

# Uspješnost kliničkih trudnoća u KB Sveti Duh od 2015. do 2020 vraćanjem prethodno zamrznutih zametaka u prirodnim i umjetnim ciklusima

---

Perković, Ivan

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:601328>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-06**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Ivan Perković**

**Uspješnost kliničkih trudnoća u KB Sveti Duh  
od 2015. do 2020. vraćanjem prethodno  
zamrznutih zametaka u prirodnim i umjetnim  
ciklusima**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2021.**

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za ginekologiju i porodništvo Kliničke bolnice Sveti Duh Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom doc.dr.sc. Tatjane Pavelić Turudić, prim. dr. med. i predan na ocjenu u akademskoj godini 2020/2021.

## **Popis i objašnjenje kratica:**

**FET** – prijenos zamrznutih zametaka (frozen embryo transfer)

**IVF** - in vitro fertilization (izvantjelesna oplodnja)

**CPA** – cryoprotectant (krioprotektant)

**MPO** – medicinski pomognuta oplodnja

**LH** – luteinizirajući hormon

**UZV** – ultrazvuk

**hCG** – humani korionski gonadotropin

**LPS** – luteal progesterone support (potpora lutealne faze progesteronom)

**E2** – estradiol

**P4** – progesteron

**GnRH** – gonadotropine releasing hormone (hormon koji otpušta gonadotropine)

**N** – apsolutna frekvencija

**SD** – standardna devijacija

$\chi^2$  – hi-kvadrat

**p** – razina značajnosti

**NICE** – The National Institute for Health and Care Excellence (Nacionalni institut za zdravlje i kliničku izvrsnost)

## Popis tablica:

Tablica 1 Karakteristike pacijentica i postupaka prijenosa zametaka.....	14
Tablica 2 Kliničke stope trudnoće u prirodnim i umjetnim ciklusima.....	16
Tablica 3 Distribucija kliničkih stopa trudnoće ovisno o dobnim skupinama .....	17
Tablica 4 Distribucija kliničkih stopa trudnoće ovisno o stadiju prenesenih zametaka po ciklusu.....	18
Tablica 5 Distribucija kliničkih stopa trudnoće ovisno o broju prenesenih zametaka zametaka po ciklusu .....	19
Tablica 6 Distribucija kliničkih stopa trudnoće ovisno o sterilitetu .....	20

## Popis slika:

Slika 1 Prikaz prirodnog ciklusa pripreme endometrija, prilagođeno prema Noble M, Child T, 2020 (4,11) .....	5
Slika 2 Prikaz modificiranog prirodnog ciklusa pripreme endometrija, prilagođeno prema Noble M, Child T, 2020 (4,11).....	6
Slika 3 Prikaz umjetnog ciklusa pripreme endometrija, prilagođeno prema Noble M, Child T, 2020 (4,11) .....	8
Slika 4 Kliničke stope trudnoće u prirodnim i umjetnim ciklusima .....	16
Slika 5 Distribucija kliničkih stopa trudnoće ovisno o dobnim skupinama pacijentica .....	17
Slika 6 Distribucija kliničkih stopa trudnoće ovisno o stadiju prenesenih zametaka po ciklusu .....	18
Slika 7 Distribucija kliničkih stopa trudnoće ovisno o broju prenesenih zametaka po ciklusu .....	19
Slika 8 Distribucija kliničkih stopa trudnoće ovisno o sterilitetu .....	20

# Sadržaj

<b>Sažetak</b> .....	I
<b>Summary</b> .....	II
<b>1. Uvod</b> .....	1
<b>1.1 Krioprezervacija zametaka</b> .....	1
<b>1.1.1 Proces krioprezervacije</b> .....	1
<b>1.1.2 Indikacije</b> .....	3
<b>1.2 Protokoli pripreme endometrija</b> .....	4
<b>1.2.1 Prirodni ciklus</b> .....	4
<b>1.2.2 Modificirani prirodni ciklus</b> .....	6
<b>1.2.3 Potpora lutealne faze</b> .....	7
<b>1.2.4 Umjetni ciklus</b> .....	7
<b>1.2.5 GnRH agonisti</b> .....	8
<b>1.2.6 Indukcija ovulacije</b> .....	9
<b>1.3 Prijenos zametaka</b> .....	9
<b>1.3.1 Proces prijenosa</b> .....	9
<b>1.3.2 Broj zametaka</b> .....	10
<b>1.3.3 Stadij zametaka</b> .....	10
<b>1.3.4 Određivanje dana prijenosa</b> .....	11
<b>2. Ciljevi rada</b> .....	12
<b>3. Ispitanici i metode</b> .....	13

<b>4. Rezultati</b> .....	16
<b>5. Diskusija</b> .....	21
<b>6. Zaključak</b> .....	23
<b>7. Zahvale</b> .....	24
<b>8. Literatura</b> .....	25
<b>9. Životopis</b> .....	32



## Sažetak

Uspješnost kliničkih trudnoća u KB Sveti Duh od 2015. do 2020. vraćanjem prethodno zamrznutih zametaka u prirodnim i umjetnim ciklusima

**Uvod:** Postoje dva osnovna protokola pripreme endometrija prilikom vraćanja prethodno zamrznutih zametaka. Priprema endometrija u prirodnom ciklusu odvija se bez ili uz minimalnu hormonsku terapiju, dok se u umjetnim ciklusima endometrija priprema isključivo uz nadomjesnu hormonsku farmakoterapiju.

**Ciljevi:** Cilj ovog rada je usporediti stope kliničkih trudnoća kod prijenosa prethodno zamrznutih zametaka u prirodnim i umjetnim ciklusima. Također, cilj je i prikazati stope kliničkih trudnoća ovisno o dobi pacijentica, stadiju i broju prenesenih zametaka te primarnom i sekundarnom sterilitetu pacijentica.

**Materijali i metode:** Ovo istraživanje obuhvaća prijenose prethodno zamrznutih zametaka u Kliničkoj bolnici "Sveti Duh" u petogodišnjem razdoblju. Obuhvaćeno je ukupno 369 prijenosa i 323 pacijentice koji zadovoljavaju kriterije uključenja. Ishod je određen kao stopa kliničkih trudnoća. Stope su uspoređene ovisno o protokolu pripreme endometrija, dobi pacijentica, stadiju i broju prenesenih zametaka te sterilitetu pacijentica.

**Rezultati:** Utvrđena je klinička stopa trudnoća od 32,1 % (79/246) u prirodnim i 31,0 % (38/123) u umjetnim ciklusima pripreme,  $p=0,812$ . Zapažena je povećana kumulativna stopa kliničkih trudnoća kod prijenosa zametaka u stadiju blastociste, 36,7 % (104/283) naspram ranijih razvojnih stadija (brazdanje i kompaktacija) 15,1 % (13/86),  $p<0,001$ . Povećana je i kumulativna stopa pri prijenosu dva zametka 38,8 % (45/116) naspram jednog zametka 28,5 % (72/253),  $p=0,048$ .

**Zaključak:** Oba protokola pripreme pokazala su usporedivo jednake stope kliničkih trudnoća. S obzirom na moguće nuspojave hormonske terapije kod umjetnih ciklusa, kod pacijentica sa regularnim menstrualnim ciklusom prednost treba dati prirodnom protokolu. Stopa kliničkih trudnoća biti će veća pri prijenosu zametaka u stadiju blastociste naspram ranijih razvojnih stadija. Također, stopa će biti veća i pri prijenosu dva zametka, ali postoji povećana mogućnost višepodne trudnoće.

Ključne riječi: pomognuta oplodnja, protokol pripreme, umjetni ciklus, prirodni ciklus, zamrznuti zametci

## Summary

Success after returning previously frozen embryos in natural and artificial cycles at the University Hospital "Sveti Duh" in the period 2015-2020

**Background:** There are two main endometrial preparation techniques in frozen embryo transfers. The natural cycle protocol implies using none or minimal hormone agents, whereas artificial cycles are dependent on using adjuvant hormone therapy.

**Objectives:** The purpose of this study is to compare clinical pregnancy rates following frozen embryo transfers (FET) in natural and artificial cycles. Also, the goal is to analyse clinical pregnancy rates depending on the age of the participants, stages and number of transferred embryos and types of patient infertility.

**Materials and methods:** This paper includes frozen embryo transfers at University hospital "Sveti Duh" in the five year period. Three hundred sixty-nine transfers and three hundred twenty-three patients who met inclusion criteria were included. The main outcome is presented as a clinical pregnancy rate. The rates are compared depending on the endometrial preparation protocol, the age of the patients, stages and number of transferred embryos and type of patient infertility.

**Results:** The study showed clinical pregnancy rates of 32.1% (79/246) in natural and 31.0% (38/123) in artificial cycles,  $p=0.812$ . Increased cumulative clinical pregnancy rate was observed in transfers of blastocyst stage embryos, 36.7% (104/283) compared to cleavage stage embryos 15.1% (13/86),  $p<0.001$ . In addition, increased cumulative clinical pregnancy rate was observed in transfers of two embryos, 38.8% (45/116) compared to single embryo transfer 28.5% (72/253),  $p=0.048$ .

**Conclusion:** There was no significant difference found between natural and artificial cycles in frozen embryo transfers. Due to the possible side effects of artificial cycle protocols, in patients with regular menstrual cycles the advantage is to be given to the natural cycle endometrium preparation. Clinical pregnancy rate is to be higher when transferring blastocyst stage embryos compared to cleavage stage. Also, clinical pregnancy rate will be higher when transferring two embryos, but there is an increased risk of multiple pregnancy.

Keywords: in vitro fertilization, frozen embryo transfer, artificial cycle, natural cycle, clinical pregnancy rate

# 1. Uvod

## 1.1 Krioprezervacija zametaka

### 1.1.1 Proces krioprezervacije

Tehnologije zamrzavanja zametaka u širokoj su uporabi prilikom provođenja postupaka izvantjelesne oplodnje (IVF). Najnovije tehnike krioprezervacije omogućavaju pohranu bioloških tkiva i stanica hlađenjem tekućim dušikom na temperature od  $-195.79\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Takva kriopohrana biološkog materijala sprječava njegovu biološku aktivnost uključujući sve biokemijske reakcije uključene u staničnu smrt. Prilikom procesa zamrzavanja zametci su izloženi velikoj količini fizičkog stresa koji je uzrokovan direktno učincima niskih temperatura ili samim stvaranjem kristala leda (1).

Krioprotektanti (CPA) su tvari čija je uloga spriječiti oštećenja koja bi mogla nastati postupkom smrzavanja. Oni djeluju snižavanjem točke leđišta određene otopine te stabiliziraju intracelularne proteinske strukture (2). Dijelimo ih u dvije grupe ovisno o mogućnosti prolaska kroz staničnu membranu. Najčešći permeabilni krioprotektanti su glicerol i etilen glikol, a saharoza je najčešći nepermeabilni krioprotektant. Saharozu se također dodaje prilikom procesa otopanja kako bi se smanjio osmotski stres. Uz krioprotektante, otopine za krioprezervaciju sadrže i soli te pufere (1).

Dvije osnovne metode krioprezervacije su sporo zamrzavanje (engl. „slow freezing“) i vitrifikacija koje se temelje na dehidraciji stanica i upotrebi krioprotektanata. Sporo zamrzavanje podrazumijeva postupno hlađenje te uporabu niskih koncentracija CPA. Takav pristup smanjuje toksičnost postupka, ali ne eliminira stvaranje kristala leda (1). Vitrifikacija je metoda ultra brzog zamrzavanja (engl. „ultra rapid vitrification“) kojom se smanjuje mogućnost stvaranja unutarstaničnih i izvanstaničnih kristala leda (3) te koristi visoke koncentracije CPA (1). Oba postupka uključuju pohranu zametaka na nosače u obliku slamki koje se potom spremaju u spremnike sa tekućim dušikom. Vitrifikacija je danas najčešća metoda izbora zbog veće brzine postupka, manje cijene opreme te eliminacije kristala (1).

Zametke je moguće krioprezervirati u bilo kojem stadiju razvoja, od pronuklearnog (1.dan), stadiju brazdanja ( od 2. do 4. dana) te stadiju blastociste (5. i 6. dan). Najčešće se pohranjuju visokokvalitetni zametci od 3. do 5. dana razvoja. Dio zametaka prestaje se razvijati zbog kromosomskih abnormalnosti, oksidativnog stresa ili drugih faktora (4).

Postupkom odmrzavanja zametak se uranja u posebne medije koji su prethodno zagrijani na 37°C različite osmolarnosti za ponovnu rehidraciju zametaka (1).

U Republici Hrvatskoj, Zakon o medicinski pomognutoj oplodnji (MPO) dopušta čuvanje pohranjenih zametaka na teret Hrvatskog zavoda za zdravstveno osiguranje do pet godina. Nakon isteka pet godina, trošak čuvanja obvezni su snositi bračni, odnosno izvanbračni drugovi (5).

### 1.1.2 Indikacije

Indikacije za zamrzavanje i pohranu zametaka možemo podijeliti na elektivne i ne-elektivne. Elektivne indikacije izbor su samog pacijenta, a ne-elektivne podrazumijevaju hitna i po život opasna stanja (6).

Jedna od elektivnih indikacija je preimplantacijsko genetičko testiranje prilikom kojega se zametci pohranjuju za transfer u budućim ciklusima nakon testiranja (7). Također, pohranom viška zametaka možemo smanjiti broj zametaka koje prenosimo u jednom ciklusu te tako smanjujemo rizik ujedno višepodne trudnoće i potrebe za ponovljenim ciklusima stimulacije ovulacije, a povećamo kumulativnu uspješnost trudnoće (8).

Glavna ne-elektivna indikacija je izbjegavanje sindroma hiperstimulacije jajnika. Umjesto nastavka postupka i transfera svježih zametaka u istom ciklusu, iste pohranimo te jajnicima dopustimo oporavak nakon ciklusa stimulacije u kojem je došlo do pretjeranog razvoja folikula. Transfer potom vršimo u budućim ciklusima (9). Također, povišene razine progesterona u kasnoj folikularnoj fazi povezuju se sa smanjenom stopom trudnoće, što također može biti indikacija za pohranu zametaka (10). Od ostalih indikacija potrebno je spomenuti još anatomske abnormalnosti maternice te pacijente koji boluju od malignih oboljenja (1).

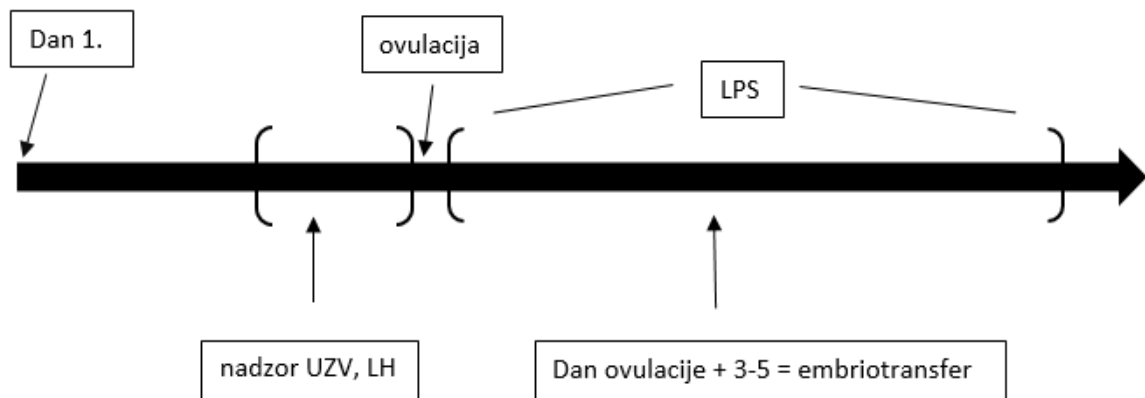
## **1.2 Protokoli pripreme endometrija**

Prije nego se započne proces odmrzavanja ranije kriopohranjenih zametaka endometrija se mora pripremiti tako da se nalazi u stanju najveće receptivnosti. Endometrija je moguće pripremiti koristeći četiri različita protokola pripreme: prirodni ciklus, modificirani prirodni ciklus, umjetni ciklus te ciklus blage ovarijske stimulacije (4).

### **1.2.1 Prirodni ciklus**

Najlakši način pripreme endometrija za implantaciju je prirodni ciklus (11). Potpuno prirodni ciklus pripreme endometrija u pravilu isključuje primjenu lijekova te je iz tog razloga pogodan za velik broj žena. Obvezan uvjet za primjenu ovog protokola je postojanje regularnih ovulatornih ciklusa s obzirom da postupak ovisi o spontanoj ovulaciji. Također, potrebno je nadzirati ciklus ultrazvučno, ponekad i u kombinaciji sa određivanjem vrijednosti luteinizirajućeg hormona (LH) u urinu i krvi, sve u cilju prepoznavanja LH skoka koji određuje ovulaciju (12). Još uvijek postoje velike nesuglasice oko najefikasnijeg načina nadziranja ciklusa. Česti pristup uključuje nadzor ultrazvukom za kojim slijedi LH test iz urina ili krvi. U obzir treba uzeti da se povećanje LH u urinu očituje 21 sat kasnije nego povećanje u krvi (13). LH skok definira se kao povećanje vrijednosti LH za 180 % iznad razine u prethodna 24 sata (14). Identifikacija samog LH skoka može predstavljati problem. Postoje varijabilnosti LH skoka između pojedinih ciklusa (15). Ovulacija nastupa 28-36 sati nakon početka LH skoka ili 8-20 sati nakon vršne vrijednosti LH (16).

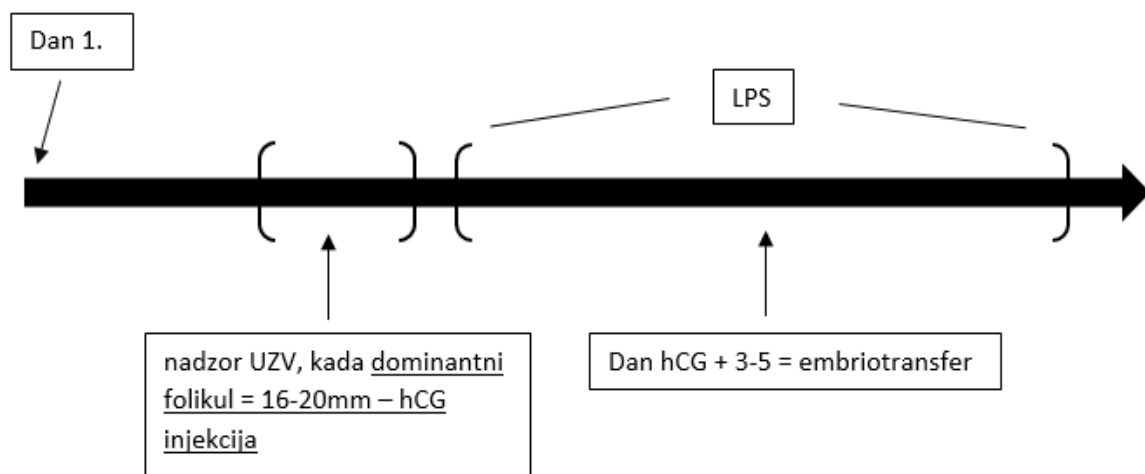
Transfer zametaka obavlja se od trećeg do petog nakon ovulacije, ovisno o tome kada su zametci zamrznuti (17). Prednost potpuno prirodnog pristupa je i manja cijena (4). Neka istraživanja povezala su prirodne cikluse sa većom stopom poništenja ciklusa od 8-15 % u usporedbi sa 1-2 % za umjetne cikluse (12,18). Do poništenja ciklusa može doći ako ne postoji dominantni folikul, izostane LH skok, dođe do krvarenja ili endometrij nije adekvatne debljine (4).



Slika 1 Prikaz prirodnog ciklusa pripreme endometrija, prilagođeno prema Noble M, Child T, 2020 (4,11)

## 1.2.2 Modificirani prirodni ciklus

Glavna prednost modificiranog prirodnog ciklusa je uporaba egzogenog hCG okidača kojim možemo preciznije odrediti vrijeme ovulacije. Dominantni folikul se prati ultrazvučno do veličine 16-20 mm u promjeru, nakon čega se primjeni injekcija hCG koja uzrokuje finalno sazrijevanje folikula i ovulaciju (4). Ovaj protokol ne zahtijeva određivanje koncentracije LH, ali je nužan nadzor ultrazvukom kako bi pratili razvoj dominantnog folikula i odredili adekvatno vrijeme za primjenu hCG (11). Jedna studija negativno je povezala porast razine LH više od 13 mIU/ml prije primjene hCG-a sa kliničkom stopom trudnoće. U tom slučaju potrebno je odustati od modificiranog ciklusa te čekati spontanu ovulaciju (19). Ovulacija obično nastupa 36-38 sati nakon primjene hCG (20). Transfer zametaka obavlja se kao u i potpuno prirodnom ciklusu tri do pet dana nakon ovulacije, ovisno o tome kada su zametci zamrznuti (17).



Slika 2 Prikaz modificiranog prirodnog ciklusa pripreme endometrija, prilagođeno prema Noble M, Child T, 2020 (4,11)



### 1.2.3 Potpora lutealne faze

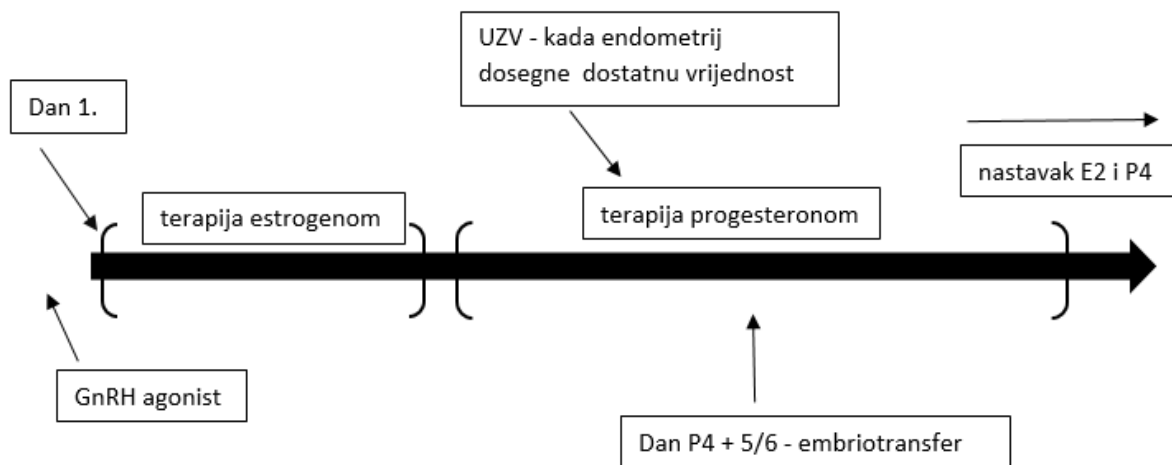
Lutealna faza definira se kao razdoblje između ovulacije i početka menstrualnog krvarenja (21). Prevalencija lutealne insuficijencije u prirodnim ciklusima u normo-ovulatornim pacijentima iznosi otprilike 8 % (22). Lutealna insuficijencija označava vrijednost serumskog progesterona ispod 10 ng/ml (23). Potpora lutealne faze progesteronom (LPS) u prospektivnom istraživanju pozitivno je povezana sa stopom trudnoća kod potpuno prirodnih ciklusa uporabom mikroniziranog vaginalnog progesterona (24). Retrospektivna analiza nije pronašla razlike u kliničkoj stopi trudnoća uporabom LPS (25). Kod modificiranih prirodnih ciklusa, prospektivne i retrospektivne studije nisu pokazale razlike između ishoda trudnoće uporabom LPS (26,27). Korisnost terapije progesteronom u lutealnoj fazi ostaje nejasan. Također, ne postoje dokazi koji negativno povezuju LPS sa trudnoćom (4).

### 1.2.4 Umjetni ciklus

Priprema endometrija umjetnim ciklusom omogućava embriotransfer kod žena koje su anovulatorne ili imaju neredovite cikluse. Ciklus uključuje primjenu oralnih i/ili subkutanih pripravaka estrogena kako bi se inducirala endometrijska proliferacija. Endometrij se nadzire ultrazvučno i kada se dosegne ciljana vrijednost, nakon otprilike dva tjedna, uvodi se progesteron kako bi se inducirala decidualizacija endometrija (4). Za početak primjene progesterona debljina endometrija mora biti minimalno 8 mm (28). Cochrane sustavni pregled pokazao je da su stope trudnoće najviše kada se progesteron uvede na dan ili dan nakon onoga dana ciklusa kada bi teoretski izveli punkciju jajnika (29). Progesteron se primjenjuje vaginalno ili intramuskularno (30).

Embriotransfer se obavlja peti ili šesti dan nakon početka terapije progesteronom. Umjetni ciklus omogućava fleksibilnost i precizno određivanje dana transfera (4). Moguće je modificirati duljinu proliferativne faze bez negativnog učinka na stope trudnoće (31). Standardna doza estradiol valerata iznosi 6 mg dnevno (32). Ako dođe

do trudnoće, estrogen i progesteron nastavljaju se uzimati do formiranja placente kako bi nadomjestili nedostatak žutog tijela (12). Ne postoji konsenzus oko točnog razdoblja prestanka terapije E2 i P4, ali većina klinika obustavlja terapiju oko 12. tjedna gestacije (33). Također, kako se umjetni ciklus oslanja na primjenu hormonske terapije u obzir je potrebno uzeti i moguće nuspojave iste.



Slika 3 Prikaz umjetnog ciklusa pripreme endometrija, prilagođeno prema Noble M, Child T, 2020 (4,11)

### 1.2.5 GnRH agonisti

Osim estrogena, moguće je primjeniti i GnRH agoniste prilikom umjetnog protokola pripreme kako bi spriječili spontanu ovulaciju (34). Cilj je postići supresiju i regulaciju hipofize na nižu vrijednost. GnRH agonisti primjenjuju se subkutano ili intranazalno otprilike tri tjedna prije početka terapije estrogenom (4). Postoji prospektivna klinička kontrolirana studija koja je utvrdila da uporaba GnRH agonista pozitivno utječe na stopu trudnoća i implantaciju. Stopa trudnoće iznosila je 65.5 % naspram 42 % u grupi koja nije primila GnRH agonist te su rezultati označeni kao statistički značajni (35). Druga studija pokazala je da uklanjanje primjene GnRH agonista ne utječe negativno na stopu implantacije i trudnoću (36). Uzevši u obzir manjak dokaza te povećanu cijenu ciklusa uporabom GnRH agonista, isti se rijetko primjenjuje.

## **1.2.6 Indukcija ovulacije**

Literatura upućuje na još jedan, manje primjenjivani protokol pripreme endometrija. Prijenos prethodno zamrznutih zametaka moguć je i u ciklusu blage stimulacije jajnika. Ovaj protokol namijenjen je ženama koje imaju anovulatorne ili iregularne cikluse. Za blagu stimulaciju mogu se koristiti niske doze gonadotropina, klomifen, tamoksifen ili inhibitori aromataze kao letrozol (12). Problemi ovog pristupa su veća cijena postupka, povećan rizik sindroma hiperstimulacije, potreba za preciznim nadzorom i ograničeno planiranje točnog dana prijenosa te stoga protokol nije u uporabi u većini klinika (4,12). Iako je broj istraživanja ograničen, postoje dokazi koji upućuju da letrozol pozitivno utječe na uspješnost trudnoće (37).

## **1.3 Prijenos zametaka**

### **1.3.1 Proces prijenosa**

Transfer zametaka rutinski se odvija transcervikalnim putem. Proces započinje postavljanjem spekuluma u vaginu i vizualiziranjem vrata maternice. Nakon toga, u maternicu se uvodi kateter koji sadrži zametke te se isti ispuste u maternicu. Postoji nekoliko problema koji se mogu javiti prilikom prijenosa: uterina kontraktilnost može uzrokovati izbacivanje zametaka, cervikalni mukus može blokirati vrh katetera te je potrebno osigurati da je kateter prošao unutrašnje ušće maternice. Uterinu kontraktilnost sprječavamo uporabom mekih katetera te izbjegavamo dodirivanje fundusa maternice. Rotacijom katetera moguće je osigurati prolazak unutrašnjeg ušća. Ako se kateter ne može slobodno rotirati moguće je da je zapeo u cervikalnom kanalu (38). Također, neke klinike koriste ultrazvuk za navođenje prijenosa, što se pokazalo uspješnim (39).

### **1.3.2 Broj zametaka**

Odluka o prijenosu jednog ili dva zametka bazirana je na dobi žene, kvaliteti zametaka te o prethodnom neuspjehu postupka. NICE (The National Institute for Health and Care Excellence) kliničke smjernice nalažu prijenos jednog zametka u prvom pokušaju kod žena ispod 37 godina starosti. Kod žena između 37 i 39 godina starosti u prvom pokušaju prenosi se jedan zametak veće kvalitete, dva zametka samo ako su lošije kvalitete. Kod žena iznad 40 godina starosti u prvom i svakom narednom pokušaju prenose se dva zametka. U drugom pokušaju kod žena ispod 40 godina prenosi se jedan zametak veće kvalitete ili dva lošija. U trećem pokušaju prenose se dva zametka (40). Bitno je imati na umu da prijenos većeg broja zametaka povećava vjerojatnost trudnoće, ali isto tako veća je vjerojatnost višepodne trudnoće (41). U Republici Hrvatskoj Zakon o MPO dopušta prijenos najviše dva zametka u jednom ciklusu, ostali se zamrzavaju (5).

### **1.3.3 Stadij zametaka**

Prijenos zametka moguć je u stadiju brazdanja što označava drugi i treći dan gestacije, stadiju kompaktacije 4. dan i stadiju blastociste što označava peti i šesti dan gestacije (42). Brazdanje obuhvaća 6-stanični, 8-stanični stadij te morule. Istraživanja ukazuju na veću uspješnost prijenosa razvojnog stadija blastociste naspram prijenosa ranijih razvojnih stadija (42,43).

### 1.3.4 Određivanje dana prijenosa

Kod prirodnih ciklusa, razdoblje u kojem je moguća implantacija započinje postovulatornim porastom razine progesterona i traje naredna dva do četiri dana (31). Porast se očituje razinama progesterona od 3-10 ng/ml te je uzrokovan hormonskom funkcijom žutog tijela (30). Moguće je razmotriti prijenose različitih dana kod potpuno prirodnih i modificiranih prirodnih ciklusa. Ovulacija nastupa 36-48 sati nakon primjene hCG, ali isto tako 24-56 sati nakon spontanog LH skoka (44). Za potpuno prirodne cikluse dan prijenosa je dan nakon LH skoka jednak danu gestacije zametka zbrojenim sa jedan, što bi značilo da ćemo zametak petoga dana gestacije prenijeti šesti dan nakon LH skoka. Za modificirane prirodne cikluse, danu gestacije dodaju se dva dana, zametak petoga dana gestacije prenosi se sedmi dan nakon LH skoka (30).

Početak terapije progesteronom određuje dan prijenosa u umjetnim ciklusima. Progesteron se uvodi na dan kada bi u teoriji izveli punkciju jajnika. Prijenos se izvodi na dan nakon početka terapije progesteronom jednak danu gestacije zametaka zbrojenim sa jedan, zametak petoga dana gestacije prenosi se šesti dan terapije progesteronom (30).

## **2. Ciljevi rada**

Primarni cilj ovog rada je usporediti kliničke stope trudnoća nakon prijenosa prethodno zamrznutih zametaka u prirodnim i umjetnim ciklusima pripreme endometrija u Kliničkoj bolnici Sveti Duh u razdoblju od 2015. do 2020. godine. Time će biti utvrđeno postoje li prednosti između prirodnih i umjetnih protokola pripreme endometrija kod transfera prethodno zamrznutih zametaka. Također, cilj je i prikazati distribuciju opaženih kliničkih stopa trudnoće u prirodnim i umjetnim ciklusima ovisno o dobi pacijentica, broju i vrsti prenesenih zametaka po ciklusu te sterilitetu pacijentica.

### 3. Ispitanici i metode

Ovo retrospektivno istraživanje obuhvaća pacijentice u postupku krio-embriotransfera u Klinici za ženske bolesti i porode Kliničke bolnice Sveti Duh u razdoblju od 1.1.2015. do 31.12.2019. godine. Kriteriji isključenja pacijentica su prisustvo nestandardnog postupka pripreme endometrija te nedostatak podataka o vrsti ciklusa pripreme ili kliničkoj trudnoći. Uz podatke o vrsti protokola pripreme endometrija i kliničkoj trudnoći prikupljeni su i podaci o dobi pacijentica, sterilitetu te broju i stadiju prenesenih zametaka. Nakon isključenja, u petogodišnjem razdoblju obuhvaćeno je ukupno 369 transfera i 323 pacijentice. Od toga je 212 pacijentica ima primarni sterilitet, a 157 sekundarni sterilitet. U Tablici 1 prikazane su karakteristike pacijentica i postupaka prijenosa zametaka. Prosječna životna dob pacijentica iznosila je  $37,1 \pm 4,1$  godine. U prirodnom protokolu bilo je 246 postupaka, a u umjetnom protokolu 123 postupka. Najčešće je prenošen jedan zametak u stadiju blastociste.

Podaci su prikupljeni iz baze podataka Laboratorija za humanu reprodukciju Kliničke bolnice Sv. Duh. Pacijentice su podijeljene u dvije grupe ovisno o protokolu pripreme endometrija: prirodni i umjetni ciklus. U grupi prirodni ciklus uključene su pacijentice kojima je endometrij pripremljen potpuno prirodnim i modificiranim prirodnim protokolom pripreme. Grupa umjetni ciklus sadržava samo pacijentice kojima je endometrij pripremljen umjetnim putem estrogenom i progesteronom. Kod pacijentica koje su imale više od jednog transfera svaki transfer unesen je neovisno te je obrađen pojedinačno ovisno o protokolu pripreme.

Tablica 1 Karakteristike pacijentica i postupaka prijenosa zametaka

**protokol pripreme**

	<b>prirodni</b>	<b>umjetni</b>	<b>ukupno</b>
<b>broj pacijentica<sup>1</sup></b>	218	105	323
<b>broj transfera<sup>1</sup></b>	246	123	369
<b>dob pacijentica<sup>2</sup></b>	37,0 ± 3,9	37,4 ± 4,5	37,1 ± 4,1
<b>sterilitet:<sup>1</sup></b>			
<b>primarni</b>	139	73	212
<b>sekundarni</b>	107	50	157
<b>broj prenesenih zametaka po ciklusu:<sup>2</sup></b>	1,3 ± 0,4	1,4 ± 0,5	1,3 ± 0,5
<b>stadij prenesenih zametaka:<sup>1</sup></b>			
<b>blastocista</b>	190	93	283
<b>brazdanje i kompaktacija</b>	56	30	86

1 - N

2 - srednja vrijednost ± SD



U prvom dijelu istraživanja uspoređena je klinička stopa trudnoće u prirodnom i umjetnom protokolu pripreme endometrija. Uključeno je 369 transfera. U drugom dijelu istraživanja prikazana je distribucija opaženih kliničkih stopa trudnoće, također u dva protokola pripreme, ovisno o dobnim skupinama pacijentica, broju i vrsti prenesenih zametaka po ciklusu te sterilitetu pacijentica. Definirane su tri dobne skupine: <35, 36-40 i 41> godina starosti. Ovisno o broju prenesenih zametaka određene su dvije skupine: jedan zametak i dva zametka. Vrste prenesenih zametaka podijeljene su na stadij brazdanja koji uključuje 6-stanične, 8-stanične zametke, morule, stadij kompaktacije te stadij blastociste. Ovisno o sterilitetu pacijentice su podijeljene na primarni i sekundarni sterilitet. Primarni sterilitet ili neplodnost označava odsustvo začeca ili živorođenog porođaja kod žena koje žele dijete i koje su u spolnoj vezi najmanje 12 mjeseci, a nisu koristile kontraceptive. Sekundarni sterilitet ili neplodnost označava odsustvo začeca ili živorođenog porođaja kod žena koje žele dijete i koje su u spolnoj vezi najmanje 12 mjeseci, a nisu koristile kontraceptive, s time da su prethodno bile trudne ili iznijele trudnoću koja je rezultirala živorođenjem (45).

Ishodi istraživanja određeni su kliničkom stopom trudnoće. Klinička stopa trudnoće jednaka je broju kliničkih trudnoća podijeljenim sa brojem prijenosa zametaka. Kumulativna klinička stopa trudnoće označava kliničku stopu trudnoće u umjetnim i prirodnim ciklusima zajedno. Klinička trudnoća definirana je prisutnošću otkucaja fetalnog srca na ultrazvuku.

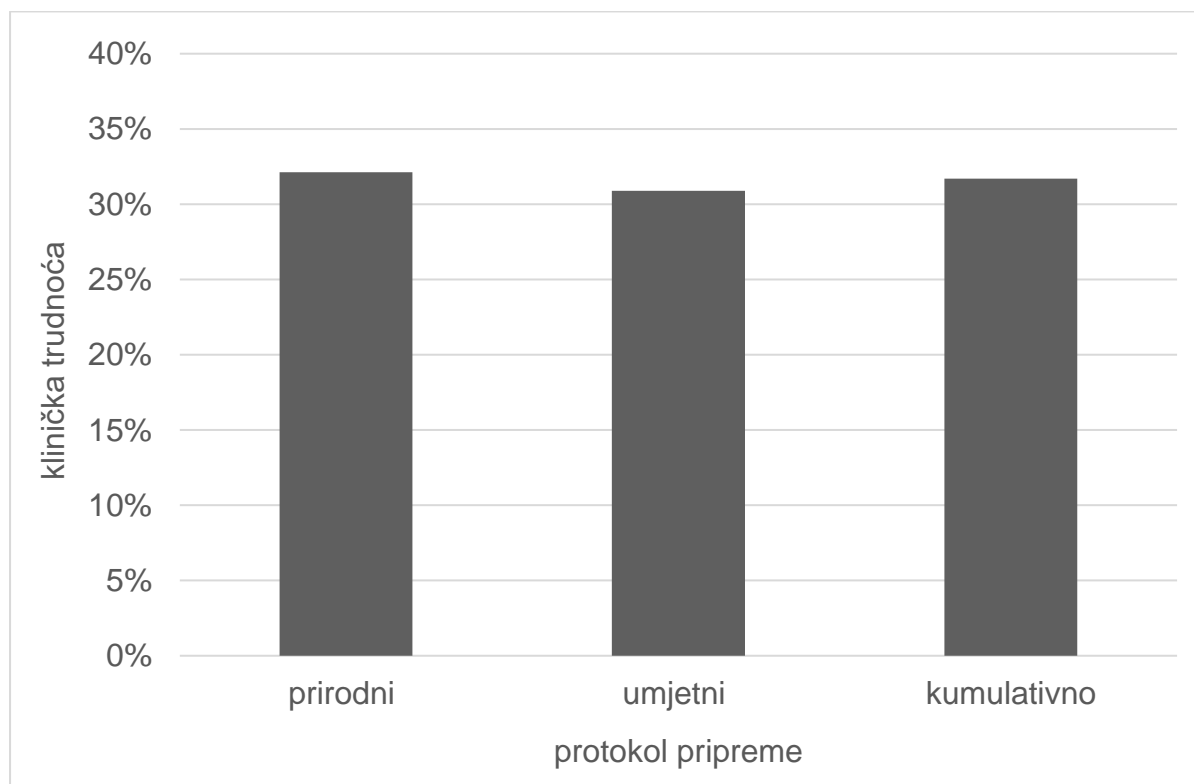
Statistička analiza provedena je u programu JASP Pearsonovim  $\chi^2$  testom. Određena je razina značajnosti  $p \leq 0,05$ . U drugom dijelu rada hi-kvadrat test je stratificiran ovisno o protokolu pripreme endometrija.

## 4. Rezultati

Zabilježeno je 79 kliničkih trudnoća kod prirodnog protokola pripreme endometrija i 38 kliničkih trudnoća kod umjetnog protokola. Kumulativna klinička stopa trudnoće iznosi 31,7 % (117/369). Klinička stopa trudnoće u prirodnom protokolu pripreme endometrija iznosi 32,1 % (79/246), a u umjetnom protokolu 31,0 % (38/123). Statistička analiza pokazala je da razlike nisu statistički značajne,  $\chi^2$  (1, N=369) = 0,06, p=0,812.

Tablica 2 Kliničke stope trudnoće u prirodnim i umjetnim ciklusima

	protokol pripreme		
	prirodni	umjetni	p-vrijednost
<b>klinička trudnoća</b>	79/246 (32,1 %)	38/123 (31,0 %)	0,812
<b>kumulativno</b>	117/369 (31,7 %)		

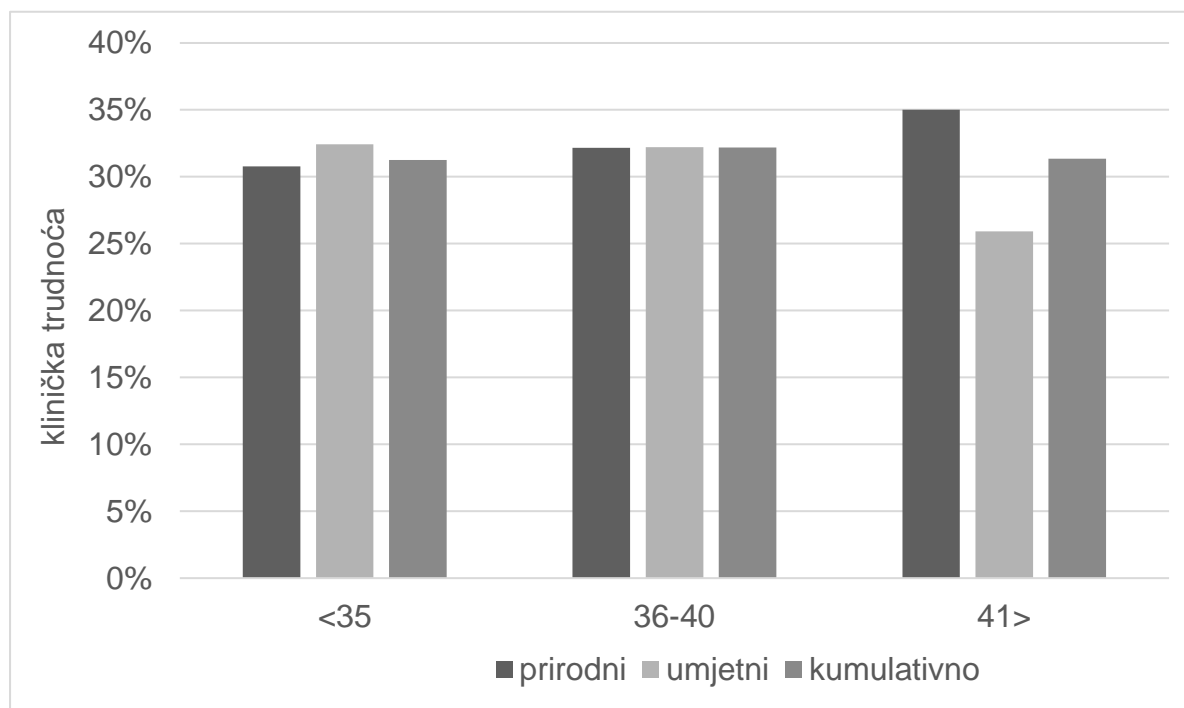


Slika 4 Kliničke stope trudnoće u prirodnim i umjetnim ciklusima

Tablica 3 prikazuje distribuciju kliničkih stopa trudnoće ovisno o dobnim skupinama i protokolu pripreme endometrija. Nije uočena statistički značajna razlika između učestalosti kliničkih trudnoća ovisno o dobi pacijentica u prirodnom niti u umjetnom protokolu pripreme.

Tablica 3 Distribucija kliničkih stopa trudnoće ovisno o dobnim skupinama

<b>protokol pripreme</b>			
<b>dob</b>	<b>prirodni</b>	<b>umjetni</b>	<b>kumulativno</b>
<b>&lt;35</b>	28/91 (30,8 %)	12/37 (32,4 %)	40/128 (31,3 %)
<b>36-40</b>	37/115 (32,2 %)	19/59 (32,2 %)	56/174 (32,2 %)
<b>41&gt;</b>	14/40 (35,0 %)	7/27 (26,0 %)	21/67 (31,3 %)
<b>p - vrijednost</b>	0,892	0,819	0,983

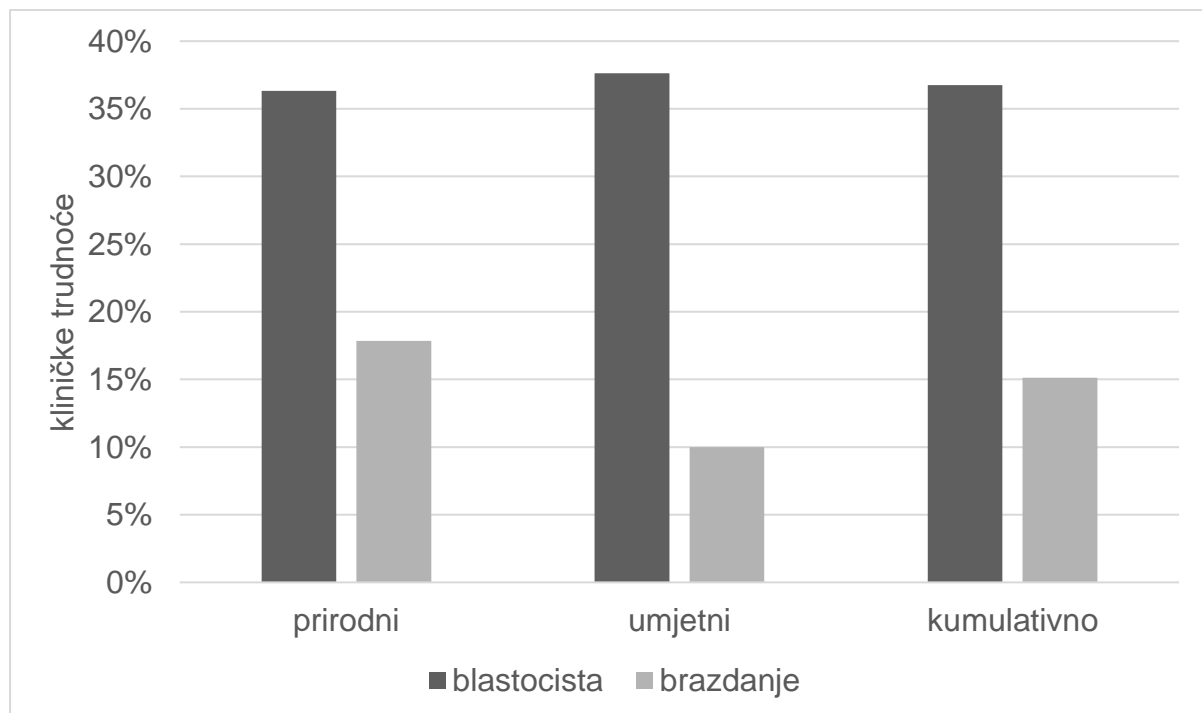


Slika 5 Distribucija kliničkih stopa trudnoće ovisno o dobnim skupinama pacijentica

Tablica 4 prikazuje distribuciju kliničkih stopa trudnoće ovisno o stadiju prenesenih zametaka po ciklusu i protokolu pripreme endometrija. Uočena je statistički značajna razlika između kliničke stope trudnoće ovisno o stadiju prenesenih zametaka u prirodnom,  $\chi^2$  (1, N=246) = 6,76, p=0,009, i u umjetnom protokolu pripreme  $\chi^2$  (1, N=123) = 8,11, p=0,004.

Tablica 4 Distribucija kliničkih stopa trudnoće ovisno o stadiju prenesenih zametaka po ciklusu

stadij zametaka	protokol pripreme		
	prirodni	umjetni	kumulativno
<b>blastocista</b>	69/190 (36,3 %)	35/93 (37,6 %)	104/283 (36,7 %)
<b>brazdanje i kompaktacija</b>	10/56 (17,9 %)	3/30 (10,0 %)	13/86 (15,1 %)
<b>p - vrijednost</b>	0,009	0,004	<0,001



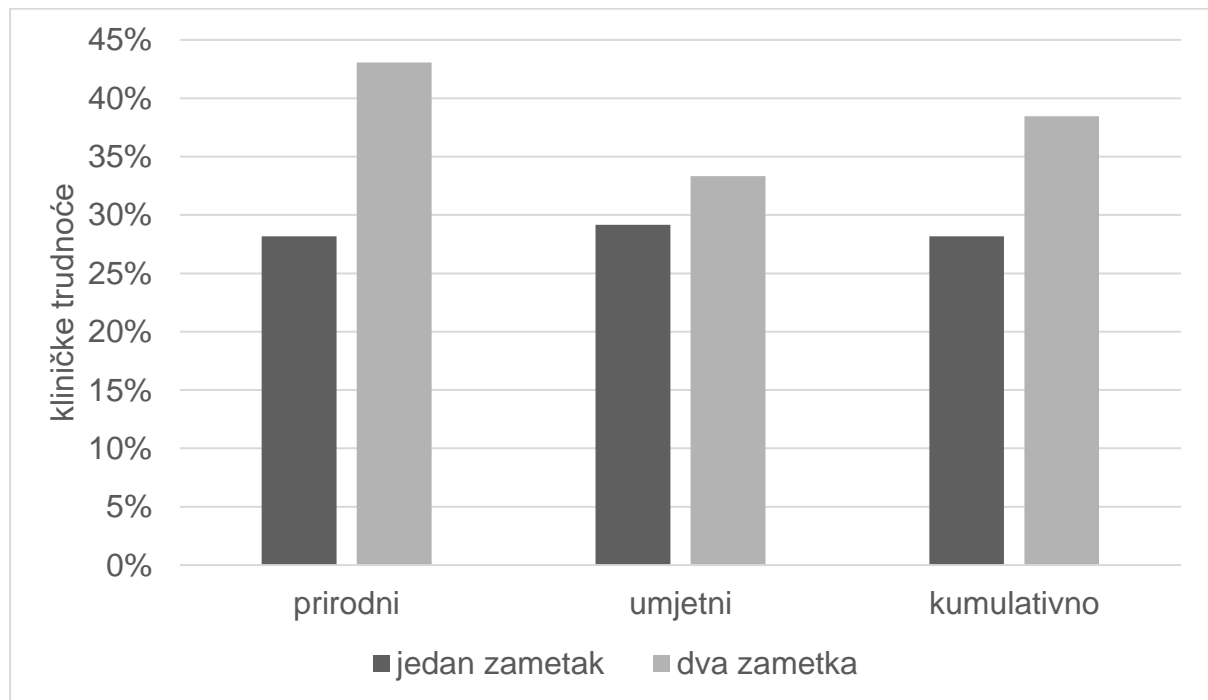
Slika 6 Distribucija kliničkih stopa trudnoće ovisno o stadiju prenesenih zametaka po ciklusu

Tablica 5 prikazuje distribuciju kliničkih stopa trudnoće ovisno o broju prenesenih zametaka po ciklusu i protokolu pripreme endometrija. Uočena je statistički značajna razlika između učestalosti kliničkih trudnoća ovisno o broju prenesenih zametaka u prirodnim ciklusima  $\chi^2 (1, N=246) = 4,87, p=0,027$ . Isto nije zapaženo u umjetnom protokolu pripreme.

Tablica 5 Distribucija kliničkih stopa trudnoće ovisno o broju prenesenih zametaka po ciklusu

**protokol pripreme**

broj zametaka/ciklus	prirodni	umjetni	kumulativno
<b>jedan</b>	51/181 (28,2 %)	21/72 (29,1 %)	72/253 (28,5 %)
<b>dva</b>	28/65 (43,1 %)	17/51 (33,3 %)	45/116 (38,8 %)
<b>p - vrijednost</b>	0,027	0,622	0,048

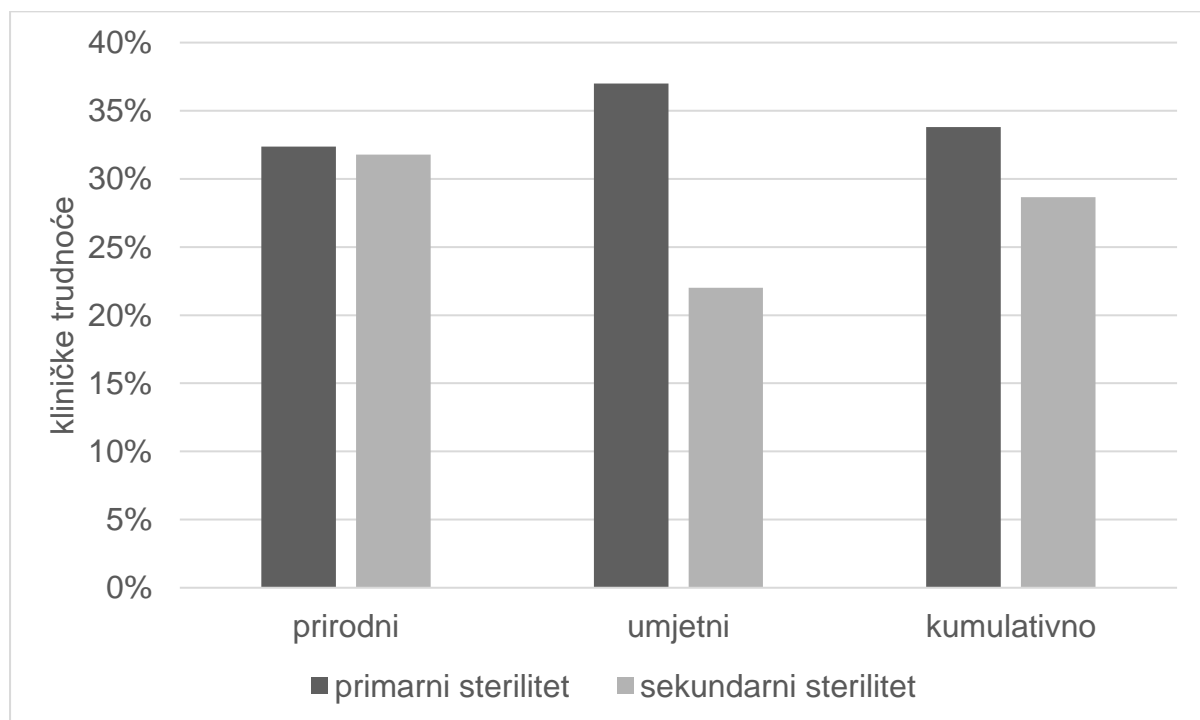


Slika 7 Distribucija kliničkih stopa trudnoće ovisno o broju prenesenih zametaka po ciklusu

Tablica 6 prikazuje distribuciju kliničkih stopa trudnoće ovisno o vrsti steriliteta pacijentica i protokolu pripreme endometrija. Nije uočena statistički značajna razlika između učestalosti kliničkih trudnoća ovisno o sterilitetu pacijentica.

Tablica 6 Distribucija kliničkih stopa trudnoće ovisno o vrsti steriliteta pacijentica

<b>protokol pripreme</b>			
<b>sterilitet/ciklus</b>	<b>prirodni</b>	<b>umjetni</b>	<b>kumulativno</b>
<b>primarni</b>	45/139 (32,4 %)	27/73 (37,0 %)	72/212 (34,0 %)
<b>sekundarni</b>	34/107 (31,8 %)	11/50 (22,0 %)	45/157 (28,7 %)
<b>p - vrijednost</b>	0,921	0,077	0,279



Slika 8 Distribucija kliničkih stopa trudnoće ovisno o vrsti steriliteta pacijentica

## 5. Diskusija

Rezultati ovog retrospektivnog istraživanja ne ukazuju na statistički značajnu razliku između opaženih stopa kliničkih trudnoća u prirodnim i umjetnim protokolima pripreme endometrija, 32,1 % naspram 31,0 %,  $p=0,812$ . Također, retrospektivna istraživanja koja obuhvaćaju 1000 ciklusa pripreme endometrija nisu pokazala značajne razlike između kliničkih stopa trudnoće u prirodnim i umjetnim protokolima pripreme (46,47). Randomizirane kontrolirane prospektivne studije nisu utvrdile značajne razlike između protokola pripreme i učestalosti kliničkih trudnoća (48,49). Sustavni pregled i meta-analiza koja uključuje 43 publikacije i 20 članaka objavljena u 2017. godini (50) zaključila je da nije moguće odrediti koja je metoda pripreme endometrija pogodnija.

Iako je potvrđeno da dob utječe na uspješnost postupaka MPO (51), u ovome radu isto nije opaženo. Distribucija opaženih kliničkih trudnoća nije u povezanosti sa dobi pacijentica,  $p=0,983$ . Naime, udio pacijentica starijih od 41 godine relativno je mali. Također, broj pacijentica mlađih od 30 godina u postupku prijenosa prethodno zamrznutih zametaka je premalen da bih kod istih mogli primijeniti povećanje u broju opaženih trudnoća.

Zapažena je statistički značajna razlika koja ukazuje na veću uspješnost prijenosa zametaka u stadiju blastociste naspram stadija brazdanja u prirodnim, 36,3 % naspram 17,9 %,  $p=0,009$  i u umjetnim protokolima pripreme endometrija, 37,6 % naspram 10,0 %,  $p=0,004$ . Kumulativna klinička stopa trudnoća nakon prijenosu zametaka u stadiju blastociste iznosi 36,7 % naspram 15,1% nakon prijenosu u stadiju brazdanja i kompaktacije,  $p<0,001$ . Druge retrospektivne studije također su potvrdile veću stopu kliničkih trudnoća nakon prijenosa blastocista (43,52).

Utvrđen je veći broj kliničkih trudnoća nakon prijenosa dva zametka u odnosu na prijenos jednog zametka u prirodnim protokolima pripreme, 43,1 % naspram 28,2 %,  $p=0,027$ . U umjetnim protokolima pripreme također je utvrđena veća stopa kliničkih trudnoća nakon prijenosa dva zametka, međutim razlika nije statistički značajna. Kumulativno, kod oba protokola pripreme, možemo zaključiti da su stope trudnoće veće kod prijenosa dva zametka u odnosu na jedan, 38,8 % naspram 28,5 %,  $p=0,048$ . Druge studije također su potvrdile veće stope kliničke trudnoće nakon prijenosa dva zametka naspram jednog pri prijenosu prethodno zamrznutih zametaka (53,54).

Nije uočena povezanost između primarnog i sekundarnog steriliteta pacijentica i stopa kliničkih trudnoća u prirodnim niti u umjetnim protokolima pripreme endometrija.

Ograničenja ovog rada očituju se malim brojem analiziranih postupaka te nejednakim brojem postupaka u dvije dodijeljene grupe. Broj postupaka analiziran u grupi prirodni ciklus dvostruko je veći od broja postupaka u grupi umjetni ciklus, prvenstveno zbog retrospektivnog dizajna istraživanja. Također, zbog malenog uzorka prirodni ciklusi nisu podijeljeni na potpuno prirodne i modificirane prirodne cikluse što je također moglo utjecati na rezultate istraživanja.



## 6. Zaključak

S obzirom na dobivene rezultate teško je odrediti koja je metoda pripreme endometrija pogodnija za proces vraćanja prethodno zamrznutih zametaka. Oba protokola pripreme pokazala su usporedivo jednake stope kliničkih trudnoća što je u skladu sa prethodno objavljenim istraživanjima. Međutim, s obzirom da prirodni protokol pripreme zahtijeva manje intenzivnu farmakoterapiju te mogućih nuspojava hormonske terapije pri umjetnom protokolu, kod pacijenata sa regularnim menstrualnim ciklusom prednost treba dati prirodnom protokolu. Također, neovisno o odabranome protokolu pripreme bolje je prenositi zametke u stadiju blastocista što će rezultirati višom stopom kliničke trudnoće nego pri prijenosu zametaka u stadiju brazdanja. Prijenos dva zametka povećava vjerojatnost kliničke trudnoće u usporedbi sa prijenosom jednog zametka. Međutim, zbog rizika višepodne trudnoće broj zametaka koji se prenosi potrebno je odrediti ovisno o uspješnosti prethodnih postupaka MPO, dobi pacijentica i kvaliteti zametaka.

## **7. Zahvale**

Zahvaljujem doc.dr.sc. Tatjani Pavelić Turudić na mentorstvu i pristupačnosti pri izradi diplomskog rada. Hvala djelatnicama Laboratorija za humanu reprodukciju Kliničke bolnice Sveti Duh na pomoći prilikom snalaženja u bazama podataka.

## 8. Literatura

1. Iavor K, Vladimirov, Desislava Tacheva and Vladislav Dobrinov. The Present and Future of Embryo Cryopreservation. Embryology - Theory and Practice. Bin Wu and Huai L. Feng, IntechOpen. [Internet] 2018 [pristupljeno 2. svibanj 2021.] doi: 10.5772/intechopen.80587. Dostupno na: <https://www.intechopen.com/books/embryology-theory-and-practice/the-present-and-future-of-embryo-cryopreservation>
2. Kasai M, Ito K, Edashige K. Morphological appearance of the cryopreserved mouse blastocyst as a tool to identify the type of cryoinjury. Hum Reprod. 2002;17(7):1863-74. doi: 10.1093/humrep/17.7.1863
3. Rall W, Fahy G. Ice-free cryopreservation of mouse embryos at  $-196^{\circ}\text{C}$  by vitrification. Nature. 1985;313(6003):573-575. doi: 10.1038/313573a0
4. Noble M, Child T. The role of frozen–thawed embryo replacement cycles in assisted conception. Obstet Gynaecol. 2020;22(1):57–68.
5. Zakon o medicinski pomognutoj oplodnji, Narodne novine, br. 86/12
6. Bosch E, De Vos M, Humaidan P. The Future of Cryopreservation in Assisted Reproductive Technologies. Front Endocrinol (Lausanne). 2020;11:67. doi: 10.3389/fendo.2020.00067
7. Coates A, Kung A, Mounts E, Hesla J, Bankowski B, Barbieri E, et al. Optimal euploid embryo transfer strategy, fresh versus frozen, after preimplantation genetic screening with next generation sequencing: a randomized controlled trial. Fertil Steril. 2017;107:723–30.e3. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.12.022.
8. Argyle CE, Harper JC, Davies MC. Oocyte cryopreservation: where are we now? Hum Reprod Update. 2016;22:440–9. doi: 10.1093/humupd/dmw007.

9. Papanikolaou EG, Humaidan P, Polyzos N, Kalantaridou S, Kol S, Benadiva C, et al. New algorithm for OHSS prevention. *Reprod Biol Endocrinol*. 2011;9:147. doi: 10.1186/1477-7827-9-147.
10. Venetis CA, Kolibianakis EM, Bosdou JK, Tarlatzis BC. Progesterone elevation and probability of pregnancy after IVF: a systematic review and meta-analysis of over 60 000 cycles. *Hum Reprod Update*. 2013;19:433–57. doi: 10.1093/humupd/dmt014.
11. Kalem Z, Namli Kalem M, Gurgan T. Methods for endometrial preparation in frozen-thawed embryo transfer cycles. *J Turk Ger Gynecol Assoc*. 2016;17(3):168–72.
12. Ghobara T, Gelbaya TA, Ayeleke RO. Cycle regimens for frozen-thawed embryo transfer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;7(7):CD003414. doi: 10.1002/14651858.CD003414.pub3.
13. Miller PB, Soules MR. The usefulness of a urinary LH kit for ovulation prediction during menstrual cycles of normal women. *Obstet Gynecol* 1996;87:13-7.
14. Frydman R, Testart J, Fernandez H, Arvis P, Belaisch JC. Prediction of ovulation. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 1982;11:793–799.
15. Park SJ, Goldsmith LT, Skurnick JH, Wojtczuk A, Weiss G. Characteristics of the urinary luteinizing hormone surge in young ovulatory women. *Fertil Steril* 2007;88:684–90.
16. Kerin J. Ovulation detection in the human. *Clin Reprod Fertil*. 1982;1(1):27-54.
17. Paulson RJ. Hormonal induction of endometrial receptivity. *Fertil Steril*. 2011;96(3):530–5.
18. Mounce G, McVeigh E, Turner K, Child TJ. Randomized, controlled pilot trial of natural versus hormone replacement therapy cycles in frozen embryo replacement in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2015;104:915–20.e1.

19. Litwicka K, Mencacci C, Arrivi C, Varricchio MT, Caragia A, Minasi MG, et al. HCG administration after endogenous LH rise negatively influences pregnancy rate in modified natural cycle for frozen–thawed euploid blastocyst transfer: a pilot study. *J Assist Reprod Genet.* 2018;35(3):449–55.
20. Andersen AG, Als-Nielsen B, Hornnes PJ, Andersen LF. Time interval from human chorionic gonadotrophin (HCG) injection to follicular rupture. *Hum Reprod* 1995;10:3202-5.
21. Fatemi HM, Bourgain C, Donoso P, Blockeel C, Papanikolaou EG, Popovic-Todorovic B, et al. Effect of oral administration of dydrogesterone versus vaginal administration of natural micronized progesterone on the secretory transformation of endometrium and luteal endocrine profile in patients with premature ovarian failure: a proof of concept. *Hum Reprod.* 2007;22:1260–3. doi: 10.1093/humrep/del520.
22. Rosenberg SM, Luciano AA, Riddick DH. The luteal phase defect: the relative frequency of, and encouraging response to, treatment with vaginal progesterone. *Fertil Steril* 1980;34:17–20.
23. Jordan J, Craig K, Clifton DK, Soules MR. Luteal phase defect: the sensitivity and specificity of diagnostic methods in common clinical use. *Fertil Steril* 1994;62:54–62.
24. Bjuresten K, Landgren B-M, Hovatta O, Stavreus-Evers A. Luteal phase progesterone increases live birth rate after frozen embryo transfer. *Fertil Steril* 2011;95:534–537.
25. Montagut M, Santos-Ribeiro S, De Vos M, Polyzos NP, Drakopoulos P, Mackens S, van de Vijver A, Van Landuyt L, Verheyen G, Tournaye H et al. Frozen-thawed embryo transfers in natural cycles with spontaneous or induced ovulation: the search for the best protocol continues. *Hum Reprod* 2016;31:2803–2810.

26. Eftekhari 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.
27. 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. *EJOG* 2010;150:175–179.
28. El-Toukhy T, Coomarasamy A, Khairy M, Sunkara K, Seed P, Khalaf Y, et al. The relationship between endometrial thickness and outcome of medicated frozen embryo replacement cycles. *Fertil Steril* 2008;89:832-9.
29. 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;10:CD006359. doi: 10.1002/14651858.CD006359.pub3.
30. Mackens S, Santos-Ribeiro S, van de Vijver A, Racca A, Van Landuyt L, Tournaye H, et al. Frozen embryo transfer: a review on the optimal endometrial preparation and timing. *Hum Reprod*. 2017;32(11):2234–42.
31. Navot D, Anderson T, Droesch K, Scott R, Kreiner D, Rosenwaks Z. Hormonal manipulation of endometrial maturation. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1989;68(4):801-7.
32. Cobo A, de los Santos MJ, Castellò D, Gámiz P, Campos P, Remohí J. Outcomes of vitrified early cleavage-stage and blastocyst-stage embryos in a cryopreservation program: evaluation of 3,150 warming cycles. *Fertil Steril* 2012;98:1138–46.e1.
33. Di Guardo F, Midassi H, Racca A, Tournaye H, De Vos M, Blockeel C. Luteal Phase Support in IVF: Comparison Between Evidence-Based Medicine and Real-Life Practices. *Front Endocrinol*. 2020;11:500.

34. Keltz MD, Jones EE, Duleba AJ, Polcz T, Kennedy K, Olive DL. Baseline cyst formation after luteal phase gonadotropin-releasing hormone agonist administration is linked to poor in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1995;64:568–572.
35. Hebisha SA, Omran MS, Sallam HN, Ahmed AI. GNRH agonist treatment improves implantation of frozen thawed embryo transfer. *Fertil Steril*. 2015;104(3):e271–2.
36. Samsami A, Chitsazi Z, Namazi G. Frozen thawed embryo transfer cycles; A comparison of pregnancy outcomes with and without prior pituitary suppression by GnRH agonists: An RCT. *Int J Reprod Biomed*. 2018;16(9):587-594.
37. Li SJ, Zhang YJ, Chai XS, Nie MF, Zhou YY, Chen JL, Tao GS. Letrozole ovulation induction: an effective option in endometrial preparation for frozen-thawed embryo transfer. *Arch Gynecol Obstet*. 2014;289(3):687-93. doi: 10.1007/s00404-013-3044-0.
38. Mansour RT. Optimizing the embryo transfer technique. *Hum Reprod*. 2002;17(5):1149–53.
39. Coroleu B, Carreras O, Veiga A, Martell A, Martinez F, Belil I, i ostali. Embryo transfer under ultrasound guidance improves pregnancy rates after in-vitro fertilization. *Hum Reprod*. 2000;15(3):616–20.
40. National Institute for Health and Care Excellence. Fertility problems: Assessment and treatment. Clinical guideline [CG156] [Internet] 2017 [citirano 2. svibanj 2021]; Dostupno na: <https://www.nice.org.uk/guidance/cg156>
41. Pandian Z, Templeton A, Serour G, Bhattacharya S. Number of embryos for transfer after IVF and ICSI: a Cochrane review. *Hum Reprod*. 2005;20(10):2681–7.
42. Iujovsky D, Farquhar C, Quinteiro Retamar AM, Alvarez Sedo CR, Blake D. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;(6):CD002118. doi: 10.1002/14651858.CD002118.pub5.

43. Eftekhari M, Mohammadi B, Tabibnejad N, Mortazavi Lahijani M. Frozen–thawed cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in high responder patients. *Zygote*. Cambridge University Press; 2020;28(6):511–5.
44. Kosmas IP, Tatsioni A, Fatemi HM, Kolibianakis EM, Tournaye H, Devroey P. Human chorionic gonadotropin administration vs. luteinizing monitoring for intrauterine insemination timing, after administration of clomiphene citrate: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2007;87:607–612.
45. Infertility definitions and terminology [Internet]. [citirano 25. veljača 2021.]. Dostupno na: <https://www.who.int/teams/sexual-and-reproductive-health-and-research/areas-of-work/fertility-care/infertility-definitions-and-terminology>
46. Givens CR, Markun LC, Ryan IP, Chenette PE, Herbert CM, Schriock ED. Outcomes of natural cycles versus programmed cycles for 1677 frozen–thawed embryo transfers. *Reprod Biomed Online*. 2009;19(3):380–4.
47. Mubarak S, Acharyya S, Viardot-Foucault V, Tan HH, Phoon JW. A Comparison of the Miscarriage and Live Birth Rate for Frozen Embryo Transfer According to Two Endometrial Preparations: Natural or Primed with Estrogens. *Fertil Reprod*. 2019;01(01):43–9.
48. Aziz AR. Natural versus artificial cycle for endometrial preparation in frozen–thawed embryo transfer cycles. *Al-Alzhar Assiut Medical Journal*. 2015;13(3):6.
49. Agha-Hosseini M, Hashemi L, Aleyasin A, Ghasemi M, Sarvi F, Shabani Nashtaei M, Khodarahmian M. Natural cycle versus artificial cycle in frozen–thawed embryo transfer: A randomized prospective trial. *Turk J Obstet Gynecol*. 2018;15(1):12-17. doi: 10.4274/tjod.47855.
50. 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(5):458-70. doi: 10.1093/humupd/dmt030.



51. Piette C, de Mouzon J, Bachelot A, Spira A. In-vitro fertilization: influence of women's age on pregnancy rates. *Hum Reprod.* 1990;5(1):56–9.
52. Holden, E. C., Kashani, B. N., Morelli, S. S., Alderson, D., Jindal, S. K., Ohman-Strickland, P. A., & McGovern, P. G. Improved outcomes after blastocyst-stage frozen-thawed embryo transfers compared with cleavage stage: a Society for Assisted Reproductive Technologies Clinical Outcomes Reporting System study. *Fertility and sterility.* 2018;110(1):89–94.e2. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.03.033.
53. Li N, Yang H, Li CY, Zou Y, Deng ZH, Tan QY, Qiu Y, Xu CL. Analysis of pregnancy outcome of single and double blastocysts in the freeze-thaw cycle. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* 2020;55(11):778-783. doi: 10.3760/cma.j.cn112141-20200404-00297.
54. Long X, Wang Y, Wu F, Li R, Chen L, Qian W, Qiao J. Pregnancy Outcomes of Single/Double Blastocysts and Cleavage Embryo Transfers: a Retrospective Cohort Study of 24,422 Frozen-Thawed Cycles. *Reprod Sci.* 2020;27(12):2271-2278. doi: 10.1007/s43032-020-00247-x.

## 9. Životopis

### OSOBNI PODACI

Ime i prezime: Ivan Perković

Datum rođenja: 13.06.1996.

Mjesto rođenja: Zagreb

### PODACI O OBRAZOVANJU

2015. – 2021. Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu

2011. – 2015. XV. Gimnazija, Zagreb

2003. – 2011. Osnovna škola Kustošija, Zagreb

### POSEBNA ZNANJA I VJEŠTINE

Aktivno se služim engleskim jezikom na razini C1 te njemačkim jezikom na razini B1.

### OSTALO

Za vrijeme studiranja bavim se veslanjem te kao član Veslačke sekcije Medicinskog fakulteta sudjelujem i osvajam brojna odličja na domaćim i međunarodnim natjecanjima.