

# بررسی برخی عوامل کلینیکی مؤثر در موفقیت انتقال جنین

## های فریز شده در مرکز تحقیقاتی درمانی ناباروری یزد

دکتر مریم افتخار<sup>۱</sup>، دکتر الهام رحمانی<sup>۲\*</sup>

۱. استادیار گروه زنان و مامایی و فلوشیپ نازایی، مرکز تحقیقاتی و درمانی ناباروری یزد، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.

۲. استادیار گروه زنان و مامایی و فلوشیپ نازایی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۲/۲۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۸/۱۰

### خلاصه

**مقدمه:** یکی از مهم ترین درمان های زوج های نابارور، انتقال جنین فریز شده می باشد. اگر چه انتقال جنین تازه مورد تأیید و توجه است، اما مطالعات اندکی در مورد عوامل بالینی مؤثر در میزان لقاح و میزان بارداری در انتقال جنین فریز شده وجود دارد. مطالعه حاضر با هدف بررسی برخی عوامل بالینی مؤثر در پیش آگهی انتقال جنین فریز شده انجام شد. **روش کار:** این مطالعه گذشته نگر با بررسی ۳۷۲ پرونده بیمارانی که بین فروردین ۱۳۸۸ لغایت فروردین ۱۳۹۰ به مرکز تحقیقاتی درمانی ناباروری یزد مراجعه و از جنین فریز شده استفاده کرده بودند، انجام شد. کلیه اطلاعات مربوط به پرونده بیماران در پرسشنامه ثبت شد. برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۱۵) و آزمون های کولموگروف-اسمیرنوف و من ویتنی استفاده شد. میزان  $p$  کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

**یافته ها:** میزان بارداری بالینی در زنان زیر ۳۵ سال ۵۷/۷ درصد و بالای ۳۵ سال ۲۹/۲ درصد و همچنین میزان بارداری بالینی در زنان با هورمون محرک فولیکول روز سوم زیر ۱۰، ۵۶/۳ درصد و هورمون محرک فولیکول بالای ۱۰، ۱۷/۵ درصد بود که این نتایج از نظر آماری معنی دار بود ( $p=0/0001$ ). اما سایر عوامل مانند علت فریز جنین، پروتکل اولیه لقاح آزمایشگاهی، روش لقاح آزمایشگاهی، ضخامت اندومتر و طول سیکل درمان تا روز انتقال جنین از نظر آماری در انتقال جنین فریز شده مؤثر نبودند ( $p>0/05$ ).

**نتیجه گیری:** سن زن و هورمون محرک فولیکول روز سوم یکی از مهمترین عوامل مؤثر در میزان بارداری بالینی در انتقال جنین فریز شده می باشد.

**کلمات کلیدی:** انتقال جنین، جنین فریز شده، لقاح آزمایشگاهی، میزان بارداری بالینی

\* نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر الهام رحمانی؛ دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران. تلفن: ۰۳۵۱-۸۲۴۷۰۸۵-۰۳۵۱ پست الکترونیک:

rahmani@bpums.ac.ir

## مقدمه

انجماد جنین یکی از مهم ترین پیشرفت ها در عرصه روش های کمک باروری می باشد که مزایای زیادی برای بیماران به همراه دارد. با استفاده از این روش و انتقال تعداد کمتر جنین، احتمال بارداری های چند قلوپی کاهش می یابد و همچنین شانس بیمار برای بارداری با استفاده از چند نوبت انتقال جنین بدون نیاز به تحریک اضافی با سیکل های تحریک شده افزایش می یابد (۱). همچنین با استفاده از انجماد تمام جنین ها در بیمارانی که در خطر سندرم تحریک بیش از حد تخمدان قرار دارند، خطر این سندرم به شدت کاهش پیدا کرده است (۲). امروزه افزایش امید به زندگی در بیماران مبتلا به سرطان باعث افزایش تمایل این بیماران به حفظ باروری شده است، انجماد جنین پیشرفت تازه ای برای باروری در بیماران مبتلا به سرطان می باشد، انجماد جنین های به دست آمده قبل از شروع شیمی درمانی و رادیوتراپی و انتقال جنین بعد از پایان دوران درمان و بهبودی بیمار امکان حفظ باروری این بیمار را فراهم آورده است (۳). پتانسیل باروری در جنین های برگشت از فریز به عوامل زیادی وابسته است که از مهمترین آنها کیفیت جنین می باشد (۴). هر چند استفاده از جنین فریز شده در مجموع شانس باروری با استفاده از یک نوبت تحریک تخمدان را افزایش می دهد (۴)، ولی میزان کمتری از لانه گزینی و بارداری را در انتقال جنین فریز شده در مقابل انتقال جنین تازه گزارش کرده اند (۵). اثرات مضر پروسه های انجماد و ذوب کردن و تشکیل کریستال های یخ ممکن است یکی از دلایل آسیب به جنین و کاهش پتانسیل باروری آنها باشد (۶). اما به هر حال تأثیر سایر عوامل از جمله عوامل کلینیکی را نباید نادیده گرفت. سالومنت و همکاران و کاساب و همکاران ذکر کردند که سن عامل مهمی در موفقیت انتقال جنین فریز شده می باشد (۲، ۴) ولی اشرفی و همکاران نشان دادند که میزان بارداری در انتقال جنین فریز شده در سن کمتر و بیشتر از ۴۰ سال یکسان بود (۷). مطالعه التوکی و همکاران نشان داد که ضخامت اندومتر در زمان شروع پروژسترون عامل مهمی در پیشگویی موفقیت انتقال جنین فریز شده بود (۸) ولی چک و همکاران ارتباط

معنی داری بین ضخامت اندومتر و میزان موفقیت انتقال جنین فریز شده پیدا نکردند (۹). اورویتو و همکاران و افتخار و همکاران بیان کردند که کاهش میزان بارداری به دنبال استفاده از پروتکل آنتاگونیست در مقایسه با آگونیست وجود دارد و در مورد تأثیر منفی آنتاگونیست بر روی پذیرش اندومتر بحث کردند (۱۰، ۱۱). اما الدار جوا و همکاران ذکر کردند که انتقال جنین فریز با پروتکل آنتاگونیست و آگونیست تفاوتی ندارد (۱۲). همانطور که بیان شد، مطالعات محدودی با نتایج متفاوت اثر عوامل کلینیکی را بر روی انتقال جنین فریز شده بررسی کرده اند. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر برخی عوامل کلینیکی بر روی میزان بارداری و نتایج سیکل های کمک باروری که از انتقال جنین فریز شده استفاده کرده بودند انجام شد تا در نهایت بتوان نتایج بهتری را از این سیکل ها به دست آورد.

## روش کار

این مطالعه گذشته نگر با بررسی پرونده بیمارانی که بین فروردین ۱۳۸۸ لغایت فروردین ۱۳۹۰ به مرکز تحقیقاتی درمانی ناباروری یزد مراجعه و از جنین فریز شده استفاده کرده بودند، انجام شد. معیارهای خروج از مطالعه شامل بیماران با سابقه جراحی های هیستروسکوپ برای برداشتن دیواره رحم و سابقه بیماری های اندوکراین مانند دیابت و کم کاری یا پرکاری تیروئید بود. سیکل هایی که تخمک اهدایی استفاده کرده بودند، در این مطالعه وارد نشدند. سیکل هایی که انتقال جنین در آنها در سیکل طبیعی انجام شده بود از مطالعه خارج شدند و فقط سیکل هایی که در آن آماده سازی اندومتر توسط هورمون انجام شده بود، در مطالعه شرکت کردند. جهت دسترسی به مندرجات پرونده از بیماران رضایت گرفته شد و کمیته اخلاق مرکز تحقیقات ناباروری یزد انجام طرح را مورد تأیید قرار داد. متغیرهای مورد بررسی شامل سن، مدت ناباروری هورمون محرک فولیکول روز سوم قاعدگی، پروتکل لقاح آزمایشگاهی اولیه، علت فریز جنین، روش لقاح آزمایشگاهی<sup>۱</sup> و تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> In vitro fertilization

<sup>۲</sup> Intracytoplasmic sperm injection

بررسی شده و در صورتی که بیش از ۵۰ واحد در میلی لیتر بود، بارداری شیمیایی مثبت در نظر گرفته شده است. در صورت ادامه بارداری تزریق پروژسترون و مصرف استرادیول تا هفته ۱۱ بارداری ادامه داده شده است. بارداری کلینیکی توسط مشاهده ضربان قلب ۳ هفته بعد از مثبت شدن تست خون بارداری تأیید شد. کلیه اطلاعات مربوط به پرونده بیماران در پرسشنامه ثبت شد. برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۱۵) استفاده شد. برای مشخص نمودن توزیع داده های کمی از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. برای مقایسه متغیرهایی که از توزیع نرمال پیروی نمی کردند، از آزمون من ویتنی استفاده شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

### یافته ها

مطالعه حاضر بر روی ۳۷۲ بیمار که از جنین فریز شده استفاده کرده بودند، انجام شد. مشخصات فردی بیماران در جدول ۱ ارائه شده است.

نوع ناباروری اولیه یا ثانویه، ضخامت اندومتر روز انتقال جنین و طول مدت سیکل درمان تا روز انتقال جنین بود. رژیم درمانی جهت تحریک تخمک گذاری در بیماران شرکت کننده رژیم استاندارد پروتکل طولانی مدت و یا رژیم آنتاگونیست بود. کلیه جنین ها با استفاده از روش ویتریفیکاسیون منجمد شده بودند. آماده سازی اندومتر در تمام بیماران توسط استفاده از استرادیول والر (قرص ۲ میلی گرم، شرکت داروسازی ابوریحان، ایران) به میزان ۶ میلی گرم در روز از روز دوم سیکل قاعدگی انجام شد. در همه بیماران روز ۱۳ قاعدگی ضخامت اندومتر توسط سونوگرافی واژینال بررسی شده و زمانی که ضخامت اندومتر به بالاتر از ۸ میلی متر رسید، پروژسترون به میزان ۱۰۰ میلی گرم (آمپول ۵۰ میلی گرم، شرکت داروسازی ایران هورمون، ایران) عضلانی تزریق شده بود. برگشت جنین ها از انجماد ۲ روز بعد از تزریق پروژسترون انجام شد. فقط جنین هایی که کمتر از ۵۰٪ فراگمنتاسیون داشتند، منتقل شدند. انتقال جنین توسط کاتتر لایوتکت ساخت کشور آلمان انجام شد. تست خون بارداری سرم ۲ هفته بعد از انتقال جنین

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار مشخصات فردی بیماران مراجعه کننده به مرکز تحقیقاتی درمانی ناباروری یزد جهت انتقال

انحراف معیار ± میانگین	گروه های مورد مطالعه
	مشخصات بیماران
۳۰/۲۲ ± ۴/۸۳	سن زنان (سال)
۳۴/۹۰ ± ۵/۴۲	سن مردان (سال)
۸/۲۶ ± ۴/۴۱	مدت ناباروری (سال)
۶/۸۰ ± ۳/۰۲	هورمون محرک فولیکول روز سوم
۲/۴۵ ± ۰/۷۵	تعداد جنین های انتقال یافته با کیفیت خوب در هر سیکل

میزان بارداری بالینی بر اساس علت ناباروری در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲- تعیین توزیع فراوانی میزان بارداری بر اساس علت ناباروری در بیماران مراجعه کننده به مرکز تحقیقاتی درمانی

ناباروری یزد جهت انتقال جنین فریز شده	
بارداری بالینی	تعداد (درصد)
علت ناباروری	
علت مردانه	۶۸ (۴۸/۹٪)
تخمدان پلی کیستیک	۶۸ (۵۳/۵۴٪)
فاکتور لوله ای	۸ (۴۷/۱٪)
اندومتریوز	۵ (۶۲/۵٪)
آمنوره هیپوتالامیک	۱ (۳۳/۳٪)
علت نامشخص	۲۴ (۵۴/۵٪)
علت چندگانه	۲۰ (۵۳/۷٪)
مجموع بیماران	۱۹۴ (۵۲/۲٪)

بود ( $p=0/717$ ). پروتکل اولیه جهت تحریک کنترل شده تخمدان تأثیری بر میزان موفقیت بارداری در انتقال جنین فریز شده، نداشت. بارداری با جنین های فریز شده با پروتکل آگونیست ۱۰۶ مورد (۵۲/۵٪) و در آنتاگونیست ۸۸ بیمار (۵۱/۸٪) گزارش شد ( $p=0/487$ ). بارداری با لقاح آزمایشگاهی در ۸۰ بیمار (۵۲/۳٪) و در تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم ۱۱۴ بیمار (۵۲/۱٪) گزارش شد که با ( $p=1$ ) از نظر آماری معنی دار نبود. در مواردی که اسپرم از نظر مورولوژی کمتر از چهارده درصد نرمال بود، بارداری ۶۸ مورد (۵۲/۷٪) و در موارد مورفولوژی بالای ۱۴٪ درصد، ۱۲۶ بیمار (۵۱/۹٪) با  $p=0/48$  بود. میزان بارداری بر اساس سایر معیارها بر اساس جدول ۳ می باشد.

همچنین علت اولیه ناباروری بر روی نتایج انتقال جنین فریز شده تأثیری نداشت ( $p=0/7$ ).

تأثیر عوامل بالینی بر میزان بارداری بالینی در جدول ۳ بررسی شده است. میزان بارداری در بیماران با سن کمتر از ۳۵ سال (۵۷/۷٪) و در بیماران بالای ۳۵ سال (۲۹/۲٪) بود که از نظر آماری معنی دار بود ( $p=0/0001$ ). علت فریز جنین بر میزان موفقیت سیکل برگشت از فریز تأثیر نداشت، به گونه ای که اگر علت فریز شدن جنین های اضافی بود، در ۱۰۱ بیمار میزان بارداری (۵۰/۲٪)، در موارد فریز به علت خطر سندرم تحریک بیش از حد تخمدان در ۹۱ بیمار (۵۴/۴٪) میزان بارداری گزارش شد. ۲ مورد فریز به علت عدم آمادگی اندومتر صورت گرفته که میزان بارداری (۵۰٪)

جدول ۳- توزیع فراوانی میزان بارداری بر اساس عوامل بالینی در بیماران مراجعه کننده به مرکز تحقیقاتی درمانی ناباروری یزد جهت انتقال جنین فریز شده

بارداری بالینی		عوامل بالینی
تعداد (درصد)	سطح معنی داری*	
۱۷۳ (۵۷/۷٪)	۰/۰۰۱	سن کمتر یا مساوی ۳۵
۲۱ (۲۹/۲٪)		سن بیشتر از ۳۵
۱۰۱ (۵۰/۲٪)	۰/۷۱۷	جنین اضافی سندرم تخمدان تحریک پذیر
۹۱ (۵۴/۵٪)		فریز به علت عدم آمادگی بودن اندومتر
۲ (۵۰٪)		
۱۰۶ (۵۲/۵٪)	۰/۴۸۷	آگونیست
۸۸ (۵۱/۸٪)		آنتاگونیست
۸۰ (۵۲/۳٪)	۱/۰۰۰	لقاح آزمایشگاهی
۱۱۴ (۵۲/۱٪)		تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم
۱۶۸ (۵۲٪)	۱/۰۰۰	اولیه
۲۶ (۵۳/۱٪)		ثانویه

روز سوم سیکل هورمون	< ۱۰ واحد در میلی لیتر	۱۸۷ (۵۶/۳٪)	۰/۰۰۱
محرک فولیکول	≥ ۱۰ واحد در میلی لیتر	۷ (۱۷/۵٪)	
ضخامت اندومترروز	کمتر از ۹ میلی متر	۱۳۷ (۵۰/۴٪)	۰/۹۱۶
انتقال جنین	بیشتر یا مساوی ۹ میلی متر	۵۷ (۵۷٪)	
طول مدت سیکل درمان	کمتر از ۱۶ روز	۱۱۸ (۵۲/۴٪)	۰/۹۱۶
تا روز انتقال جنین	بیشتر یا مساوی ۱۶ روز	۷۶ (۵۱/۷٪)	

\*آزمون من ویتنی

## بحث

در مطالعه حاضر که به صورت گذشته نگر بر روی ۳۷۲ سیکل انتقال جنین فریز شده انجام شد، تأثیر عوامل کلینیکی بر روی نتایج بارداری کلینیکی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج این مطالعه، سن زن و هورمون محرک فولیکول روز سوم سیکل تأثیر معنی داری بر روی نتایج باروری داشت. سایر عوامل مانند علت فریز، پروتکل تحریک تخمک گذاری، نوع بارداری اولیه، ضخامت اندومتر در روز انتقال جنین و طول سیکل برای آماده سازی اندومتر تا زمان انتقال، تأثیری بر روی نتایج حاصل از انتقال جنین فریز شده نداشت.

سن زن یکی از مهمترین عوامل تعیین کننده میزان موفقیت باروری در جنین های تازه و منجمد بود. اگر چه در مطالعه حاضر مشابه مطالعه سالومنت و همکاران (۲۰۰۶) و کاساب و همکاران (۲۰۰۹)، سن عامل مهمی در موفقیت انتقال جنین فریز شده بود، ولی به دلیل محدودیت های موجود و عدم ثبت اطلاعات به طور کامل، امکان بررسی اسکور جنین در موقع فریز نبود و دقیقاً مشخص نشد که علت تأثیر سن بر روی نتایج انتقال جنین فریز، کیفیت بدتر جنین های فریز شده بوده یا عوامل دیگری در این مورد تأثیرگذار بودند (۲، ۴). مطالعه اشرفی و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که میزان بارداری در انتقال جنین فریز شده در سن کمتر و بیشتر از ۴۰ سال یکسان بود و به این نتیجه رسیدند در صورتی که تعداد کافی جنین با کیفیت خوب وجود داشته باشد، میزان بارداری یکسانی در گروه های سنی مختلف وجود خواهد داشت و تأثیر سن بیشتر به خاطر تأثیر بر کیفیت جنینی است (۷) که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی نداشت. همچنین در مطالعه اشرفی، هورمون محرک فولیکول در روز سوم سیکل تأثیر زیادی بر روی نتایج داشت و در بیماران با هورمون محرک

فولیکول بالاتر از ۱۰ واحد در لیتر، میزان بارداری به طور معنی داری کاهش یافت (۷).

در مطالعه کاساب و همکاران (۲۰۰۹) تأثیر هورمون محرک فولیکول بر روی انتقال جنین فریز شده مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که هورمون محرک فولیکول پایه به ۹ واحد در لیتر یا بیشتر، باعث کاهش میزان موفقیت در سیکل های انتقال جنین فریز شده، شد (۲). در مطالعه ال توکی و همکاران (۲۰۰۸)، ضخامت اندومتر در زمان شروع پروژسترون عامل مهمی در پیشگویی موفقیت انتقال جنین فریز شده بود و ضخامت اندومتر ۱۴-۹ میلی متر، مناسب ترین زمان برای انتقال جنین بود (۸). در مطالعه حاضر نیز همانند مطالعه چک و همکاران (۲۰۰۴) ارتباط معنی داری بین ضخامت اندومتر و میزان موفقیت انتقال جنین فریز شده مشاهده نشد (۹). اما به هر حال سیاست مطالعه حاضر این بود که در صورتی انتقال جنین انجام شود که حداقل ضخامت اندومتر در روز تجویز پروژسترون ۸ میلی متر و حداکثر ۱۴ میلی متر باشد و انتقال جنین در سیکل هایی که اندومتر مناسبی نداشته باشند، انجام نشود.

به نظر می رسد آنچه اهمیت دارد ضخامت اندومتر و کیفیت مناسب اندومتر (۱۳) در زمان انتقال جنین باشد و طول سیکل آماده سازی اندومتر تأثیری بر نتایج باروری ندارد. در مطالعه حاضر نیز طولانی شدن زمان آماده سازی اندومتر تأثیری بر نتایج بارداری نداشت. اگر چه برخی مطالعات کاهش میزان بارداری را به دنبال استفاده از روش درمانی آنتاگونیست هورمون آزاد کننده گنادوتروپین در مقایسه با آگونیست نشان دادند و در مورد تأثیر منفی آنتاگونیست بر روی پذیرش اندومتر بحث کردند (۱۰). الدار جوا و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که انتقال جنین فریز با پروتکل آنتاگونیست و آگونیست تفاوتی ندارد (۱۲). در مطالعه حاضر استفاده از

پروتکل آگونیسست یا آنتاگونیسست جهت تحریک تخمک گذاری تأثیری بر روی میزان بارداری در سیکل های جنین فریز شده نداشت.

مطالعات زیادی نشان داده اند که روش لقاح آزمایشگاهی یا تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم تأثیری در میزان موفقیت فن آوری های کمک باروری ندارد (۱۴). هر چند مواردی هم عنوان کرده اند که شانس بارداری در روش تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم پایین تر است (۸، ۱۵). ولی به هر حال مشاهدات ما حاکی از آن بود که نوع روش لقاح آزمایشگاهی یا تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم تأثیری در میزان موفقیت انتقال جنین فریز شده نداشت. تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم پروتکل استاندارد جهت بیماران با فاکتور مردانه شدید می باشد (۲، ۱۶). روش های کمک ناباروری هزینه قابل توجهی برای خانواده ها دارد. در نتیجه پیدا کردن عواملی که در روند این درمان می توانند مفید یا مضر باشند، شانس موفقیت را بالاتر می برد و در نهایت باعث کاهش هزینه ها می شود. هر چند که عوامل

ناشناخته دیگری هم وجود دارد که نیازمند تحقیقات گسترده می باشد.

### نتیجه گیری

سن زن و هورمون محرک فولیکول روز سوم مهمترین عوامل تعیین کننده موفقیت در روش های کمک باروری در سیکل های برگشت از فریز می باشد. سایر عوامل (مدت ناباروری، پروتکل لقاح آزمایشگاهی اولیه، علت فریز جنین، روش لقاح آزمایشگاهی و تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم، نوع ناباروری اولیه یا ثانویه، ضخامت اندومتر روز انتقال جنین و طول مدت سیکل درمان تا روز انتقال جنین) تأثیر معنی داری بر روی نتایج بارداری در بیماران که از سیکل های فریز شده استفاده کرده بودند، نداشت.

### تشکر و قدردانی

بدینوسیله از مرکز تحقیقاتی و درمانی ناباروری یزد وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد که در تمام مراحل این طرح ما را کمک و یاری کردند، تشکر و قدردانی می شود.

### منابع

- Oehninger S, Mayer J, Muasher S. Impact of different clinical variables on pregnancy outcome following embryo cryopreservation. *Mol Cell Endocrinol* 2000 Nov 27;169(1-2):73-7.
- Kassab A, Sabatini L, Tozer A, Zosmer A, Mostafa M, Al-Shawaf T. The correlation between basal serum follicle-stimulating hormone levels before embryo cryopreservation and the clinical outcome of frozen embryo transfers. *Fertil Steril* 2009 Oct;92(4):1269-75.
- Schalkoff ME, Oskowitz SP, Powers RD. A multifactorial analysis of the pregnancy outcome in a successful embryo cryopreservation program. *Fertil Steril* 1993 May;59(5):1070-4.
- Salumets A, Suikkari AM, Mäkinen S, Karro H, Roos A, Tuuri T. Frozen embryo transfers: implications of clinical and embryological factors on the pregnancy outcome. *Hum Reprod* 2006 Sep;21(9):2368-74.
- Check JH, Choe JK, Nazari A, Fox F, Swenson K. Fresh embryo transfer is more effective than frozen for donor oocyte recipients but not for donors. *Hum Reprod* 2001 Jul;16(7):1403-8.
- Capalbo A, Rienzi L, Buccheri M, Maggiulli R, Sapienza F, Romano S, et al. The worldwide frozen embryo reservoir: methodologies to achieve optimal results. *Ann N Y Acad Sci* 2011 May;1221(1):32-9.
- Ashrafi M, Jahangiri N, Hassani F, Akhoond MR, Madani T. The factors affecting the outcome of frozen-thawed embryo transfer cycle. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2011 Jun;50(2):159-64.
- 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 Apr;89(4):832-9.
- Check JH, Dietterich C, Graziano V, Lurie D, Choe JK. Effect of maximal endometrial thickness on outcome after frozen embryo transfer. *Fertil Steril* 2004 May;81(5):1399-400.
- Orvieto R, Meltzer S, Rabinson J, Zohav E, Anteby EY, Nahum R. GnRH agonist versus GnRH antagonist in ovarian stimulation: the role of endometrial receptivity. *Fertil Steril* 2008 Oct;90(4):1294-6.

11. Eftekhar M, Firouzabadi RD, Karimi H, Rahmani E. Outcome of cryopreserved-thawed embryo transfer in the GnRH agonist versus antagonist protocol. *Iran J Rep Med* 2012;10(4):297-302.
12. Eldar-Geva T, Zylber-Haran E, Babayof R, Halevy-Shalem T, Ben-Chetrit A, Tsafirir A, et al. Similar outcome for cryopreserved embryo transfer following GnRH-antagonist/GnRH-agonist, GnRH-antagonist/HCG or long protocol ovarian stimulation. *Reprod Biomed Online* 2007 Feb;14(2):148-54.
13. Eftekhar M, Rahmani E, Eftekhar T. Effect of Adding Human Chorionic Gonadotropin to The Endometrial Preparation Protocol in Frozen Embryo Transfer Cycles. *Int J Fertil Steril*. 2012;6(3):175-8.
14. Rimm AA, Katayama AC, Diaz M, Katayama KP. A meta-analysis of controlled studies comparing major malformation rates in IVF and ICSI infants with naturally conceived children. *J Assist Reprod Genet* 2004 Dec;21(12):437-43.
15. Simon A, Holzer H, Hurwitz A, Revel A, Zentner BS, Lossos F, et al. Comparison of cryopreservation outcome following intracytoplasmic sperm injection and conventional in vitro fertilization. *J Assist Reprod Genet* 1998 Aug;15(7):431-7.
16. Tucker MJ, Morton PC, Wright G, Ingargiola PE, Jones AE, Sweitzer CL. Factors affecting success with intracytoplasmic sperm injection. *Reprod Fertil Dev* 1995;7(2):229-36.