

BAŞLIK: TAZE VE VİTRİFİKASYON/ÇÖZME UYGULANMIŞ TEK BLASTOKİST TRANSFERİ SİKLUSLARINDA BLASTOSEL GENİŞLEME DERECEİ CANLI DOĞUMU ÖNGÖRÜR

ORİJİNAL BAŞLIK: BLASTOCOELE EXPANSION DEGREE PREDICTS LIVE BIRTH AFTER SINGLE BLASTOCYST TRANSFER FOR FRESH AND VITRIFIED/WARMED SINGLE BLASTOCYST TRANSFER CYCLES

YAZARLAR: Qing-Yun Du, M., En-Yin Wang, Ph.D., Yan Huang, M., Xiao-Yi Guo, M., Yu Jing Xiong, M., Yi-Ping Yu, M., Gui-Dong Yao, Ph.D., Sen-Lin Shi, Ph.D., ve Ying-Pu Sun, M.D.

ENSTİTÜ: Reproductive Medical Center, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, People's Republic of China

Yardımlı üreme teknolojisinin hedefleri, sağlıklı çocukların yüksek canlı doğum oranına ulaşmasını sağlamak ve çoğul gebelik riskini minimize etmektir. Yeni nesil kültür mediumları iki pronükleusun blastokist evresine ulaşma şansını artırdılar. Vitrifikasyon, blastokistin cryoprezervasyonunda başarılı bir yöntemdir. Vitrifikasyondan önce blastösolun yapay büzüşmesi vitrifikasyon/çözme uygulanan blastokistlerin sağ kalım oranlarını artırır. Vitrifikasyon ve yapay büzüşme uygulaması ile, vitrifikasyon/çözme uygulanmış blastokist transferinde, taze blastokist transferine benzer canlı doğum oranları elde edilmektedir. Tek blastokist transferi sonucundaki klinik gebelik ve canlı doğum oranlarının, çift ET (embriyo transferi) oranlarıyla benzer olduğu ve klivaj evre tek ET oranlarından daha yüksek olduğu çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur. Üstelik taze ve vitrifikasyon/çözme uygulanmış blastokistlerde tek blastokist transferi, çift ET işlemine göre daha az sayıda çoklu gebelik vakasına sebep olmuştur.

Blastokistleri değerlendirmek için çeşitli sınıflandırma ve puanlama sistemleri önerilmiştir. Gardner ve Schoolcraft tarafından geliştirilen blastokist puanlama sistemi morfolojik parametreleri baz alır ve hali hazırda daha iyisi yoktur. Ancak, hangi parametrenin en önemli canlı doğum prediktörü olduğu çeşitli çalışmalarda tartışılmaktadır. Bazı çalışmalar iç hücre kütlesi (ICM) skorunun klinik gebelik oranıyla pozitif korelasyonda olduğunu belirtmektedir. Yakın tarihli başka çalışmalarda ise trofektoderm (TE) skorunun, hem taze hem de vitrifikasyon/çözme uygulanmış blastokist siklusundaki klinik gebelik ve canlı doğum oranı ile korelasyonlu olduğu rapor edilmiştir. Buna ilaveten, blastosöl genişleme derecesinin, tek blastokist transferinden sonraki klinik bulguların prediktörü olduğuna dair kanıtlar sunulmuştur.

Dolayısıyla bu çalışma, taze ve vitrifikasyon/çözme uygulanmış tekli blastokist transferi siklusu sonrası canlı doğum oranında ICM, TE ve blastosöl genişleme derecesinin bağımsız etkilerini öngörmeyi amaçlamıştır.

MATERYALLER VE YÖNTEMLER

Çalışma Dizaynı

Bu projede taze siklus ve vitrifikasyon/çözme uygulanmış siklus da dahil olmak üzere tek blastokist transferinin retrospektif çalışması yapıldı. Çalışma, Ağustos 2009 ile Eylül 2014 arasında Çin, Zhengzhou Üniversitesi Hastanesinin Üreme Tıbbı Merkezinde gerçekleştirildi.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri arasında, taze veya vitrifikasyon/çözme siklusunun 5.gününde elektif veya non elektif tek blastokist transferi alan hastalar da vardı. Çalışmadan dışlama kriterlerinin başına da, oosit bağışlama siklusu, yardımcı hatching (yuvalanma) alan taze sikluslar ve preimplantasyon genetik tanı alan sikluslar dahil edildi. Zhengzhou Üniversitesi Hastanesi Etik Komitesi bu retrospektif çalışmayı onayladı.

Over Stimülasyonu Protokolü

Hastalara derialtı triptorelin asetat (0.1 mg Decapeptyl, Ferring; veya 3.75 mg Diphereline, Ipsen) enjeksiyonuyla (SC) pituiter supresyon yapıldı. Hastalar pituiter supresyonu için belirlenen kritere ulaşıncaya, gonadotropin (Gonal-F, Merck Serono; Puregon, Organon; veya Fostimon, ISBA) ile over stimülasyonu başlatıldı. Lider folikül ≥ 20 mm ve foliküllerin yarıdan fazlası ≥ 16 mm olduğunda, oosit maturasyonunu tetiklemek için hCG (Ovitrelle, Merck Serono) enjekte edildi. hCG verildikten 36-38 saat sonra transvajinal ultrason yardımıyla folikül aspirasyonu gerçekleştirildi.

Blastokist Kültürü ve Puanlama

Oositler seçildi, foliküler aspirasyondan izole edildi ve kültür mediumunda (G-MOPS, Vitrolife) durulandı. 4 saatlik inkübasyonla (27) veya önceden dengelenmiş taze kültür mediumunda (G-IVF, Vitrolife) intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) tekniği yoluyla IVF ile inseminasyon yapıldı. Döllenmiş oositler daha sonra klivaj mediumuna (G1, Vitrolife) konuldu ve 16-18 saat sonra 2 pronükleusun oluşumunu baz alarak fertilizasyon konfirme edildi. 3.günde klivaj evredeki embriyolar aşağıdaki kriterlere göre puanlandı (12): blastomerlerin sayısı ve düzgünlüğü, fragmentasyon yüzdesi ve granülasyon mevcudiyeti. 3. Günde embriyolar gruplandı ve seçilen embriyolar blastokist olutmak üzere spesifik bir mediumda (G2, Vitrolife) 48 saat kültüre edildi.

5.günde Gardner ve Schoolcraft'ın puanlama sistemine (18) göre blastokistler en az iki yerel embriyolojist tarafından değerlendirildi. Kısaca blastokistler esas olarak üç morfolojik parametreye göre değerlendirildi: blastosöl genişleme derecesi, ICM skoru ve TE skoru. Genişleme aşağıdaki derecelere göre kategorize edildi: 1, boyutunun yarısından küçük blastosölülle erken blastokist; 2, boyutunun yarısını az geçen blastosölülle erken blastokist; 3, boşluğu dolduran blastosölülle tam bütün bir blastokist; 4, boyutundan daha büyük blastosölülle genişlemiş bir blastokist; 5, zona pelikuladan taşan, yuvalanan (hatching) bir blastokist; ve 6, zona pelikuladan tamamen çıkmış, yuvalanmış bir blastokist.

ICM puanlamasında aşağıdaki skorlar kullanıldı: A, sıkıca oluşmuş sayısız hücre; B, birkaç gevşekçe gruplanmış hücre; ve C, çok az sayıda hücre. TE aşağıdaki kategorilere göre değerlendirildi: A, birbirine bağlı epitelyum oluşturan çok sayıda hücre; B, gevşek bir epitelyum oluşturan bir kaç hücre; C, çok az sayıda hücre. Puanlamadan 2 saat sonra yüksek kalitedeki blastokistler ultrason desteğiyle transplante edildi ve geri kalan blastokistler aşağıda açıklanan prosedüre göre 5. veya 6. Günde vitrifikasyonla donduruldu.

Vitrifikasyon ve Çözme

Vitrifikasyondan önce bir lazer atımı kullanılarak (OCTAX lazer atışı, MTG) blastosöl yapay olarak büzüştürüldü. Vitrifikasyon ve çözme protokolleri Vit Kit (Kitazato Biopharma) talimatlarına uygun olarak geleneksel yöntemlerle (28) yürütülmüştür. Her bir blastokist dengeleme solüsyonuna (%7.5 (v/v) DMSO + %7.5 (v/v) etilen glikol) aktararak 8-10

dakika bekletildi. Blastokist daha sonra vitrifikasyon solüsyonunda (%15 (v/v) DMSO + %15 (v/v) etilen glikol + 0.5 M süktroz)30 saniye tutuldu. Hemen ardından blastokist Cryotopa konuldu ve vitrifikasyon mediumunun fazlası aspirasyonla alındı. Blastokist sıvı nitrojen altında saklandı.

Çözme esnasında, Cryotop sıvı nitrojen altında çıkarıldı ve çözme solüsyonuna (1.0 M süktroz) 1 dakikalığına daldırıldı. Blastokist daha sonra oda sıcaklığında çözücü solüsyonda (0.5 M süktroz) 3 dakika bekletildi. Blastokist oda sıcaklığında yıkama solüsyonunda 10 dakikada iki kere yıkandı ve blastokist mediumunda 3 saat kültüre edildi. Bir blastokistin hücrelerinin yarıdan fazlası sağlamsa ve blastokist tekrar genişlediyse o blastokist canlı olarak kabul edildi. Vitrifikasyon/çözme uygulanmış blastokistler, çözüldükten (28) 2 saat sonra yukarıda açıklanan Gardner ve Schoolcraft'ın puanlama sistemine(18) göre derecelendirildi.

Lazer yardımıyla hatching (embriyo traşlama) daha önce bahsedildiği gibi yürütüldü (29, 30). Zona pelikula kalınlığının üçte ikisi lazer işlemiyle (OCTAX lazer atışı, MTG) inceltilti. Lazerin gücü %100 e ayarlandı ve atım 0.5 ms sürdü. Bir noktada irradyasyon başlatıldı ve zona pelikulanın dörtte biri inceltilene kadar sürdürüldü. Vitrifikasyon/çözme uygulanmış ve tekrar genişleme derecesi 5 ve 6 olanlar dışındaki blastokistlere lazer yardımcı hatching uygulandı. Hayatta kalan blastokistler yardımcı hatching sonrası 3 saat içinde transfer edildi.

Endometrial Hazırlık

Doğal siklularda blastokist transferi ovülasyondan 6 gün sonra yapıldı. Hormon destekli siklularda, hastalara siklusun 3.gününden başlayarak 5 gün boyunca günde 3 mg E₂ valerate (Progynon, Bayer) verildi. Sonra E₂ valerate dozu endometrial kalınlığa göre düzenlendi. Vitrifikasyon/çözme uygulanmış blastokist transferinin ne zaman yapılacağına, endometrial kalınlık ve bir serum hormonu testinin sonuçlarına göre karar verildi. Hamilelik testi yapılana kadar P desteği devam ettirildi. Test pozitif çıktığında P desteğine 5 hafta daha devam edildi.

Klinik Sonuç

Asıl sonuç sağlıklı bir bebeğin doğumu olarak tanımlanan canlı doğumdu.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS 19.0 versiyonu (IBM) kullanılarak gerçekleştirildi. Kantitatif değişkenler ortalama ve SS (standart sapma) olarak sunuldu, kategorik değişkenler n ve % olarak sunuldu. Lojistik regresyon analizi, canlı doğum oranını etkileyen kirlitici değişkenleri saptamak ve incelenen blastokistin morfolojik parametreleri arasında canlı doğumun önde gelen prediktörlerini tespit etmek için yapıldı. Ki-kare testi ve Spearman sıralama korelasyon testi, blastokistin morfolojik parametreleri ve canlı doğum arasındaki potansiyel ilişkiyi tespit etmek için uygulandı. P<.05 istatistiksel olarak anlamlı şekilde değerlendirildi.

SONUÇLAR

Bu çalışmada 844 taze ve 370 vitrifikasyon/çözme uygulanmış tek blastokist transferi sikluları yer aldı. Blastokistler 5.günde transfer edildi. Tablo 1'de taze ve vitrifikasyon/çözme uygulanmış siklularda canlı doğum sonucuna göre hasta ve siklus

karakteristikleri sunulmuştur. Taze sikluslarda canlı doğum oranı %38 idi (321/844). Daha önce canlı doğum yapan kadınların yaşı, yapmayanlara göre daha düşüktü (28.4 ± 3.5 yıl), öte yandan endometrium kalınlığı daha önce canlı doğum yapan kadınlarda, yapmayanlara göre daha yüksekti. Canlı doğum gerçekleştirmiş olanlarda ana bileşen, blastosöl genişleme derecesi 2 (%26.2), 3(%45.5), veya 4(16.8) idi. Canlı doğum yapmış olan hastaların büyük kısmı (%69.2) A skorlu ICM sahibiydi, B skorluların oranı (%30.8) idi. Vitrifikasyon/çözme uygulanmış sikluslarda canlı doğum oranı %21.9 (81/370) idi. Vitrifikasyon/çözme uygulanmış blastokistlerde taze sikluslardaki fertilizasyon protokolü, canlı doğumu etkileyen, potansiyel olarak anlamlı bir faktördü ($P<.05$). Transfer edilen blastokistlerin büyük bir kısmı blastosöl tekrar genişleme derecesi 2 (%33.3) ve 3(%40.7), ICM skoru B (%60.5) ve TE skoru B (%55.6) olanlardı. χ^2 testine göre blastokistin üç morfolojik parametresi arasında, canlı doğuma ilişkin önemli faktör blastosöl tekrar genişleme derecesi idi.

Lojistik Regresyon Analiziyle Blastokist Morfolojisi ve Canlı Doğum

Taze ve vitrifikasyon/çözme uygulanmış sikluslarda lojistik regresyon analizi yoluyla, canlı doğum ile blastokist morfolojisi parametreleri ve siklus karakteristikleri arasındaki korelasyonlar Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tek varyantlı lojistik regresyon analizine göre taze sikluslarda canlı doğum oranı 35 yaş üstü hastalarda daha düşüktü (Odds oranı 0,28; güven aralığı (GA) 0,13-0,60; $P<.01$). Vücut kitle endeksi, alınan oosit sayısı, fertilizasyon protokolü ve 3.günde iyi kalitedeki embriyo sayısı gibi incelenen diğer karakteristikler bu örnekte canlı doğum oranıyla anlamlı bir korelasyon göstermedi. Blastokist morfolojisine gelince, blastosöl genişleme derecesi ve ICM skoru, tek varyantlı lojistik regresyon modelinde canlı doğumun anlamlı prediktörleri idi. B skorlu ICM (%34) ile, A skorlu ICM’ye (%40.5) göre daha düşük bir canlı doğum oranı elde edilmesine rağmen, tek varyantlı lojistik regresyon ICM A ve ICM B arasında anlamlı bir fark saptamada başarısız oldu. Trofektoderm (TE) A, B ve C skorları arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Blastosöl genişleme dereceleri 1, 2, 3, 4 ve 5 için canlı doğum oranları sırasıyla %25.5, %34.4, %43.6, %39.7 ve %50 olarak gerçekleşti ve bu değerler χ^2 testlerine dayalı olarak anlamlı ölçüde değişiklik gösterdi ($P<.05$). Tek varyantlı lojistik regresyon modelinde, blastosöl genişleme derecesi 3 olan blastokistlerde canlı doğum oranı, genişleme derecesi 2 olanlara göre (OO 1.47; GA %95, 1.05-2.07; $P=.03$) veya derecesi 1 olanlara göre (OO 2.26; GA %95, 1.40-3.66; $P=.001$) daha yüksekti. ICM skoru C, TE skoru C ve blastosöl genişleme derecesi 5 ve 6 olan blastokistlerin sayısı herhangi bir anlamlı karşılaştırma yapmak için çok küçüktü. Multivaryantlı analizde kirletici/karıştırıcıyı düzenledikten (kadın yaşı) sonra, canlı doğumla anlamlı ölçüde korele olarak yalnızca blastosöl genişleme derecesi kaldı ($P<.05$). Blastosöl genişleme derecesi 3 olan blastokistlerde canlı doğum oranı, genişleme derecesi 2 olanlara göre (OO 1.52; GA %95, 1.08-2.15; $P=.02$) veya derecesi 1 olanlara göre (OO 2.20; GA %95, 1.36-3.58; $P=.001$) daha yüksekti. Blastosöl genişleme derecesi 1 olan blastokistlerle karşılaştırıldığında, canlı doğum oranı, blastosöl genişleme derecesi 4 (OO 1.93; GA %95, 1.11-3.34; $P=.02$; düzeltilmiş OO 1.80; GA %95, 1.03-3.13; $P=.04$) veya 5 (OO 2.93; GA %95, 1.06-8.11; $P=.04$; düzeltilmiş OO 3.24; GA %95, 1.14-9.19; $P=.03$) olan blastokistlerde daha yüksekti.

Vitrifikasyon/çözme uygulanmış sikluslarda, ICM B skorlu blastokist sikluslarının canlı doğum oranı (%20.0) ICM A skorlu blastokist sikluslarına (%25.2) göre daha düşük

olmasına rağmen bu fark anlamlı değildi ($P>.05$). TE A, B ve C skorlu blastokistleri sırasıyla %22.7 (20/88), %21.7 (45/207) ve %21.3 (16/75) canlı doğum oranlarını ortaya çıkardı. TE, ICM ve blastokist tekrar genişleme derecesi, tek varyantlı lojistik regresyon analiziyle incelendi ama canlı doğum prediktörü olarak yalnızca blastösöl genişleme derecesi anlamlı bulundu. Tek varyantlı lojistik regresyon analizinde, oosit alınma yaşı, fertilizasyon protokolü ve blastösöl genişleme derecesi canlı doğum oranıyla korele bulundu. Analize göre, oosit alındığında 35 yaş veya üstü olanlarda (OO .38; GA %95, 0.17-0.86; $P=.02$) ve ICSI uygulananlarda (OO .42; GA %95, 0.22-0.82; $P=.01$) canlı doğum oranı daha düşüktü. Tek varyantlı lojistik regresyon modelde blastösöl tekrar genişleme derecesi 4 olan blastokistlerin canlı doğum oranı, tekrar genişleme derecesi 2 (OO 2.67; GA %95, 1.18-6.04; $P=.02$) veya 1 olanlara (OO 5.10; GA %95, 1.83-14.20; $P=.002$) göre daha yüksekti. Blastösöl tekrar genişleme derecesi 1 olan sikluslarla karşılaştırıldığında, blastösöl tekrar genişleme derecesi 3 olanların canlı doğum oranları daha yüksekti (OO 3.22; GA %95, 1.40-7.43; $P=.006$). Multi varyantlı lojistik regresyon analizinde, oositlerin alındığı yaş, fertilizasyon protokolü ve blastokist tekrar genişleme derecesi, bu popülasyondaki canlı doğum oranları konusunda anlamlı faktörler olarak teyit edildi. Lojistik regresyon modelinde kirleticiler düzenlendikten sonra (yani oositlerin alındığı yaş ve fertilizasyon protokolü), blastösöl tekrar genişleme derecesi 4 olan blastokistlerdeki canlı doğum oranı, tekrar genişleme derecesi 2 (OO 2.37; GA %95, 1.03-5.42; $P=.04$) veya tekrar genişleme derecesi 1 (OO 3.97; GA %95, 1.40-11.28; $P=.01$) olanlara göre daha yüksekti. Transferin yapıldığı yaş, endometriyal kalınlık, endometriyal hazırlama protokolü, infertilite türü, alınan oositlerin sayısı ve iyi kalitedeki embriyoların sayısı gibi incelenen diğer karakteristikler, bu örnekte canlı doğum oranı konusunda anlamlı faktörler değildi.

Taze ve Vitrifikasyon/çözme uygulanmış sikluslarda kombine blastokist Morfolojisiyle canlı doğum

ICM ve TE skorları aynı olan taze ve vitrifikasyon/çözme uygulanmış sikluslarda kirleticiler düzenlendikten sonra farklı blastösöl genişleme derecelerine göre canlı doğum oranları Tablo 3 de gösterilmiştir. Bu analizde taze ve vitrifikasyon/çözme uygulanmış sikluslarda, canlı doğumlardaki ICM ve TE birleşik skoru, başlıca AA, AB, BB ve BC şeklinde olmuştur. Aynı ICM ve TE skorlu blastokistler için canlı doğum oranlarının sırası, düşükten yükseğe göre blastösöl genişleme dereceleri 1,2,3 ve 4 olmuştur.

35 yaş altı hastalardaki taze sikluslarda AA için olan canlı doğum oranı derece 1 (%24.1)den derece 2 (%40.8)ye ve derece 3(%42) e genişlemeyle yükseldi. Blastösöl genişleme derecesi 5 (OO, 5.66; GA %95, 1.42-22.60; $P=.01$)olan sikluslarda canlı doğum oranı, derecesi 1 olanlara göre daha yüksekti. BB için canlı doğum oranları, genişleme derecesi 1, 2, 3 ve 4 olanlar için sırasıyla %27.6, %27, %46.9 ve %33.3 idi ve bu fark χ^2 testine göre istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<.05$). BB skoru olan 35 yaş altı hastalarda, blastösöl genişleme derecesi 3 olan sikluslarda canlı doğum oranı derecesi 1(OO, 2.34; GA %95, 1.03-5.28; $P=.04$) veya derecesi 2 (OO, 2.47; GA %95, 1.22-5.01; $P=.01$)olanlara göre daha yüksek idi. Hastalar 35 yaş altında ve BC evre blastokistleri olduğu zaman, canlı doğum oranları, blastösöl genişleme derecesi 1, 2, ve 3 olanlar için sırasıyla %35.7, %45.5 ve %75 idi.

Vitrifikasyon/  zme uygulanmış sıkluslar için fertilizasyon protokolü ve oosit alınan kadının yaşı eklendi. ICSI ile fertilizasyonu yapılmış olan AA skorlu blastokistleri olan 35 yaş altı hastalarda canlı doğum oranları, blastosöl tekrar genişleme derecesi 1, 2, 3 ve 4 olanlar için sırasıyla %0, %25, %28.5 ve %50 idi. IVF ile fertilizasyonu yapılmış olan BB skorlu blastokistleri olan 35 yaş altı hastalarda blastosöl tekrar genişleme derecesine bağlı olarak canlı doğum oranları %15.8(derece 1), %14.6(derece 2), %37.8(derece3) ve %50(derece 2) idi.

Blastokist Morfolojisi ve Canlı Doğum arasındaki Spearman Korelasyonları

Blastokist morfoloji parametreleri ile taze ve vitrifikasyon/çözme uygulanmış sıkluslardaki canlı doğum arasındaki korelasyon, sıralama toplamı testi ve Spearman korelasyon testi yoluyla Ek Tablo 1’de gösterilmiştir. Bu analizde, taze sıkluslarda hem blastosöl genişleme derecesi ($r=0.106$, $P=.002$) hem de ICM ($r=0.072$, $P=.036$) canlı doğumla korelasyonlu idi. Vitrifikasyon/  zme uygulanmış sıkluslarda sadece blastosöl tekrar genişleme derecesinin canlı doğumla korelasyonlu olduğu ($r=0.183$, $P=.000$) görüldü.

TARTIşMA

Çalışmamızın sonucunda, taze tek blastokist transferi sıkluslarında, canlı doğum oranıyla anlamlı ilişkisi olan tek blastokist morfolojisi parametresinin blastosöl genişleme derecesi olduğu ve vitrifikasyon/çözme uygulanmış blastokist transferinde bu tekrar genişleme derecesinin canlı doğumun en önemli morfolojik prediktörü olduğu ortaya  ıktı. Taze tek blastokist transferi sıkluslarında kirletici/karıştırıcı değişkenler düzenlendikten sonra taze sıkluslarda sadece blastosöl genişleme derecesi ile canlı doğum oranı arasında anlamlı bir ilişki vardı. Taze sıkluslarda tek varyantlı modelde ICM skoru ile canlı doğum oranı arasında anlamlı bir ilişki varken, çok varyantlı lojistik analizde ilişki yoktu. Vitrifikasyon/  zme uygulanmış sıkluslarda TE ve ICM skorları değil ama blastosöl tekrar genişleme derecesi canlı doğum oranı ile anlamlı korelasyon gösterdi.

Klinik sonuçlar açısından blastosöl genişlemesinin önemi yukarıda belgelendirildi. Goto ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada 1488 dondurulmuş tek blastokist transfer sıklusu incelendi ve esas olarak genişleme derecesi ile tanımlanan blastokist skorunun hamilelik sonuçlarını önemli ölçüde etkilediği bulundu.

Buna ilaveten, aynı genişleme derecesindeki blastokistlerde ICM veya TE hamilelik sonuçlarını etkilemedi. Thompson ve arkadaşları ile Ahlstrom ve arkadaşları taze tek blastokist transferi sıklusları için multi varyantlı lojistik modelde, blastokist genişleme evresinin, canlı doğum oranlarını önemli ölçüde ve bağımsız olarak öngördüğünü rapor ettiler. Vitrifikasyon/  zme uygulanmış blastokist transferi sıkluslarından sonra   z lme sonrası morfolojik karakteristiklerle canlı doğumlar arasındaki korelasyonların incelendiği çalışmada Ahlstorm ve ark. canlı doğum oranının en iyi predikt r n n tekrar yayılma derecesi olduğunu buldular. Bizim sonuçlarımız da, taze tek blastokist transferi sıkluslarında ve vitrifikasyon/çözme uygulanmış tek blastokist transferi sıkluslarında blastosöl genişleme derecesinin canlı doğumla korelasyonu olduğu hipotezini kuvvetli bir şekilde destekliyor.

Bununla beraber, bazı faktörler belirsizliğini korumaktadır. Maalesef, Goto ve ark. devam eden hamilelikte veya doğum oranlarında her bir blastokist parametresinin etkisini ya da bağımlı değişkenlerdeki blastosöl genişleme derecesinin önemini değerlendirmede. Bizim çalışmamıza karşıt olarak, bazı çalışmalarda ICM skorunun klinik sonuç öngörmede önemli olduğu rapor edildi. Yakın tarihli bazı çalışmalarda da blastokist transferinden sonra klinik sonuç için TE skorunun ICM skorundan daha iyi bir prediktör olduğu rapor edildi. Ahlstorm ve ark. ile Hill ve ark. taze tek blastokist transferi sikluslarında canlı doğum oranlarını öngörmede TE skorunun en önemli parametre olduğunu ortaya koydu. Honnma ve ark. ile Chen ve ark. vitrifikasyon/çözme uygulanmış blastokist transferi sikluslarından sonra klinik hamileliği öngörmede genişleme derecesinden ziyade TE skorunun en önemli faktör olduğunu rapor ettiler.

Bizim çalışmamızda, blastosöl tekrar genişleme derecesi, vitrifikasyon öncesi genişleme derecesiyle hemen hemen aynıydı. Vitrifikasyon öncesi yapay büzüşme uygulaması, yapay büzüşme uygulanmayanlarla karşılaştırıldığında genişlemiş ve yuvalanmış blastokistlerin sağ kalım oranlarını artırdı ve sağ kalan blastokistlerin tekrar genişlemesindeki ortalama süreyi azalttı. Bu sonuç mümkündür çünkü tekrar genişlemesini daha hızlı yapan blastokist, daha hızlı gelişme kinetiklerine sahiptir ve Na⁺/K⁺-ATPaz (pompa) blastosölün tekrar genişlemesinden sorumludur. Gelişme oranı ve blastosöl evresi, blastokist implantasyonunun başarısıyla ilişkilidir. Daha önce yapılan bir çalışmada, vitrifikasyondan önce yapay büzüşmenin uygulanmadığı durumlarda, genişlemiş/yuvalanmış blastokistlerin erken blastokistlere göre daha düşük sağ kalım ve canlı doğum oranlarına sahip olduğu bulundu. Ancak, daha büyük genişleme derecesine sahip blastokistler, yapay blastosöl büzüşmesi uygulamasıyla daha yüksek sağ kalım ve hamilelik oranlarına sahip olurlar. Blastosöl genişleme derecesi önemli olabilir çünkü artan hücre bölünmesi sayısı, hücre kavşağı kalitesi artmış, daha geniş blastosölü olan daha küçük hücrelerin sayısının artmasına yol açar. Yüksek genişleme derecesine sahip blastokistlerin daha küçük hücreleri vardır. Daha küçük hücreli blastokistlerin daha geniş yüzey/hacim rasyoları olduğu için bu blastokistlere cryoprotektanların nüfuz etmesi kolaydır ve ozmotik basınç ve hasara karşı daha iyi korunurlar. Dolayısıyla, daha yüksek genişleme derecesi olan blastokistler, vitrifikasyon ve cryoprotektan toksisitesini daha iyi tolere edebilirler.

Taze ve vitrifikasyon/çözme uygulanmış siklusların her ikisinde de blastosöl sıvı akışı nedeniyle genişler ve TE hücrelerinin sıkı kavşakları sayesinde sıvı sızıntısı önlenir. Ayrıca, genişlemiş bir blastokist muhtemelen daha iyi konturları olan hücrelere sahip olur. Blastosöl tekrar genişleme derecesinin artması hücre kaybı yüzdesinin düşmesiyle ilişkilidir. Bu çalışmanın gücü, hem taze hem de vitrifikasyon/çözme uygulanmış tek blastokist transferi sikluslarını aynı zaman periyodunda değerlendirmemizden ve blastosöl genişleme derecesinin canlı doğumu öngörmede en önemli rolü oynadığını bulmamızdan gelmektedir.

Bundan başka, Çin'deki klinik durumu doğru bir şekilde yansıtmak için, blastokistleri oluşturmak üzere iyi kalitede en az üç klivaj embriyo seçildi, hastalar hafif over hiperstimulasyon sendromu veya çoğul gebelik riski altındayken diğer embriyolara 3.günde vitrifikasyon uygulandı. Ancak, iyi kalitede embriyosu için altında olan hastaların tüm embriyoları 3.günde blastokist evresine kültüre edildi. İlaveten, multi varyantlı lojistik regresyon analizimiz, önceki çalışmalarla tutarlı bir şekilde, taze blastokist transferi sikluslarında kadının yaşının canlı doğumu etkilediğini ortaya koydu. Çalışmamızdaki

vitrikasyon/   me uygulanmış sıkluslar konusunda, önceki çalışmalara benzer şekilde, oosit alınma yaşı ve canlı doğum arasında anlamlı bir korelasyon bulundu. Vitrikasyon/   me uygulanmış blastokistlerde taze sıkluslar sırasındaki fertilizasyon protokolü, Ahlstrom ve arkadaşlarının bulgularına ters olarak, vitrikasyon/   me uygulanmış tek blastokist transferi sıkluslarındaki canlı doğum oranıyla ilişkili bulundu.

Etik sebeplerle, Gardner ve Schoolcraft'ın sistemi ve güncel konvensiyonlara dayanarak implantasyon için en iyi embrioyu seçtik. Bu işlem verilerin tarafsızlığına gölge düşürebilir çünkü blastokistlerin çoğu ICM A/B skorlu ve TE A/B skorlu idi. Laboratuvarımızda, transfer için uygun blastokistlerin seçiminde TE ve genişleme derecesi ile karşılaştırıldığında ICM daha çok tercih edilmektedir. Bununla beraber, bu çalışmada canlı doğum oranında, ICM ve TE skorlarının değil de blastosöl genişleme derecesinin daha önemli bir prediktör olduğu ortaya   ıktı. Tablo 3'de gösterildiği gibi canlı doğum oranları, aynı ICM ve TE skorları olan blastokistlerin blastosöl genişleme veya tekrar genişleme derecesiyle artış gösterdi. Bu bulgu, blastosöl genişleme derecesinin çok kuvvetli etkisini sergilemekte ve bizim blastokist seçme kriterlerinde yapacağımız düzenlemelerin canlı doğum oranlarını etkileyebileceğini göstermektedir. Sonuçlarımıza göre (Tablo 2), ICM'si A/B ve TE'si A/B skorlu, taze sıkluslarda blastosöl genişleme derecesi 3 olan blastokistlerdeki canlı doğum oranı, blastosöl genişleme derecesi 1 ve 2 olan blastokistlerden anlamlı ölçüde yüksekti. Ayrıca, vitrikasyon/    me uygulanmış sıkluslarda, ICM'si A/B ve TE'si A/B skorlu, blastosöl tekrar genişleme derecesi 4 olan blastokistlerdeki canlı doğum oranı, blastosöl tekrar genişleme derecesi 1 ve 2 olan blastokistlerdekine göre anlamlı ölçüde yüksekti.

Çalışmamız retrospektifti, bu yüzden bulguların ileriye yönelik uygulamasının (makul olsa bile çoğu vakada hastaların çok sayıda yüksek kaliteli embriyolara sahip olamayışı yüzünden) hastalar için daha iyi sonuçlar çıkartıp   ıkartmayacağı belirsizdir. Buna ilaveten, çalışmamızın örneklem sayısının küçük olması sonuçlarımızın geçerliliğini sınırlamaktadır.

Sonuç olarak, taze tek blastokist transferi sırasında ICM'si A/B ve TE'si A/B skorlu, blastosöl genişleme derecesi 3 ve 4 olan blastokistlere öncelik verilmelidir. Vitrikasyon/    me uygulanmış, ICM'si A/B ve TE'si A/B skorlu blastokistlerde, daha iyi canlı doğum oranlarına ulaşmak için öncelikle blastosöl tekrar genişleme derecesi 3 ve 4 olanları seçmeliyiz.