

İNTRASİTOPLAZMİK SPERM İNJEKSİYONU YAPILAN HASTALARDA DONDURMA ÇÖZME SIKLUSLARINDA 5. GÜN VE 6. GÜN EMBRİYO TRANSFER SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

COMPARISON OF 5th DAY VERSUS 6th DAY FROZEN EMBRYO TRANSFER RESULTS IN INTRACYTOPLASMIC SPERM INJECTION PATIENTS

Volkan EMİRDAR¹ Funda GÖDE¹ Selda Bahar DOĞAN¹ Volkan KARATAŞLI²
Gülin OKAY¹ İbrahim PALA Burcu TAMER³ Ahmet Zeki IŞIK¹

¹İzmir Ekonomi Üniversitesi Medicalpark Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, İZMİR

²Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, İZMİR

³İzmir Ekonomi Üniversitesi Medicalpark Hastanesi Tüp Bebek Merkezi Embriyoloji Laboratuvarı, İZMİR

Anahtar Sözcükler: Blastokist, embriyo transferi, gebelik

Keywords: Blastocyst, embryo transfer, pregnancy

Yazının alınma tarihi: 09.02.2021

Kabul tarihi: 10.06.2021

Online basım: 20.09.2021

ÖZ

Giriş: Bu çalışmanın amacı intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu yapılan hastalarda dondurma çözme sikluslarında 5. gün ve 6. gün embriyo transfer sonuçlarının karşılaştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: 2017-2019 yılları arasında İzmir Medikalpark Hastanesi Tüp Bebek Ünitesi'nde yapılan dondurma çözme siklusları arasında 5.(Grup 1) ve 6. gün (Grup 2) embriyo transferi yapılan hastaların dosyaları retrospektif olarak incelendi. Çalışmaya 40 yaş altında olan ve tek embriyo transferi yapılan kadın olgular dahil edildi. İki grubun klinik özellikleri, gebelik ve klinik gebelik sonuçları karşılaştırıldı. İstatistiksel analizde ortalamaları karşılaştırmada t-test ve oranları karşılaştırmada ki-kare testleri kullanıldı. $p<0.05$ istatistiksel anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Çalışmaya toplam 333 hasta dahil edildi. İki yüz doksan dört hastaya 5. gün (Grup 1), 39 hastaya ise 6. gün (Grup 2) dondurma çözme transferi uygulandı. Olguların genel klinik özelliklerine bakıldığında yaş (30.0 ± 4.6 ; 31.4 ± 4.3), infertilite süresi (4.0 ± 2.8 ; 4.7 ± 2.9), önceki siklus sayısı (2.8 ± 1.7 ; 3.4 ± 1.8), elde edilen oosit sayısı (11.3 ± 4.6 ; 11.9 ± 7.2) ve elde edilen embriyo sayısı (7.3 ± 3.2 ; 7.0 ± 4.7) açısından istatistiksel anlamlı bir farklılık saptanmadı. Hastaların gebelik sonuçlarına bakıldığında ise Grup 1'de %62.2 (183/294), Grup 2'de ise %33.3 (10/39) gebelik elde edildiği saptandı ($p<0.05$). Klinik gebelik sonuçları incelendiğinde Grup 1'de %49.2 (183/264), Grup 2'de ise %17.9 (7/39) klinik gebelik elde edildiği görüldü ($p<0.05$).

Sonuç: Dondurma çözme sikluslarında 6. gün embriyo transferi gebelik ve klinik gebelik oranları 5. gün embriyo transferine göre daha düşüktür.

SUMMARY

Introduction: The aim of this study is to compare the 5th day and 6th day frozen thawed blastocyst transfer results of intracytoplasmic sperm injection cycles.

Material and Methods: We evaluated the results of the patients who underwent frozen thawed blastocyst transfer on 5th day and 6th day after intracytoplasmic sperm injection in Izmir Economy University Medicalpark Hospital In Vitro Fertilization Unit between 2017 and 2019 retrospectively. Patients under 40 years of age and patients with single embryo transfer were included. Clinical characteristics of the patients, pregnancy rates and also clinical pregnancy rates were compared between the two groups. In statistical analysis, t-test was used to compare means and chi-square tests were used to compare rates. $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: A total of 333 patients were included in the study. Two hundred and ninety-four patients were 5th day frozen thawed blastocyst transfer group (Group 1), and the remaining 39 were 6th day frozen thawed blastocyst transfer group (Group 2). In clinical characteristics of the groups; age (30.0 ± 4.6 ; 31.4 ± 4.3), duration of infertility (4.0 ± 2.8 ; 4.7 ± 2.9), number of previous cycles (2.8 ± 1.7 ; 3.4 ± 1.8), number of retrieved oocyte number (11.3 ± 4.6 ; 11.9 ± 7.2) and number of embryos (7.3 ± 3.2 ; 7.0 ± 4.7) were not statistically different. According to pregnancy results; pregnancy rate in group 1 was %62.2 and %33.3 in group 2 ($p < 0.05$). Clinical pregnancy rates were %49.2 (183/264) in group 1 and %17.9 (7/39) in group 2 ($p < 0.05$).

Conclusion: Pregnancy rates and clinical pregnancy rates are lower in 6th day embryos compared to 5th day embryos in frozen thawed blastocyst transfer cycles.

GİRİŞ

Son yıllarda embriyo kültür sistemleri ve kültür ortamlarındaki gelişmeler ile yardımcı üreme tekniklerinde blastokist kültür oranları ve blastokist embriyo transfer uyguamalarında artış olmuştur (1). Blastokist kültürü ile embriyoların gelişim potansiyelleri daha uzun izlenebilmekte, bu sayede embriyo-endometriyum senkronizasyonu daha uyumlu hale gelmektedir. Bu kültür sistemleri ve blastokist transferi uygulamaları sadece daha iyi gebelik sonuçları değil, aynı zamanda çoğul gebelik riskini ve komplikasyonlarını azaltan daha fizyolojik bir seçenek oluşturmuştur (2). Blastokist kültürü ve transferi çoğu merkezde tek embriyo transferi uygulamasında artışa yol açmıştır (3, 4). Güncel çalışma verilerine göre yapılan taze 5. gün blastokist transferlerinde klinik gebelik oranları ve implantasyon oranları 6. gün blastokist transferine göre daha yüksek bulunmuştur (5,6). Çoğu çalışmada bu sonuçlar 6. gün blastokist transferinde endometriyal reseptivitenin azalmasıyla ilişkilendirilmiştir (7, 8). Beşinci gün ve 6. gün donmuş blastokist transferi sonrası oluşan gebelik sonuçlarını değerlendiren farklı çalışmaların sonuçlarında çelişkiler bulunmaktadır. Merek ve ark.(9) ile Kovalevsky ve ark.(10) yaptığı çalışmalarda dondurma-çözme sonrası yapılan 5. gün blastokist transferlerinde klinik gebelik oranları ve implantasyon oranları 6. gün blastokist transferine göre daha yüksek gösterilse

de; Behr. ve ark.(11) ile Kenichiro ve ark.(12) implantasyon ve gebelik oranlarında 5. gün ile 6. gün blastokist transferi arasında anlamlı farklılık saptamamışlardır. Levens ve ark.(13) tarafından yapılan çözülmüş 5. gün ve 6. gün blastokist transferleri sonrası implantasyon oranları 5. gün blastokist transferinde yüksek saptanmış, klinik gebelik oranlarında her iki grup arasında fark bulunmamıştır.

Bu çalışmada da kliniğimizde uygulanan dondurma-çözme sonrası yapılan 5. gün ve 6. gün blastokist transferleri sonuçları değerlendirilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

İzmir Ekonomi Üniversitesi Medikalpark Hastanesi Tüp Bebek Ünitesi'nde 2017-2019 yılları arasında dondurma çözme siklusları arasında 5. ve 6. gün embriyo transferi yapılan hastaların dosyaları retrospektif olarak incelendi. Çalışmaya tek embriyo transferi yapılan, 40 yaş altı 333 hasta dahil edildi. Hastaların 294'ü 5. gün blastokist transferi yapılan grup 1 hastalardan, 39' u 6. gün blastokist transferi yapılan grup 2 hastalardan oluşmaktaydı. Yumurta toplama günü 0. gün olarak kabul edildi. Oositler intrasitoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI) ile in vitro fertilize edildi. Herhangi bir sebeple embriyo transferi yapılmayan hastaların embriyoları Sage one step (Origi, Denmark) kültür mediumu ile 6. gün sonuna

kadar, %5 O₂, %6 CO₂, ve %89 N₂ ile kültüre edildi. Blastokist formasyonu ve morfolojisi 5. gün ve 6. günlerde değerlendirilerek Gardner embryo skorlama sistemi ile embriyolar skorlandı (14). İlk olarak evreleme blastokistin ekspansiyonuna göre yapıldı: grade 1 blastokistte blastosel boşluğu erken evrede izlenirken; blastosel boşluğu toplam embriyo çapının %50'sinden azını oluşturmaktaydı. Grade 2 embriyolarda blastosel boşluğu embriyo çapının %50'sinden fazlasını doldurmakta; grade 3 embriyolarda blastosel boşluğu blastokistin tamamını doldurmaktaydı. Grade 4 embriyolarda ekspansiyon artmış, zona pellusidada incelleme başlamıştı. Grade 5 embriyolarda blastokist zona pellusida dışına doğru herniye olmaya başlamış, Grade 6'da tamamen zona pellusida dışına çıkarak tam herniyasyon gerçekleşmişti. Grade 3-6 evrelerindeki embriyolarda iç hücre kitlesi ve trofoektoderm hücre topluluğu ayrı olarak skorlamaya tabi tutuldu (15). İç hücre kitlesi skorlamasında; çok sayıda iç hücre kompakt halde ve sınırları net seçilebiliyorsa A, gevşek olarak bir araya gelmiş çok sayıda iç hücre topluluğuna B, çok az sayıda ve gevşek olarak bir arada olan iç hücre topluluğuna C skoru verildi (16). Trofoektoderm skorlamasında ise; çok sayıda trofoektoderm hücresi sıkı bir şekilde epitel tabaka oluşturuyorsa A, orta sayıda trofoektoderm hücresi gevşek bir epitel tabakası oluşturuyorsa B, çok az sayıda trofoektoderm hücresi oldukça gevşek bir epitel tabakası oluşturuyorsa C kategorisinde skorlandı. 5. gün ve 6. gün blastokist embriyolar skorlandıktan sonra grade 3 ve üzeri kalitede embriyolar donduruldu. İç hücre kitlesi ve trofoektoderm tabakası her ikisi birden grade B (3BB) ve üzeri ise iyi kalite blastokist; değil ise kötü kalite blastokist olarak sınıflandırıldı.

Dondurma işlemi öncesi blastokist zona pellusidasına lazer işlemi uygulandı. Blastosel akışı için A 2.0- ms lazer (Octax Laser Shot™ System, Germany) ile iç hücre kitlesine uzak bir alandan trofoektoderm tabakaya bir delik açıldı (17). Kriyoprezervasyon işlemi Kuwayama ve ark.(18) tarafından geliştirilen cryotop metodu ile gerçekleştirildi. Küçülme sonrası blastokistler dengeleme solusyonuna transfer edilerek oda sıcaklığında 5-10 dakika dinlendirildi. Sonrasında blastokistler 1 dakika vitrifikasyon solüsyonu ile yıkandı, cryotop içine yerleştirildi, direkt sıvı

nitrojen içine batırıldı. Taşıyıcı kasetlere alınan dondurulmuş blastokistlerde kriyoprezervasyon işlemi tamamlandı. Çözme işlemi sırasında cryotoptan çıkarılan blastokistler daha önceden 37°C sıcaklığa ayarlanmış no.1 çözme solüsyonunda 1 dakikadan kısa bekletildi. Sonrasında embriyolar hızlı bir şekilde no.2 çözme solüsyonuna (dilüsyon solüsyonu) alındı ve 3 dakika oda ısısında inkübe edildi. Embriyolar no.3 solüsyon ve no.4 solüsyonun her birinde 5'er dakika bekletildikten sonra daha önceden ısıtılmış 37°C G2 kültür solüsyonuna transfer edildi. Embriyolar 24 saat inkübatörde kültür edildikten sonra ekspansiyon durumu gözlemlendi. Kısmi veya tam ekspansiyon olması hali canlılık olarak değerlendirildi ve transfere uygun olarak seçildi.

Bütün dondurma-çözme siklusları endometriyal hazırlık ve blastokist transferi programlanarak gerçekleştirildi. Menstruasyonun 2-3. gününde 2-4 mg/gün östradiol valerate oral olarak başlandı. Endometriyal kalınlık ve serum östrodiol seviyeleri ölçülerek değerlendirme yapıldı. Endometriyal kalınlık 8 mm ve üzerinde düzenli trilaminer görünüm elde edilince progesteron başlandı. Progesteron başlangıcından 6 gün sonra embriyo transferi gerçekleştirildi. Embriyo transferi sonrası 10. gün serum b-hcg ile gebelik testi yapıldı. Transfer sonrası 5. haftada ultrasonografi ile gebelik kesesi kontrolü yapıldı. İmplantasyon oranı ultrasonografi ile gözlenen gestasyonel kese sayısının transfer edilen embriyo sayısına bölünmesi ile hesaplandı. Embriyo transferi sonrası 5. haftada ultrasonografi ile tespit edilen gestasyonel kese veya fetal kardiyak aktivite klinik gebelik olarak kabul edildi.

Çalışma sonunda gebelik ve klinik gebelik sonuçları karşılaştırıldı. İstatistiksel analizde ortalama sonuçları karşılaştırmada t-test ve oranları karşılaştırmada ki-kare testleri kullanıldı. p<0.05 istatistiksel anlamlı kabul edildi. Çalışma için Dokuz Eylül Üniversitesi etik kurulundan etik onay alındı.

BULGULAR

Hastaların genel özellikleri (yaş, infertilite süresi, infertilite nedeni, önceki siklus sayısı, oosit sayısı, metafaz 2 oosit sayısı, embriyo sayısı) incelendi. Olguların genel klinik özelliklerine bakıldığında gruplar arasında yaş (30.0±4.6; 31.4±4.3), infer-

tilite süresi (4.0 ± 2.8 ; 4.7 ± 2.9), önceki siklus sayısı (2.8 ± 1.7 ; 3.4 ± 1.8), elde edilen oosit sayısı (11.3 ± 4.6 ; 11.9 ± 7.2) ve elde edilen embriyo sayısı (7.3 ± 3.2 ; 7.0 ± 4.7) açısından istatistiksel anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 1). Hastaların gebelik sonuçlarına bakıldığında Grup 1'de %62.2 (183/294), Grup 2'de ise %33.3 (10/39) gebelik elde edildiği saptandı ($p<0.05$). Klinik gebelik sonuçları incelendiğinde Grup 1'de %49.2 (183/264), Grup 2'de ise %17.9 (7/39) klinik gebelik elde edildiği bulundu ($p<0.05$) (Tablo 2).

TARTIŞMA

Blastulasyonun geç gerçekleştiği 6. gün blastokistleri için net bir yaklaşım bulunmamaktadır. Erken blastokistlerde taze transfer uygulaması veya kültür süresinin uzatılarak 6. gün transferi uygulaması ile ilgili sonuçlar için yeterli veri hala bulunmamaktadır. Literatürde geniş çaplı çalışmalardan elde edilen metaanaliz sonuçlarında 5. gün ve 6. gün dondurma-çözme sonrası yapılan

blastokist transferlerinde klinik gebelik oranları ve devam eden gebelik oranları 5. gün blastokist grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (19). Yine 994 hastada 5. gün blastokist ile 353 hastada 6. gün blastokist transferinin karşılaştırıldığı bir başka randomize kontrollü çalışmada kadın yaşı, önceki siklus sayısı, embriyo kalitesi gibi prognozu etkileyen faktörler düzenlenerek yapılan analiz sonucunda 5. gün dondurma-çözme sonrası blastokist transferi grubunda canlı doğum oranları daha yüksek saptanmıştır (20). Bir başka çalışmada; aynı folikül kohortundan elde edilen yavaş gelişen ekspansen olmamış 5. gün taze blastokist transfer sonuçları ile; yavaş gelişen, 6. gün ekspansen olan ve dondurulan blastokistlerin bir sonraki ay çözülerek yapılan transferleri karşılaştırılmış, yapılan analizde 5. gün blastulasyonu tamamlayamadan transfer edilen embriyo grubunda, 6. gün ekspansen blastokist transferine oranla klinik gebelik oranları ve canlı doğum oranları daha düşük saptanmıştır (21).

Tablo 1. Olguların klinik özellikleri

	5.gün ET ¹ (n=294)	6.gün ET ¹ (n=39)	p
Yaş (yıl, ortalama \pm standart sapma)	30.02 \pm 4.60	31.44 \pm 4.30	0.07
İnfertilite süresi (yıl, ortalama \pm standart sapma)	4.00 \pm 2.80	4.74 \pm 2.93	0.12
İnfertilite nedeni			
Primer	%79.3	%75	0.53
Sekonder	%20.7	%25	0.53
Önceki siklus sayısı	2.80 \pm 1.70	3.38 \pm 1.84	0.05
Oosit sayısı	11.34 \pm 4.59	11.97 \pm 7.18	0.45
MII ² oosit sayısı	9.44 \pm 3.76	9.84 \pm 6.63	0.57
Embriyo sayısı	7.30 \pm 3.15	7.05 \pm 4.72	0.66

¹ Embriyo transferi, ² Metafaz 2 oosit

Tablo 2. Olguları gebelik sonuçları

	5.Gün ET ¹ (n=294)	6.Gün ET ¹ (n=39)	p
Gebelik oranı	%62.2 (183/294)	%25.5 (10/39)	<0.0001
Klinik gebelik oranı	%49.2 (130/264)	%17.9 (7/39)	0.0002

¹ Embriyo transferi

Tüm bu çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde bizim de çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak 6. gün blastokist transferinde gebelik sonuçları daha düşük bulunmuştur. Bu durum blastulasyonun geç gerçekleştiği hasta grubunun daha kötü prognozlu hastalar olmasından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda da istatistiksel anlamlı fark olmasa da bu grupta infertilite süresi ve önceki siklus sayısı fazlaydı. Blastulasyondaki gecikme genetik veya metabolik olarak embriyoda olası bir problemden kaynaklanıyor olabilir. Yapılan çalışmalarda blastulasyonda gecikme olan 6. gün embriyolarından alınan biyopsiler ile preimplantasyon genetik taramada 6. gün blastokistlerinde anöploidi oranları daha yüksek saptanmıştır (22). Literatür ile uyumlu olarak bizim çalışmamızda da 6. gün dondurma-çözme blastokist sikluslarında gebelik oranları düşük bulunmuştur. Yavaş gelişen embriyolarda 5. gün blastulasyon tamamlandıysa transfer uygun bir seçenek olarak gözükmekte, fakat blastulasyon tamamlanmadıysa 6. güne kültür süresi uzatılarak 6. gün blastokist transferinde daha iyi sonuçlar alınabileceği düşünülmüştür. Eğer embriyo kalitesi iyi ise 6. gün blastokist transferi ile de iyi sonuçlar alınabilmektedir. Yine bizim çalışmamızda da uyguladığımız; 6. gün embriyolarının yavaş gelişen embriyolar olması nedeniyle 5. gün transfer edilmesinin embriyo transfer sonuçlarına olumlu etkisi olabileceği düşünülmektedir. Embriyo seçiminde morfolojik değerlendirmenin yanında embriyonun gelişim

paterni ve zamanının da önemi ortaya çıkmaktadır. Yavaş büyüyen 5. gün blastokist ile 6. gün tam ekspansiyon blastokist transferi sonuçlarının benzer olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda 6. gün yapılan dondurma-çözme blastokist transferlerinde genel olarak başarı oranlarının düşük olması hasta yaşının daha ileri olması, embriyo kalitelerinin daha kötü olması veya daha önceden uygulanan siklus sayısının fazla olması gibi nedenlere dayandırılabilir. Çalışmamızın literatüre katkısı 40 yaş altı homojen bir grup ile yapılan ve tek embriyo transferinin yapıldığı bir çalışma olmasıdır. Literatürdeki bir çok çalışmanın birden fazla embriyo transferi ile yapılmış olduğu gözükmektedir. Çalışmamızın zayıf tarafı; 6. gün blastokist transferi yapılan grubun göreceli olarak daha kötü prognozlu bir kohorttan oluşması ve gruplar arasında bir miktar prognoz farkı olmasıdır. Çalışmamızda embriyo kaliteleri eklenerek çok değişkenli analiz yapılması halinde klinik açıdan daha anlamlı sonuçlar elde edilebileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak blastokist transferinde embriyo değerlendirmesi ve seçimi sonuçları direkt etkileyen en önemli basamaklardan biridir. Aynı özelliklere sahip hasta grubunda yapılan dondurma-çözme embriyo transfer sikluslarında 6. gün embriyo transferi gebelik ve klinik gebelik oranları 5. gün embriyo transferine göre daha düşüktür.

KAYNAKLAR

1. D K Gardner , W B Schoolcraft. Culture and transfer of human blastocysts. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1999; 11(3): 307-11.
2. Glujovsky D, Blake D, Farquhar C, Bardach A. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 7: CD002118.
3. Sullivan EA, Wang YA, Hayward I, Chambers GM, Illingworth P, McBain J et al. Single embryo transfer reduces the risk of perinatal mortality, a population study. *Hum Reprod* 2012; 27(12): 3609-15.
4. Maheshwari A, Griffiths S, Bhattacharya S. Global variations in the uptake of single embryo transfer. *Hum Reprod Update*. 2011;17(1):107-20.
5. Barrenetxea G, Lopez de Larruzea A, Ganzabal T, Jimenez R, Carbonero K, Mandiola M. Blastocyst culture after repeated failure of cleavage-stage embryo transfers: a comparison of day 5 and day 6 transfers. *Fertil Steril* 2005; 83(1): 49-53.
6. Utsunomiya T, Ito H, Nagaki M, Sato J. A prospective, randomized study: day 3 versus hatching blastocyst stage. *Hum Reprod* 2004; 19(7): 1598-603.
7. Shapiro B, Daneshmand S, Garner F, Aguirre M, Ross R. Contrasting patterns in in vitro fertilization pregnancy rates among fresh autologous, fresh oocyte donor, and cryopreserved cycles with the use of day 5 or day 6 blastocysts may reflect differences in embryo-endometrium synchrony. *Fertil Steril* 2008; 89(1): 20-6.
8. Van Voorhis BJ, Dokras A. Delayed blastocyst transfer: is the window shutting? *Fertil Steril* 2008; 89(1): 31-2.

9. Marek D, Langley M, Gardner DK, Confer N, Doody KM, Doody KJ. Introduction of blastocyst culture and transfer for all patients in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril* 1999; 72(6): 1035-40.
10. Kovalevsky G, Carney SM, Morrison LS, Boylan CF, Neithardt AB, Feinberg RF. Should embryos developing to blastocysts on day 7 be cryopreserved and transferred: an analysis of pregnancy and implantation rates. *Fertil Steril* 2013; 100(4): 1008-12.
11. Behr B, Gebhardt J, Lyon J, Milki A. Factors relating to a successful cryopreserved blastocyst transfer program. *Fertil Steril* 2002; 77(4): 697-9.
12. Hiraoka K, Hiraoka K, Miyazaki M, Fukunaga E, Horiuchi T, Kusuda T et al. Perinatal outcomes following transfer of human blastocysts vitrified at day 5, 6 and 7. *J Exp Clin Assist Reprod* 2009; 6: 4.
13. Levens E, Whitcomb B, Hennessy S, James A, Yauger B, Larsen F. Blastocyst development rate impacts outcome in cryopreserved blastocyst transfer cycles. *Fertil Steril* 2008; 90(6): 2138-43.
14. Gardner DK, Lane M, Stevens J, Schlenker T, Schoolcraft WB. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil Steril* 2000; 73(6): 1155-8.
15. Glujovsky D, Blake D, Farquhar C, Bardach A. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 7: CD002118.
16. Sullivan EA, Wang YA, Hayward I, Chambers GM, Illingworth P, McBain J, et al. Single embryo transfer reduces the risk of perinatal mortality, a population study. *Hum Reprod* 2012; 27(12): 3609-15.
17. Mukaida T, Oka C, Goto T, Takahashi K. Artificial shrinkage of blastocoels using either a micro-needle or a laser pulse prior to the cooling steps of vitrification improves survival rate and pregnancy outcome of vitrified human blastocysts. *Hum Reprod* 2006; 21(12): 3246-52.
18. Kuwayama M, Vajta G, Kato O, Leibo SP. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reprod Biomed Online* 2005; 11(3): 300-8.
19. Sunkara SK, Siozos A, Bolton VN, Khalaf Y, Braude PR, El-Toukhy T. The influence of delayed blastocyst formation on the outcome of frozen-thawed blastocyst transfer: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2010; 25(8): 1906-15.
20. Ferreux L, Bourdon M, Sallem A, Santulli P, Barraud-Lange V, Le Foll N et al. Live birth rate following frozen-thawed blastocyst transfer is higher with blastocysts expanded on Day 5 than on Day 6. *Hum Reprod*. 2018 Mar 1;33(3):390-8.
21. Tannus S, Cohen Y, Henderson S, Al Ma'mari N, Shavit T, Son WY et al. Fresh transfer of Day 5 slow-growing embryos versus deferred transfer of vitrified, fully expanded Day 6 blastocysts: which is the optimal approach?. *Hum Reprod* 2019; 34(1): 44-51.
22. M Irani, N Zaninovic, C Canon, C O'Neill, V Gunnala, Q Zhan et al. A rationale for biopsying embryos reaching the morula stage on Day 6 in women undergoing preimplantation genetic testing for aneuploidy. *Hum Reprod* 2018; 33(5): 935-41.

Sorumlu yazar

Volkan EMİRDAR(Dr. Öğr. Üye.)
İzmir Ekonomi Üniversitesi Medicalpark Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, İZMİR
Tel: +9005053521487
E -posta: volkanemirdar@yahoo.com
ORCID: 0000-0003-4973-2563

Funda GÖDE (Doç.Dr.) ORCID: 0000-0002-9371-6942
Selda Bahar DOĞAN (Uzm. Dr.) ORCID: 0000-0002-8705-5447
Volkan KARATAŞLI (Doç.Dr.) ORCID: 0000-0002-4015-6494
Gulin OKAY (Uzm. Dr.) ORCID: 0000-0001-6509-523X
İbrahim PALA (Embriyolog) ORCID: 0000-0003-0020-4727
Burcu TAMER (Embriyolog) ORCID: 0000-0001-8530-2128
Ahmet Zeki IŞIK (Prof.Dr.) ORCID: 0000-0002-4717-2665