

BAŞLIK: Düzenli menstrüel siklusu olan kadınlarda donmuş embriyo transferi için hafif olarak stimüle edilmiş sikluslar ile doğal siklusların kıyaslanması: randomize kontrollü çalışma

ORJİNALİNİ BAŞLIK: Frozen–thawed embryo transfer in a natural or mildly hormonally stimulated cycle in women with regular ovulatory cycles: a RCT

YAZARLAR: Karen Peeraer^{1,*}, Isabelle Couck¹, Sophie Debrock¹, Diane De Neubourg¹, Peter De Loecker¹, Carla Tomassetti¹, Annouschka Laenen², Myriam Welkenhuysen¹, Luc Meeuwis¹, Sofie Pelckmans¹, Christel Meuleman¹, and Thomas D’Hooghe¹

Giriş

İnsan embriyolarının kriokonservasyonu ilk 1983 (Trounson ve Mohr, 1983) tarif edilmiştir. O zamandan beri, -Frozen- çözülmüş embriyo transferi (FET) yaygın bir sonraki oosit işleme gerek kalmaksızın gebeliğin ek şansı sağlayan IVF-döngüsü başına kümülatif gebelik oranını artırmak için kullanılabilir olmuştur. Embriyo dondurma, çoğul gebeliği önleme, bize bir oosit aspirasyonu döngüsünden sonra tek embriyo transferi gerçekleştirmenizi sağlar ve yumurtalık hiperstimülasyon sendromu önlemek veya endometriyal hazırlık optimum değilse embriyo transferi geciktirmek için bir stratejidir.

IVF maliyetleri 43 yaşından küçük kadın hastalar için altı taze siklusa kadar sağlık sigortası kapsamındadır, koşul embriyoların sadece sınırlı sayıda kadın yaş ve çevrim rütbe bağlı transfer edilebilir olmasıdır. Belçika yasalarına göre, yeni bir siklusa embriyo yaratmadan önce dondurulmuş embriyoların kullanılması gerekmektedir. Bu merkezimizde FET döngüleri ciddi bir artışa yol açmıştır (436, 2006 yılında, 745, 2009 ve 2012 yıllarında 832 yılında) ve tüm Belçikalı merkezlerinde (2006 yılında 6020, 8878, 2009 ve 9939 2012 yılında).

FET sonra gebelik oranları taze embriyo transferine göre daha düşük olduğu bildirilmektedir. Bu durum öncelikle iyi embriyoların genellikle taze döngüde kullanılması ve ikinci embriyo dondurma ve çözme işlemi buz kristali oluşumu ile ilişkili olduğundan embriyo kalitesini düşürebilmesi ile açıklanabilir. Ancak, yeni bir embriyo vitrifikasyon yöntemiyle, ısınma ve dondurulmuş / çözülmüş embriyo başına 90-% 100 embriyo sağkalım oranları mümkün olmuştur ve yavaş dondurma canlı sonrası doğum olasılığını maksimize etmek için bize olanak oluşturmuştur.

Embriyo implantasyonu ART'nin en kritik adımıdır. En önemli parametreler embriyo kalitesi, endometrial reseptivite ve endometriyal büyüme ve embriyonik gelişim arasındaki optimum senkronizasyondur. Farklı siklus rejimleri implantasyon için en uygun koşulları yaratmak amacıyla dünya çapında kullanılmaktadır. Ancak, yakın zamana kadar bir döngü rejimi diğerlerine üstün olduğuna dair kanıt mevcut değildi. Seçenekler östrojenler ve progesteron ile endometrium yapay hazırlanması, yumurtalık uyarılması, doğal döngü FET, arasında değişir. Nitekim, FET için farklı döngü rejimlerini karşılaştıran yedi RKÇ'lerin dayalı son Cochrane derlemesinde, içinde, hiçbir rejim başka rejim üstün olmadığı sonucuna varıldı.

FET sırasında Doğal döngülerle hafif gonadotropin ile uyarılan döngüleri karşılaştıran bir araştırma yayınlanmıştır. Biz transfer çözülmüş embriyo doğal döngüsü sırasında gonadotropinlerle uyarılan bir döngünün gebelik oranının doğal döngüyle kıyasla %10 daha yüksek gebelik ile sonuçlandığı hipotezini test ettik.

Metodlar

Aralık 2003 ve Eylül 2013 tarihleri arasında Leuven Üniversitesi Doğurganlık Merkezi (LUFC), Üniversite Hastanesi Gasthuisberg (Leuven, Belçika) Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü'nde açık etiketli prospektif RCT yapıldı. Çalışma protokolü Üniversite Hastaneleri Leuven Etik Komitesi Kurumsal Değerlendirme Kurulu (ML2436) tarafından onaylandı. Araştırma kaydı 2003 yılında çalışmanın başında zorunlu olmadığından, kayıt [ClinicalTrials.gov (NCT00492934)] 2007 yılında, daha sonra yapıldı.

Çiftlerin tüm tedaviye başlamadan önce tam bir değerlendirme yapıldı. Bu değerlendirmede serum progesteron konsantrasyonu, pelvik ultrason, histeroskopi, endometrial biyopsi, luteal faz tayini, tıbbi öykü, fizik muayene, 2. Gün serum hormon tahlilleri (FSH, LH, 17-beta-östradiol) ve semen analizi bulunmaktaydı. Tubal açıklık laparoskopi sırasında ya hysterosalpingografisi veya metilen mavisi tubal testlerle ile belgelenmiştir.

Uygun çiftler randomize edildi. Çalışmaya katılanlar doğal döngüsü veya ovaryan stimülasyon sonrası FET grubuna randomize edilmiştir. Randomizasyon için kapalı opak zarflar kullanılmış ve hastalar 10'luk bloklar halinde randomize edilmiştir.

Sonuçlar

Aralık 2003 ile Eylül 2013 arasında; 291'i doğal siklus, 288'i hmg grubu olmak üzere 579 donmuş embriyo transfer siklusu yapılan 410 çift randomize edildi (Şekil 1). Siklusların çoğu 2007 ve 2010 yılları arasında gerçekleştirildi (402/579); 2007 öncesi ve 2010 sonrası kliniğimizde gerçekleştirilen diğer klinik araştırmalar bu dağılımın oluşmasında etkili olmuştur. Her iki grup da kadın yaşı, vücut kitle indeksi, fertilité cinsi ve türü, İVF veya ICSI endikasyonu, geçirilmiş taze yapay üreme siklus sayısı, dondurulmuş olmayan siklus sayısı (Tablo 1) açısından karşılaştırılabilir. Çoğunluğu tek siklusta (289 çift), 87 çift 2 siklusta, 26 çift 3 siklusta, 2 çift 4 siklusta, 6 çift 5 siklusta yer almıştır. Siklus iptal oranları ve nedenleri açısından başlanan her donmuş doğal siklus embriyo transferi (78/291 veya % 26,8) ve hmg-donmuş embriyo transferi (67/288 veya %23,3) siklusları arasında fark bulunmamıştır. Tedaviye devam etmeyenlerle ilgili ayrıntılara Tablo 3'te yer verilmiştir.

317 hastaya toplam 672 embriyo transfer edildi (332'si doğal siklus 340'ı hmg grubunda) (Şekil 1 ve Tablo 2). Hmg-donmuş embriyo transferi siklusu grubunda estradiol değerleri doğal siklus donmuş embriyo transferi siklusu grubuna göre (325 ng/l (308-341 aralığında)) daha yüksek olmasına rağmen (325 ng/l (230-264 aralığında)) endometrial kalınlık her iki grupta benzerdi; estradiol seviyeleri Gauss eğrileri ile grafiğe döküldüğünde çoğunlukla örtüşen dağılımlar izlendi (Şekil S1). Kullanılan kriyoprezervasyon tipi; yavaş dondurma veya vitrifikasyon her iki grupta benzerdi (p=0,546) (Tablo 2). Dahası tüm embriyoların transfer edilme gününe göre dağılımı (p>0,999) ve iyi kalite embriyoların dağılım gününe göre dağılımı (p=0,640) her iki grupta benzerdi. (Tablo S1)

Primer çıktımız olan embriyo transferi başına implantasyon oranı her iki grup arasında istatistiksel olarak farklı değildi (doğal siklus 41/332 (%12,35) hmg grup 55/340 (%16,18), RR 1,3(%95 güven aralığı (CI) 0,9-2,0), p=0,19)). Benzer sonuç transfer edilen embriyo başına fetal kalp atımı oranlarında da bulundu (34/322 (%10,24) doğal siklus grubunda ve 48/340 (%14,12) hmg grubunda (relatif risk 1,4 (%95 CI 0,9-2,1), p=0,15)) ve transfer edilen embriyo başına canlı doğum oranları da istatistiksel olarak anlamlı farklı değildi (doğal siklus grubunda 32/332 (%9,64) hmg grubunda 45/340 (%13,24) RR 1,4 (%95 CI 0,9-2,2), p=0,17) (Tablo 4). Aynı

Aynı gözlemler, analizimizi 3. gün çözölen ve transfer edilen embriyo grubunda sınırladığımızda (Tablo 4) da, Belçika yasalarına(göre farklı yaş gruplarında ((Belgisch Staatsblad, 2003; <36, 36-39, >40) (Tablo S2) reproduktif sonuçları karşılaştırdığımızda da ortaya çıktı. Embriyo yaşamaması nedeni ile siklus iptal oranlarını birleştirmek için dondurulan çözölen embriyo transfer siklusu başına canlı doğum oranını hesapladık ve iki grup arasında fark bulamadık (1,5 (%95 CI 0,9-2,4), p=0,097) doğal siklus %10,3 hmg grubu (%15,3)).

Endometrial kalınlık her iki grupta aynıydı (8,9 (%95 CI 8,7-9,2) doğal siklus grubunda 8,9 (%95 CI 8,7-9,1) hmg grubunda)). Bunun yanında foliküler fazın süresi hmg grubunda (13,7 (%95 CI 13,2-14,2) doğal siklus grubundan (15,4 gün (%95 CI 14,8-15,9)) anlamlı olarak kısaydı ($p < 0,001$) (Tablo 2).

Herhangi advers olay ya da hastaneye yatış bildirilmedi. Obstetrik verilerde 4 dikoryonik diamniotik ikiz (4/77(%5)):ikisi doğal siklus grubunda (2/32 (%6)) ve ikisi hmg grubunda (2/45(%4)) ve bir monokoryonik diamniotik ikiz doğal siklus grubunda (1/32(%3)) izlendi. Perinatal mortalite hmg grubunda neonatal sepsis nedeni ile bir bebekte (1/32 (%3)) görüldü. Yenidoğanlarda konjenital malformasyon izlenmedi.

Yenidoğan ünitesine yatış 12 bebekte (12/77 (%16)); 6'sı hmg grubunda 6'sı doğal siklus grubunda izlendi. Bunlar preterm doğum ve zor neonatal adaptasyonla ilişkiliydi.

Tartışma

Bu randomize kontrollü çalışmada düşük doz hmg ile ovaryan stimülasyonun her FET için implantasyon oranını doğal siklusa göre arttırdığı tezimizi doğrulayamadık. Bunun yanında hafif daha yüksek implantasyon oranları (%4 daha yüksek), klinik gebelik (%4 daha yüksek) ve canlı doğum oranları (%4 daha yüksek) olduğu trendi izlenmiştir.

Sonuç olarak bizim çalışmamızda düzenli siklusu olan hastalarda gonadotropinlerle stimülasyon doğal siklusa karşılaştırıldığında implantasyon ve canlı doğum oranlarında anlamlı başarı sağlamamaktadır. Doğal siklusun avantajı hastanın günlük enjeksiyon yapmasını gerektirmemesi ve ucuz olmasıdır. Bizim çalışmamız daha önce yapılmış randomize kontrollü çalışmalardan elde edilen bilgileri doğrulamıştır. Düzenli ovulatuvar siklusu olan hastalarda FET için doğal siklusu öneriyoruz.

Referanslar

Achache H, Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. Hum Reprod Update 2006;12:731 – 746. Aerts M, Geys H, Molenberghs G, Ryan LM. Topics in Modelling of Clustered

Data. London: Chapman & Hall/CRC, 2002. Alpha Scientist in Reproductive Medicine. The Alpha consensus meeting on cryopreservation key performance indicators and benchmarks: proceedings of an expert meeting. Reprod Biomed Online 2012;25: 146 – 167.

Andersen CY, Ezcurra D. Human steroidogenesis: implications for controlled ovarian stimulation with exogenous gonadotropins. Reprod Biol Endocrinol 2014;12:128.

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;50:159–164.

Balaban B, Urman B, Ata B, Isiklar A, Larman MG, Hamilton R, Gardner DK. A randomized controlled study of human Day 3 embryo cryopreservation by slow freezing or vitrification: vitrification is associated with higher survival, metabolism and blastocyst formation. Hum Reprod 2008; 23:1976 – 1982.

Belgisch Staatsblad June 2003. Koninklijk Besluit tot wijziging van het KB van 25 april 2002 betreffende de vaststelling en de vereffening van het budget van financiële middelen voor de ziekenhuizen, 16 June 2003:32133– 32157, art II, bijlage 4.15. Modaliteiten voor de regeling inzake medisch geassisteerde voortplanting (<http://www.ejustice.just.fgov.be>).

Belgisch Staatsblad June 2007. Wet van 6/07/2007 betreffende de medisch begeleide voortplanting en de bestemming van de overtallige embryo's en de gameten, art 9. Belgisch Staatsblad 17 June 2007:38575 – 38586 (<http://www.ejustice.just.fgov.be>).

Bjuresten K, Landgren BM, Hovatta O, Stavreus-Evers A. Luteal phase progesterone increases live birth rate after frozen embryo transfer. *Fertil Steril* 2011;95:534–537.

Bourgain C, Devroey P. The endometrium in stimulated cycles for IVF. *Hum Reprod Update* 2003;9:515 – 522.

Centers for Disease Control and Prevention, American Society for Reproductive Medicine, Society for Assisted Reproductive Technology. 2011 assisted reproductive technology fertility clinic success rates report. Atlanta: U.S. Dept of Health and Human Services, 2013. Available at: http://nccd.cdc.gov/DRH_ART/Apps/NationalSummaryReport.aspx (14 April 2014, date last accessed).

Check JH, Choe JK, Nazari A, Fox F, Swenson K. Fresh embryo transfer is more effective than frozen for donor oocyte recipients but not for donors. *Hum Reprod* 2001;16:1403–1408.

Dancet EAF, Nelen WLDM, Sermeus W, De Leeuw L, Kremer JAM, D'Hooghe TM. The patients' perspective on fertility care: a systematic review. *Hum Reprod Update* 2010;16:467–487.

Dancet EAF, Van Empel IWH, Rober P, Nelen WLDM, Kremer JAM, D'Hooghe TM. Patient-centred infertility care: a qualitative study to listen to the patient's voice. *Hum Reprod* 2011;26:827–833.

Dancet EAF, D'Hooghe TM, van der Veen F, Bossuyt P, Sermeus W, Mol BW, Repping S. 'Patient-centered fertility treatment': what is required? *Fertil Steril* 2014;101:924–926.

Debrock S, Spiessens C, Meuleman C, Segal L, De Loecker P, Meeuwis L, D'Hooghe TM. New Belgian legislation regarding the limitation of transferable embryos in in vitro fertilization cycles does not significantly influence the pregnancy rate but reduces the multiple pregnancy rate in a threefold way in the Leuven University Fertility Center. *Fertil Steril* 2005;83:1572 – 1574.

Debrock S, Melotte C, Spiessens C, Peeraer K, Vanneste E, Meeuwis L, Meuleman C, Frijns JP, Vermeesch JR, D'Hooghe TM. Preimplantation genetic screening for aneuploidy of embryos after in vitro fertilization in women aged at least 35 years: a prospective randomized trial. *Fertil Steril* 2010;93:364 – 373.

Debrock S, Peeraer K, Spiessens S, Willemen D, De Loecker P, D'Hooghe TM. The effect of modified quarter laser-assisted zona thinning on the implantation rate per embryo in frozen/vitrified- thawed/warmed embryo transfer cycles: a prospective randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2011;26:1997–2007.

De Mouzon J, Lancaster P, Nygren KG, Sullivan E, Zegers-Hochschild F, Mansour R, Ishihara O, Adamson D. World collaborative report on assisted reproductive technology, 2002. *Hum Reprod* 2009;24:2310 – 2320.

De Neubourg D, Bogaerts K, Wyns C, Albert A, Camus M, Candeur M, Degueldre M, Delbaere A, Delvigne A, De Sutter P et al. The history of Belgian assisted reproduction technology cycle registration and control: a case study in reducing the incidence of multiple pregnancy. *Hum Reprod* 2013;28:2709–2719.

De Neubourg D, Peeraer K, Debrock S, D'Hooghe T. Belgium model of coupling reimbursement of ART costs to restriction in number of embryos transferred. *BMJ* 2014;348:1559.

Dor J, Rudak E, Davidson A, Levran D, Ben-Rafael Z, Mashiach S. Endocrine and biological factors influencing implantation of human embryos following cryopreservation. *Gynecol Endocrinol* 1991;5:203–211.

Eftekhar M, Rahsepar M, Rahmani E. Effect of progesterone supplementation on natural frozen-thawed embryo transfer cycles: a randomized controlled trial. *Int J Fertil Steril* 2013;7:13–20.

Eftekhar M, Rahmani E, Pourmasumi S. Evaluation of clinical factors influencing pregnancy rate in frozen embryo transfer. *Iran J Reprod Med* 2014;12:513 – 518.

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; 89:832 – 839.

Ezoe K, Daikoku T, Yabuuchi A, Murata N, Kawano H, Abe T, Okuno T, Kobayashi T, Kato K. Ovarian stimulation using human chorionic gonadotrophin impairs blastocyst implantation and decidualization by altering ovarian hormone levels and downstream signaling in mice. *Mol Hum Reprod* 2014;20:1101–1116.

Fasano G, Fontenelle N, Vannin A-S, Biramane J, Devreker F, Englert Y, Delbaere A. A randomized controlled trial comparing two vitrification methods versus slow-freezing for cryopreservation of human embryos. *J Assist Reprod Genet* 2014;31:241–247.

Gardner DK, Schoolcraft WB. In vitro culture of the human blastocyst. In: Jansen R, Mortimer D (eds). *Towards Reproductive Certainty: Infertility and Genetics Beyond 1999*. Carnforth, UK: Parthenon Publishing, 1999, 378 – 388.

Gera PS, Tatpati LL, Allemand MC, Wentworth MA, Coddington CC. Ovarian hyperstimulation syndrome: steps to maximize success and minimize effect for assisted reproductive outcome. *Fertil Steril* 2010; 94:173 – 178.

Ghobara T, Vandekerckhove P. Cycle regimens for frozen-thawed embryo transfer. *Cochrane Database Syst Rev* 2008;1:CD003414.

preparation for women undergoing embryo transfer with frozen embryos or embryos derived from donor oocytes. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; 20:CD006359.

Groenewoud ER, Cantineau AE, Kollen BJ, Macklon NS, Cohlen BJ. What is the optimal means of preparing the endometrium in frozen-thawed embryo transfer cycles? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2013;19:458 – 470.

Imthurn B, Macas E, Rosselli M, Keller P. Effect of a programmed short-term stimulation protocol on the regulation of cryopreserved embryos. *J Assist Reprod Genet* 1996;13:709–712.

Khan KS, Daya S, Collins JA, Walter SD. Empirical evidence of bias in infertility research: overestimation of treatment effect in crossover trials using pregnancy as the outcome measure. *Fertil Steril* 1996;65:939 – 945.

Welkenhuysen M, Meeuwis L, Pelckmans S, Mol BW, Spiessens C et al. Low-dose human menopausal gonadotrophin versus clomiphene citrate in subfertile couples treated with intrauterine insemination: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2015;30:1079–1088.

Society for Assisted Reproductive Technology. National data summary 2012. Available at: https://www.sartcorsonline.com/rptCSR_PublicMultYear.aspx?ClinicPKID=0 (14 April 2014, date last accessed).

Tanos V, Friedler S, Zajicek G, Neiger M, Lewin A, Schenker JG. The impact of endometrial preparation on implantation following cryopreserved- thawed-embryo transfer. *Gynecol Obstet Invest* 1996;41:227–231.

Testart J, Lassalle B, Forman R, Gazengel A, Belaisch-Allart J, Hazout A, Rainhorn JD, Frydman R. Factors influencing the success rate of human embryo freezing in an in vitro fertilization and embryo transfer program. *Fertil Steril* 1987;48:107–112.

Kolibianakis EM, Bourgain C, Platteau P, Albano C, Van Steirteghem AC, Devroey P. Abnormal endometrial development occurs during the luteal phase of nonsupplemented donor cycles treated with recombinant follicle-stimulating hormone and gonadotropin-releasing hormone antagonists. *Fertil Steril* 2003;80:464–466.

Konc J, Kanyo K, Varga E, Kriston R, Cseh S. The effect of cycle regimen used for endometrium preparation on the outcome of day 3 frozen embryo transfer cycle. *Fertil Steril* 2010;94:767 – 768.

Kupka MS, Ferraretti AP, de Mouzon J, Erb K, D'Hooghe T, Castilla JA, Calhaz- Jorge C, De Geyter C, Goossens V; European IVF-Monitoring Consortium, for the European Society of Human Reproduction and Embryology. Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2014;10:2099–2113.

Kyrou D, Fatemi HM, Popovic-Todorovic B, Van den Abbeel E, Camus M, Devroey P. Vaginal progesterone supplementation has no effect on ongoing pregnancy rate in hCG-induced natural frozen-thawed embryo transfer cycles. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010;150:175–179.

Levi AJ, Drews MR, Bergh PA, Miller BT, Scott RT Jr. Controlled ovarian hyperstimulation does not adversely affect endometrial receptivity in in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril* 2001;76:670–674.

Van der Auwera I, Meuleman C, Koninckx PR. Human menopausal gonadotrophin increases pregnancy rate in comparison with clomiphene citrate during replacement cycles of frozen/thawed pronucleate ova. *Hum Reprod* 1994;9:556–560.

Veleva Z, Orava M, Nuojuu-Huttunen S, Tapanainen JS, Martikainen H. Factors affecting the outcome of frozen-thawed embryo transfer. *Hum Reprod* 2013;28:2425–2431.

Wang JX, Yap YY, Matthews CD. Frozen-thawed embryo transfer: influence of clinical factors on implantation rate and risk of multiple conception. *Hum Reprod* 2001;16:2316–2319.

Wilding MG, Capobianco C, Montanaro N, Kabili G, Di Matteo L, Fusco E, Dale B. Human cleavage-stage embryo vitrification is comparable to slow-rate cryopreservation in cycles of assisted reproduction. *J Assist Reprod Genet* 2010;27:549–554.

Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nigren K, Sullivan E, Vanderpoel S. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. *Fertil Steril* 2009;92:1520–1524.