. PMID: 26265416.

48. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PKOS consensus workshop group. (2004) Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PKOS). Hum Reprod; 19: 41-7.

49. Brassard M, AinMelk Y, Baillargeon JP. Polikistik over sendromu dahil olmak üzere temel infertilite . Med Clin Kuzey Am 2008; 92 (05) 1163-1192 , xi

50. Teede HJ, Misso ML, Costello MF. , et al. Norman RJ on behalf of the International PCOS Network. Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. Fertil Steril 2018; In pres

51. Neven ACH, Laven J, Teede HJ, Boyle JA. A Summary on Polycystic Ovary Syndrome: Diagnostic Criteria, Prevalence, Clinical Manifestations, and Management According to the Latest International Guidelines. Semin Reprod Med. 2018 Jan;36(1):5-12. doi: 10.1055/s-0038-1668085. Epub 2018 Sep 6. PMID: 30189445.

52. Golan A, Ron-el R, Herman A, Soffer Y, Weinraub Z, Caspi E. Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review. Obstet Gynecol Surv. 1989 Jun;44(6):430-40. doi: 10.1097/00006254-198906000-00004. PMID: 2660037.

53. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Ovarian hyperstimulation syndrome. Fertil Steril. 2008 Nov;90(5 Suppl):S188-93. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.08.034. PMID: 19007627.

54. Bergh PA, Navot D. Ovarian hyperstimulation syndrome: a review of pathophysiology. J Assist Reprod Genet. 1992 Oct;9(5):429-38. doi: 10.1007/BF01204048. PMID: 1482837.

55. Koninckx PR, Heyns W, Verhoeven G, Van Baelen H, Lissens WD, De Moor P, Brosens IA. Biochemical characterization of peritoneal fluid in women during the menstrual cycle. J Clin Endocrinol Metab. 1980 Dec;51(6):1239-44. doi: 10.1210/jcem-51-6-1239. PMID: 7192290.

56. Koninckx PR, Renaer M, Brosens IA. Origin of peritoneal fluid in women: an ovarian exudation product. Br J Obstet Gynaecol. 1980 Mar;87(3):177-83. doi: 10.1111/j.1471-0528.1980.tb04514.x. PMID: 7387917.

57. Donnez J, Langerock S, Thomas K. Peritoneal fluid volume and 17 beta-estradiol and progesterone concentrations in ovulatory, anovulatory, and postmenopausal women. Obstet Gynecol. 1982 Jun;59(6):687-92. PMID: 7078906.

58. Sealey JE, Atlas SA, Glorioso N, Manapat H, Laragh JH. Cyclical secretion of prorenin during the menstrual cycle: synchronization with luteinizing hormone and progesterone. Proc Natl Acad Sci U S A. 1985 Dec;82(24):8705-9. doi: 10.1073/pnas.82.24.8705. PMID: 3909151; PMCID: PMC391505.

59. Derkx FH, Alberda AT, Zeilmaker GH, Schalekamp MA. High concentrations of immunoreactive renin, prorenin and enzymatically-active renin in human ovarian follicular fluid. Br J Obstet Gynaecol. 1987 Jan;94(1):4-9. doi: 10.1111/j.1471-0528.1987.tb02243.x. PMID: 3545283.

60. Lightman A, Tarlatzis BC, Rzasa PJ, Culler MD, Caride VJ, Negro-Vilar AF, Lennard D, DeCherney AH, Naftolin F. The ovarian renin-angiotensin system: renin-like activity and angiotensin II/III immunoreactivity in gonadotropin-stimulated and unstimulated human follicular fluid. Am J Obstet Gynecol. 1987 Apr;156(4):808-16. doi: 10.1016/0002-9378(87)90336-x. PMID: 3107387.

61. Delvigne A. Symposium: Update on prediction and managemet of ohss. Reprod Biomed Online 2009; 19:8-13.

62. Grochowski D, Wołczyński S, Kuczyński W, Domitrz J, Szamatowicz J, Szamatowicz M. Correctly timed coasting reduces the risk of ovarian hyperstimulation syndrome and gives good cycle outcome in an in vitro fertilization program. Gynecol Endocrinol. 2001 Jun;15(3):234-8. doi: 10.1080/gye.15.3.234.238. PMID: 11447736.

63. Al-Shawaf T, Zosmer A, Hussain S, Tozer A, Panay N, Wilson C, Lower AM, Grudzinskas JG. Prevention of severe ovarian hyperstimulation syndrome in IVF with or without ICSI and embryo transfer: a modified 'coasting' strategy based on ultrasound for identification of high-risk patients. Hum Reprod. 2001 Jan;16(1):24-30. doi: 10.1093/humrep/16.1.24. PMID: 11139531.

64. Whelan JG 3rd, Vlahos NF. The ovarian hyperstimulation syndrome. Fertil Steril. 2000 May;73(5):883-96. doi: 10.1016/s0015-0282(00)00491-x. PMID: 10785212.

65. Lewit N, Kol S, Manor D, Itskovitz-Eldor J. Comparison of gonadotrophin-releasing hormone analogues and human chorionic gonadotrophin for the induction of ovulation and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: a case-control study. Hum Reprod. 1996 Jul;11(7):1399-402. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a019407. PMID: 8671474.

66. Battaglia, D.E., Eaton, D.L., Sadler-Fredd, K. and Patton, P.E. (2010) 'Cumulative pregnancy rates offer a more comprehensive view of overall in vitro fertilization success for a given cycle than fresh or frozen pregnancy rates alone', 58th Annual Meeting of The Pacific Coast Reproductive Society. Indian Wells California (USA), 14–18 April 2010.

67. Estudillo E, Jiménez A, Bustamante-Nieves PE, Palacios-Reyes C, Velasco I, López-Ornelas A. Cryopreservation of Gametes and Embryos and Their Molecular Changes. Int J Mol Sci. 2021 Oct 8;22(19):10864. doi: 10.3390/ijms221910864. PMID: 34639209; PMCID: PMC8509660.

68. Barkey J, Zuckerman H, Heiman M. A new, practical method of freezing and storing human sperm and a preliminary report on its use. Fertil Steril. 1974 May;25(5):399-406. doi: 10.1016/s0015-0282(16)40389-4. PMID: 4442611.

69. Bunge RG, Sherman JK Dondurulmuş İnsan Spermatozoasının Dölleme Kapasitesi. *Doğa.* 1953; 172 :767–768. doi: 10.1038/172767b0.

70. Whittingham DG Fare Embriyolarının Dondurulup Çözüldükten Sonra Hayatta Kalması. *Doğa.* 1971; 233 :125–126. doi: 10.1038/233125a0.

71. 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.

72. 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.

73. Gao, DY., Mazur, P., Cristser, JK., (1997), " Fundamental creyobiology of mammalian spermatozoa", Scientific principles, San Diego, Calif. Acad, 263-328.

74. Whaley D, Damyar K, Witek RP, Mendoza A, Alexander M, Lakey JR. Cryopreservation: An Overview of Principles and Cell-Specific Considerations. Cell Transplant. 2021 Jan-Dec;30:963689721999617. doi: 10.1177/0963689721999617. PMID: 33757335; PMCID: PMC7995302.

75. He F, Liu W, Zheng S, Zhou L, Ye B, Qi Z. Ion transport through dimethyl sulfoxide (DMSO) induced transient water pores in cell membranes. Mol Membr Biol. 2012 May-Jun;29(3-4):107-13. doi: 10.3109/09687688.2012.687460. Epub 2012 Jun 1. PMID: 22656651.

76. Marcantonini G, Bartolini D, Zatini L, Costa S, Passerini M, Rende M, Luca G, Basta G, Murdolo G, Calafiore R, Galli F. Natural Cryoprotective and Cytoprotective Agents in Cryopreservation: A Focus on Melatonin. Molecules. 2022 May 19;27(10):3254. doi: 10.3390/molecules27103254. PMID: 35630729; PMCID: PMC9145333.

77. Delilbaşı L. A'dan Z'ye Tüp Bebek Laboratuvar. İstanbul,Veri Medikal Yayıncılık, 2008; 229-258.

78. Luz, MR., Holanda, CC., Pereira, JJ., et al., (2009), " Survival rate and in vitro development of in vivo-produced and cryopreserved dog embryos ", *Reproduction, Fertility, and Development*, 22, 208–209.

79. Spindler R., Wolkers W., Glasmacher B. Me2SO'nun In Situ FTIR Spektroskopisi ile İncelenen İnsan Pulmoner Endotel Hücrelerinin Membran Faz Davranışı ve Protein Denatürasyonu Üzerindeki Etkisi. *J. Biyomekanik. Müh.* 2009; 131 :074517. doi: 10.1115/1.3156802.

80. Oldenhof H., Friedel K., Akhoondi M., Gojowsky M., Wolkers W., Sieme H. Aygır sperminin soğutulması sırasında zar fazı davranışı ve bunun dondurulabilirlik ile ilişkisi. *Mol. Membr. Biol.* 2012; 29 :95–106. doi: 10.3109/09687688.2012.674161.

81. Van der Elst, J., Camus, M., Van den Abbeel, E., Maes, R., Devroey, P., Van Steirteghem, AC., (1995), "Prospective randomized study on the cryopreservation of human embryos with dimethylsulfoxide or 1,2-propanediol protocols", Fertil Steril, 63, 92100.

82. Best BP. Cryoprotectant Toxicity: Facts, Issues, and Questions. Rejuvenation Res. 2015 Oct;18(5):422-36. doi: 10.1089/rej.2014.1656. Epub 2015 Sep 22. Erratum in: Rejuvenation Res. 2018 Feb;21(1):87. PMID: 25826677; PMCID: PMC4620521.

83. Chi HJ, Koo JJ, Kim MY, Joo JY, Chang SS, Chung KS. Cryopreservation of human embryos using ethylene glycol in controlled slow freezing. Hum Reprod. 2002 Aug;17(8):2146-51. doi: 10.1093/humrep/17.8.2146. PMID: 12151450

84. Mazur, P., (1984), "Freezing of living cells: mechanisms and implications. Am. J., C125- 42.

85. PALASZ AT, MAPLETOFT RJ. Cryopreservation of mammalian embryos and oocytes: Recent advances. Biotechnol. Adv. 1996; 14: 127-149.

86. RALL WF. Criyopreservation of oocytes and embryos: methods and applications. Anim. Reprod. Sci. 1992; 28: 237-245.

87. Bojic S, Murray A, Bentley BL, Spindler R, Pawlik P, Cordeiro JL, Bauer R, de Magalhães JP. Winter is coming: the future of cryopreservation. BMC Biol. 2021 Mar 24;19(1):56. doi: 10.1186/s12915-021-00976-8. PMID: 33761937; PMCID: PMC7989039.

88. Yavin S., Arav A. Vitrifikasyon çözeltilerinin temel fiziksel özelliklerinin ölçülmesi. *teriogenoloji.* 2007; 67 :81–89.

89. Lassalle B, Testart J, Renard JP. 1,2 propandiol kullanımı ile kriyoprezervasyonun başarısını etkileyen insan embriyosu özellikleri . *Fertil Steril* 1985; 44 :645–651.

90. CSEH S, CORSELLI J, NEHLSENCANNARELLA SL, BAILEY LL, SZALAY AA. The effect of quick-freezing in ethylene glycol on morphological survival and in vitro development of mouse embryos frozen at different preimplantation stages. Theriogenology 1997; 48: 43-50.

91. PARK SP, KIM EY, OH JH, NAM HK, LEE KS, PARK SY, PARK EM, YOON SH, CHUNG KS, LIM JH. Ultra-rapid freezing of human multipronuclear zygotes using electron microscope grids. Hum. Reprod. 2000; 15: 1787-1790.

92. RALL WF, FAHY GM. Ice-free cryopreservation of mouse embryos. Nature 1985; 313: 573-574.

93. Nawroth F, Isachenko V, Dessole S, Rahimi G, Farina M, Vargiu N, Mallmann P, Dattena M, Capobianco G, Peters D, Orth I, Isachenko E. Vitrification of human spermatozoa without cryoprotectants. Cryo Letters. 2002 Mar-Apr;23(2):93-102. PMID: 12050777.

94. VAJTA G. Vitrification of the oocytes and embryos of domestic animals. Anim. Reprod. Sci. 2000; 60-61: 357-364.

95. . KASAI M. Simple and efficient methods for vitrification of mammalian embryos. Anim. Reprod. Sci. 1996; 42: 67-75.

96. RALL WF, MEYER TK. Zona fracture damage and its avoidance during cryopreservation of mammalian embryos. Theriogenology 1989; 31: 683-692.

97. MASSIP A, VAN DER ZWALMEN P, SCHEFFEN B, ECTORS F. Some significant steps in the cryopreservation of mammalian embryos with a note on a vitrification procedure. Anim. Reprod. Sci. 1989; 19: 117-129.

98. MACFARLENE DR, FORSYTH M. Recent insight on the role of cryoprotective agents in vitrification. Cryobiology 1990; 27: 345-358.

99. ARAKAWA T, CARPENTER JF, KITA YA, CROWE JH. The basis for toxicity of certain cryoprotectans: a hypothesis. Cryobiology 1990; 27: 401-415.

100. Vajta, G., Booth, PJ., Holm, P., Greve, T., Callesen, H., (1997), "Successful vitrification of early stage bovine in vitro produced embryos with the open pulled straw (OPS) method", *Cryo-Letters*, 18, 191–195.

101. Begin, I., Bhatia, B., Baldassarre H., Dinyess, A., Keefer, C.L. (2003), Cryopreservation of goat oocytes and in vivo derived 2- to 4-cell embryos using the cryoloop (CLV) and solidsurface vitrification (SSV) methods, Theriogenology, 59:1839-1850.

102. Jang TH, Park SC, Yang JH, Kim JY, Seok JH, Park US, Choi CW, Lee SR, Han J. Cryopreservation and its clinical applications. Integr Med Res. 2017 Mar;6(1):12-18. doi: 10.1016/j.imr.2016.12.001. Epub 2017 Jan 10. PMID: 28462139; PMCID: PMC5395684.

103. Kuwayama, M., Vajta G, Ieda S, Kato O.,(2005), Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of patenial contaminaton. Reprod Biomed Online. 11(5): p.608-14.

104. Fuller BJ, Lane N, Benson EE, editörler. *Donmuş Durumda Yaşam.* 1. baskı Boca Raton: CRC Basın; 2004.

105. Kuznetsov V, Moskovtsev SI, Crowe M, Lulat AG, Librach CL. Az sayıda spermatozoanın normozoospermik ve ileri derecede oligozoospermik numunelerde vitrifikasyonu. *Syst Biol Üreme Med.* 2015; **61** :13–17. doi: 10.3109/19396368.2014.987855.

106. Szell AZ, Bierbaum RC, Hazelrigg WB, Chetkowski RJ. Live births from frozen human semen stored for 40 years. *J Assist Reprod Genet.* 2013;**30**:743–744. doi: 10.1007/s10815-013-9998-9.

107. Lewis SE, John Aitken R, Conner SJ, Iuliis GD, Evenson DP, Henkel R, Giwercman A, Gharagozloo P. The impact of sperm DNA damage in assisted conception and beyond: recent advances in diagnosis and treatment. Reprod Biomed Online. 2013 Oct;27(4):325-37. doi: 10.1016/j.rbmo.2013.06.014. Epub 2013 Jul 11. PMID: 23948450.

108. Aitken RJ, De Iuliis GN, Finnie JM, Hedges A, McLachlan RI. Analysis of the relationships between oxidative stress, DNA damage and sperm vitality in a patient population: development of diagnostic criteria. Hum Reprod. 2010 Oct;25(10):2415-26. doi: 10.1093/humrep/deq214. Epub 2010 Aug 17. PMID: 20716559.

109. De Lamirande, E., Jiang, H., Zini, A., Kodama, H., et al., (1997), "Reactive oxygen species and sperm physiology ", *Rev Reprod*., 2(1), 48-54.

110. Li YX, Zhou L, Lv MQ, Ge P, Liu YC, Zhou DX. Sperm kriyoprezervasyonunda vitrifikasyon ve geleneksel dondurma yöntemleri: sistematik bir inceleme ve meta-analiz. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2019; **233** :84–92. doi: 10.1016/j.ejogrb.2018.11.028.

111. Karthikeyan M, Arakkal D, Mangalaraj AM, Kamath MS. Comparison of Conventional Slow Freeze versus Permeable Cryoprotectant-Free Vitrification of Abnormal Semen Sample: A Randomized Controlled Trial. J Hum Reprod Sci. 2019 Apr-Jun;12(2):150-155. doi: 10.4103/jhrs.JHRS_154_18. PMID: 31293330; PMCID: PMC6594128.

112. Rienzi L, Gracia C, Maggiulli R, LaBarbera AR, Kaser DJ, Ubaldi FM, Vanderpoel S, Racowsky C. 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. Hum Reprod Update. 2017 Mar 1;23(2):139-155. doi: 10.1093/humupd/dmw038. PMID: 27827818; PMCID: PMC5850862.

113. Clark NA, Swain JE. Oocyte cryopreservation: searching for novel improvement strategies. J Assist Reprod Genet. 2013 Jul;30(7):865-75. doi: 10.1007/s10815-013-0028-8. Epub 2013 Jun 19. PMID: 23779099; PMCID: PMC3725232.

114. Iussig B, Maggiulli R, Fabozzi G, Bertelle S, Vaiarelli A, Cimadomo D, Ubaldi FM, Rienzi L. A brief history of oocyte cryopreservation: Arguments and facts. Acta Obstet Gynecol Scand. 2019 May;98(5):550-558. doi: 10.1111/aogs.13569. Epub 2019 Mar 25. PMID: 30739329.

115. Smith GD, Serafini PC, Fioravanti J, et al. Yavaş hızlı dondurma veya vitrifikasyon ile insan oosit kriyoprezervasyonunun prospektif randomize karşılaştırması. *Fertil Steril.* 2010; 94 :2088–2095.

116. Cil AP, Seli E. Current trends and progress in clinical applications of oocyte cryopreservation. Curr Opin Obstet Gynecol. 2013 Jun;25(3):247-54. doi: 10.1097/GCO.0b013e32836091f4. PMID: 23562954; PMCID: PMC3869229.

117. Konc J, Kanyó K, Kriston R, Somoskői B, Cseh S. Cryopreservation of embryos and oocytes in human assisted reproduction. Biomed Res Int. 2014;2014:307268. doi: 10.1155/2014/307268. Epub 2014 Mar 23. PMID: 24779007; PMCID: PMC3980916.

118. Gardner DK, Lane M, Stevens J, Schoolcraft WB. Yavaş dondurma protokolünde başlangıç sıcaklığını ve soğutma hızını değiştirmek, insan blastosist canlılığını artırır. *Doğurganlık ve Kısırlık* . 2003; 79 (2):407–410.

119. Rodriguez-Wallberg KA, Waterstone M, Anastácio A. Ice age: Cryopreservation in assisted reproduction - An update. Reprod Biol. 2019 Jun;19(2):119-126. doi: 10.1016/j.repbio.2019.04.002. Epub 2019 May 11. PMID: 31085134.

120. Quinn, P., & Kerin, J. F. P. (1986). Experience with the cryopreservation of human embryos using the mouse as a model to establish successful techniques. *Journal of in Vitro Fertilization and Embryo Transfer, 3*, 40-45.

121. 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.

122. Committee on Gynecologic Practice of American College of Obstetricians and Gynecologists; Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Age-related fertility decline: a committee opinion. Fertil Steril. 2008 Sep;90(3):486-7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.08.006. PMID: 18847603.

123. Jaffe SB, Jewelewicz R. The basic infertility investigation. Fertil Steril. 1991 Oct;56(4):599-613. doi: 10.1016/s0015-0282(16)54587-7. PMID: 1915935.

124. Legro RS, Dodson WC, Kunselman AR, Stetter CM, Kris-Etherton PM, Williams NI, Gnatuk CL, Estes SJ, Allison KC, Sarwer DB, Diamond MP, Schlaff WD, Casson PR, Christman GM, Barnhart KT, Bates GW, Usadi R, Lucidi S, Baker V, Zhang H, Eisenberg E, Coutifaris C, Dokras A. Benefit of Delayed Fertility Therapy With Preconception Weight Loss Over Immediate Therapy in Obese Women With PCOS. J Clin Endocrinol Metab. 2016 Jul;101(7):2658-66. doi: 10.1210/jc.2016-1659. Epub 2016 May 12. PMID: 27172435; PMCID: PMC4929837.

125. Mitwally MFM, Casper RF. Aromataz İnhibisyonu Polikistik Over Sendromlu Kadınlarda Yeni Bir Yumurtlama İndüksiyon Yöntemi . *Reprod Technol* (2000) 10 :244–7.

126. Chen D, Shen X, Fu Y, Ding C, Zhong Y, Zhou C. Pregnancy Outcomes Following Letrozole Use in Frozen-thawed Embryo Transfer Cycles: A Systematic Review and Meta-analysis. Geburtshilfe Frauenheilkd. 2020 Aug;80(8):820-833. doi: 10.1055/a-1202-2059. Epub 2020 Aug 14. PMID: 32817989; PMCID: PMC7428376.

127. 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.

128. Meldrum D. GnRH agonists as adjuncts for in vitro fertilization. Obstet Gynecol Surv. 1989 May;44(5):314-6. doi: 10.1097/00006254-198905000-00006. PMID: 2498794.

129. Lainas TG, Sfontouris IA, Zorzovilis IZ, Petsas GK, Lainas GT, Alexopoulou E, Kolibianakis EM. Flexible GnRH antagonist protocol versus GnRH agonist long protocol in patients with polycystic ovary syndrome treated for IVF: a prospective randomised controlled trial (RCT). Hum Reprod. 2010 Mar;25(3):683-9. doi: 10.1093/humrep/dep436. Epub 2009 Dec 15. PMID: 20008886.

130. Van der Linden M, Buckingham K, Farquhar C, Kremer JA, Metwally M. Luteal phase support for assisted reproduction cycles. Cochrane Database Syst Rev. 2015 Jul 7;2015(7):CD009154. doi: 10.1002/14651858.CD009154.pub3. PMID: 26148507; PMCID: PMC6461197.

131. Glujovsky D, Pesce R, Sueldo C, Quinteiro Retamar AM, Hart RJ, Ciapponi A. Endometrial preparation for women undergoing embryo transfer with frozen embryos or embryos derived from donor oocytes. Cochrane Database Syst Rev. 2020 Oct 28;10(10):CD006359. doi: 10.1002/14651858.CD006359.pub3. PMID: 33112418; PMCID: PMC8094620.

132. Derks, R. S., Farquhar, C., Mol, B. W. J., Buckingham, K., & Heineman, M. J. (2009). Techniques for preparation prior to embryo transfer. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (2), [CD007682]. https://doi.org/10.1002/14651858.CD007682

133. Ghobara T, Gelbaya TA, Ayeleke RO. Cycle regimens for frozen-thawed embryo transfer. Cochrane Database Syst Rev. 2017 Jul 5;7(7):CD003414. doi: 10.1002/14651858.CD003414.pub3. PMID: 28675921; PMCID: PMC6483463.

134. 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.

135. Karlström PO, Bergh C. Reducing the number of embryos transferred in Sweden-impact on delivery and multiple birth rates. Hum Reprod. 2007 Aug;22(8):2202-7. doi: 10.1093/humrep/dem120. Epub 2007 Jun 11. PMID: 17562674.

136. Ashrafi M, Jahangiri N, Hassani F, Akhoond MR, Madani T. The factors affecting the outcome of frozen-thawed embryo transfer cycle. Taiwan J Obstet Gynecol. 2011 Jun;50(2):159-64. doi: 10.1016/j.tjog.2011.01.037. PMID: 21791301.

137. Eftekhar M, Rahmani E, Pourmasumi S. Evaluation of clinical factors influencing pregnancy rate in frozen embryo transfer. Iran J Reprod Med. 2014 Jul;12(7):513-8. PMID: 25114675; PMCID: PMC4126257.

138. Zhang J, Liu H, Mao X, Chen Q, Fan Y, Xiao Y, ve ark.. Tümünü dondurma politikasında vücut kitle indeksinin gebelik sonuçları üzerindeki etkisi: 22.043 ilk otolog dondurulmuş-çözülmüş embriyo transferinin analizi Çin'de döngüler . *BMC Med.* (2019) 17 :114. 10.1186/s12916-019-1354-1

139. Farhi J, Ben-Haroush A, Sapir O, Fisch B, Ashkenazi J. High-quality embryos retain their implantation capability in overweight women. Reprod Biomed Online. 2010 Nov;21(5):706-11. doi: 10.1016/j.rbmo.2010.06.040. Epub 2010 Sep 28. PMID: 20880747.

140. van der Steeg JW, Steures P, Eijkemans MJ, Habbema JD, Hompes PG, Burggraaff JM, Oosterhuis GJ, Bossuyt PM, van der Veen F, Mol BW. Obesity affects spontaneous pregnancy chances in subfertile, ovulatory women. Hum Reprod. 2008 Feb;23(2):324-8. doi: 10.1093/humrep/dem371. Epub 2007 Dec 11. PMID: 18077317.

141. Rittenberg V, Seshadri S, Sunkara SK, Sobaleva S, Oteng-Ntim E, El-Toukhy T. Effect of body mass index on IVF treatment outcome: an updated systematic review and meta-analysis. Reprod Biomed Online. 2011 Oct;23(4):421-39. doi: 10.1016/j.rbmo.2011.06.018. Epub 2011 Jul 28. PMID: 21885344.

142. Pan Y, Hao G, Wang Q, Liu H, Wang Z, Jiang Q, Shi Y, Chen ZJ. Major Factors Affecting the Live Birth Rate After Frozen Embryo Transfer Among Young Women. Front Med (Lausanne). 2020 Mar 24;7:94. doi: 10.3389/fmed.2020.00094. PMID: 32266278; PMCID: PMC7105776.

143. Yang W, Zhang T, Li Z, Ren X, Huang B, Zhu G, et al.. Morfolojik olarak iyi kalitede blastosist ile dondurulmuş embriyo transfer döngülerinin klinik sonuçlarını tahmin etmede endometriyal kalınlık ve paternin birleşik analizi: Retrospektif bir kohort çalışma _ *İlaç.* (2018) 97 :e9577. 10.1097/MD.0000000000009577

144. 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.

145. 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.

146. Zenke U, Chetkowski RJ. Transfer and uterine factors are the major recipient-related determinants of success with donor eggs. Fertil Steril. 2004 Oct;82(4):850-6. doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.03.057. PMID: 15482759.

147. Berin I, McLellan ST, Macklin EA, Toth TL, Wright DL. Frozen-thawed embryo transfer cycles: clinical outcomes of single and double blastocyst transfers. J Assist Reprod Genet. 2011 Jul;28(7):575-81. doi: 10.1007/s10815-011-9551-7. Epub 2011 Mar 4. PMID: 21373800; PMCID: PMC3162061.

148. Peng Y, Ma S, Hu L, Wang X, Xiong Y, Yao M, Tan J, Gong F. Effectiveness and Safety of Two Consecutive Cycles of Single Embryo Transfer Compared With One Cycle of Double Embryo Transfer: A Systematic Review and Meta-Analysis. Front Endocrinol (Lausanne). 2022 Jun 30;13:920973. doi: 10.3389/fendo.2022.920973. PMID: 35846284; PMCID: PMC9279578.

149. Rodriguez-Wallberg KA, Palomares AR, Nilsson HP, Oberg AS, Lundberg F. Obstetric and Perinatal Outcomes of Singleton Births Following Single- vs Double-Embryo Transfer in Sweden. JAMA Pediatr. 2023 Feb 1;177(2):149-159. doi: 10.1001/jamapediatrics.2022.4787. PMID: 36469325; PMCID: PMC9857532.

150. Merviel P, Bouée S, Jacamon AS, Chabaud JJ, Le Martelot MT, Roche S, Rince C, Drapier H, Perrin A, Beauvillard D. Progesterone levels on the human chorionic gonadotropin trigger day affect the pregnancy rates for embryos transferred at different stages of development in both general and selected IVF/ICSI populations. BMC Pregnancy Childbirth. 2021 May 6;21(1):363. doi: 10.1186/s12884-021-03832-3. PMID: 33957886; PMCID: PMC8101180.

151. Kim Y, Lee E, Song JY, Kim Y, Lee S. Association between environmental pollutants and the FSH/AMH ratio as a marker of ovarian reserve. Environ Anal Health Toxicol. 2022 Dec;37(4):e2022029-0. doi: 10.5620/eaht.2022029. Epub 2022 Oct 11. PMID: 36916042; PMCID: PMC10014749.

152. Floersheim-Shachar Y, Keller PJ. Treatment of hyperprolactinemia-anovulation syndrome. Fertil Steril. 1977 Nov;28(11):1158-63. doi: 10.1016/s0015-0282(16)42910-9. PMID: 562780.

153. Glujovsky D, Blake D, Farquhar C, Bardach A. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. Cochrane Database Syst Rev. 2012 Jul 11;(7):CD002118. doi: 10.1002/14651858.CD002118.pub4. Update in: Cochrane Database Syst Rev. 2016;(6):CD002118. PMID: 22786480.

154. Martins WP, Nastri CO, Rienzi L, van der Poel SZ, Gracia C, Racowsky C. Blastocyst vs cleavage-stage embryo transfer: systematic review and meta-analysis of reproductive outcomes. Ultrasound Obstet Gynecol. 2017 May;49(5):583-591. doi: 10.1002/uog.17327. Epub 2017 Apr 10. PMID: 27731533.