

Tekrarlayan İmplantasyon Başarısızlıklarında Güncel Durum

Current Approach to Recurrent Implantation Failures: Review

İlknur MUTLU,^a
Mehmet Fırat MUTLU,^b
Ahmet ERDEM^c

^aNova Art Tüp Bebek Merkezi,
^bKadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği,
Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi,
^cKadın Hastalıkları ve Doğum AD,
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Ankara

Geliş Tarihi/Received: 09.07.2015
Kabul Tarihi/Accepted: 14.10.2015

Yazışma Adresi/Correspondence:
Mehmet Fırat MUTLU
Özel Kuru Ankara Hastanesi,
Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği,
Ankara,
TÜRKİYE/TURKEY
firatmutlu78@hotmail.com

ÖZET Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı (TİB), 40 yaşın altında en az üç kez taze ya da donma-çözme siklusunda en az dört adet iyi kaliteli embriyo transferine rağmen klinik gebelik elde edilememesidir. Başarılı bir implantasyon için blastokist aşamasında embriyo, reseptif endometriyum ve endometriyum ile embriyo arasında başarılı bir iletişim gerekmektedir. Kromozomal anomaliler, sperm DNA hasarı, zona kalınlaşması, yetersiz kültür ortamları, embriyo kalitesinin kötü olması TİB etiolojisinde rol oynayan embriyonik faktörlerdir. Seçilmiş vakalarda zona pellusidanın inceltilmesi veya delinmesi, blastokist transferi, optimal kültür ortamlarının sağlanması implantasyon ve gebelik oranlarını artırabilir. Preimplantasyon genetik tarama canlı doğum oranlarını artırmazken alternatif yaklaşımlar olan karşılaştırmalı genomik hibridizasyon ve tek nükleotid polimorfizm analizi daha geniş kromozom taraması yapma avantajı sağlamaktadır. Embriyonun yeni gelişen zaman aralıklı görüntüleme teknolojisiyle değerlendirilmesi implantasyon potansiyeli en yüksek olan embriyoyu seçmeye yol gösterebilir. TİB etiolojisinde rol oynayan uterin faktörler arasında ise uterin miyom, endometriyal polip, uterin konjenital anomali, intrauterin adezyon bulunmaktadır. Adenomyozis ve endometriyoz varlığı akılda tutulmalıdır. Uterin nedenlerin varlığı ultrasonografik ve gerekirse histeroskopik olarak incelenmelidir. Hidrosalpinks şüphesinde histerosalpingografi ya da gerekirse laparoskopi ile değerlendirilmelidir. Hidrosalpinks varlığında salpinjektomi yapılması implantasyon ve gebelik oranlarını artırmaktadır. TİB olan hastalarda implantasyon penceresini yakalamak amacıyla endometriyal reseptiviteyi değerlendiren "endometrial receptivity array" yöntemi ile kişiselleştirilmiş embriyo transferi yapılarak başarılı sonuçlar elde edilmesi umut vermektedir. Son yıllarda etiolojide trombofilik ve immünolojik nedenler üzerinde de durulmakta; immünoterapiler ve antikoagülan tedaviler sıkça kullanılmaktadır. Ancak ampirik tedaviler prospektif randomize çalışmalarla faydaları kanıtlanmadıkça günlük infertilite pratiğinde kullanılmamalıdır. Gelecekte endometriyal gen tedavisi, intrauterin adezyon moleküllerinin kullanımı, embriyo kültürlerinin geliştirilmesi yeni umutlar doğuracaktır.

Anahtar Kelimeler: Embriyo implantasyonu; in vitro fertilizasyon

ABSTRACT Recurrent implantation failure (RIP) is defined as the lack of clinical pregnancy despite the transfer of at least 3 fresh embryos or 4 good quality embryos in a freeze-thaw cycle under the age of 40. A successful implantation requires an embryo in blastocyst stage, a receptive endometrium and an efficient interaction between embryo and endometrium. Chromosomal abnormalities, damaged sperm DNA, over-thickened zona pellucida, improper culture media and poor embryo quality are embryologic factors considered in the etiology of RIP. Assisted hatching in select patients, blastocyst transfer and providing optimal culture media might improve the rates of implantation and clinical pregnancy. While preimplantation genetic diagnosis does not seem to improve pregnancy rates, novel alternative approaches such as comparative genomic hybridization and single nucleotide polymorphism analysis enable us perform a broader genomic screening. Assessing the embryo by using newer techniques like time-lapse imaging technology may prove beneficial in detecting the embryo with the highest potential for implantation. Uterine fibroids, endometrial polyps, congenital abnormalities of the uterus and intrauterine adhesions are preceding uterine factors in the etiology of RIP. Adenomyosis and endometriosis should also be kept in mind for a possible etiology. Potential uterine problems require an ultrasonographic and hysteroscopic evaluation. If a hydrosalpinx is suspected, the patient must be evaluated with a hysterosalpingography (HSG) and a diagnostic laparoscopy can be performed. In case there is a hydrosalpinx, proceeding to a salpingectomy may improve the rates of implantation and clinical pregnancy. A new tool, endometrial receptivity array helps in seizing the implantation window and yields promising results by performing individualized embryo transfer in RIP patients. In recent years, thrombophilias and immunological causes also became popular areas of research and immunologic and anti coagulant therapies are used frequently. However, empirical therapies are not to be used in routine daily practice before these therapies are supported by randomized controlled trials. In future, endometrial gene therapies, use of intrauterine adhesion molecules and more developed embryo cultures will provide new opportunities.

Keywords: Embryo implantation; fertilization in vitro

İmplantasyon, embriyonun endometriyumun yüzeyel tabakasına tutunmasını takiben endometriyumun derin tabakasına invaze olduğu, haftalar süren bir süreçtir.¹ Bu sürecin başarılı bir şekilde tamamlandığı gestasyonel kesenin ultrasonografik olarak görülmesi ile anlaşılır. İmplantasyon başarısızlığı ise erken dönemde embriyonun tutunması ve/veya migrasyonun gerçekleşmemesi nedeni ile human koryonik gonadotropin (hCG) üretiminin hiç tespit edilemediği durumlar ile geç dönemde hCG üretiminin tespit edilebildiği ancak ultrasonografik olarak gestasyonel kesenin oluşmadığı biyokimyasal abortları kapsamaktadır.² Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı (TİB) ile ilgili olarak ise ortak bir tanım üzerinde anlaşmaya varılmamış olmasına rağmen kullanılan tanımlarda başarısız tedavi sayısı, transfer edilen embriyo sayısı, embriyo kalitesi esas alınmaktadır.³ En çok kullanılan tanımı ise 40 yaşın altında en az üç taze ya da donma-çözme siklusunda en az dört iyi kaliteli embriyo transferine rağmen klinik gebelik elde edilememesidir.² Başarılı bir implantasyon için reseptif bir endometriyum, blastokist aşamasında embriyo ve endometriyum ile embriyo arasında başarılı bir iletişim gerekmektedir.⁴ İntrauterin patoloji, nonreseptif endometriyum, maternal trombofili ve immün bozukluklar gibi endometriyumu etkileyen durumlarla sperm ve oosit özelliklerine bağlı olarak oluşan embriyo anomalileri varlığında bu iletişim bozulmaktadır. TİB nedeni ile başvuran hastalarda maternal ve paternal sebepler incelenmeli ve implantasyonun başarılı bir şekilde gerçekleşmesi sağlanmaya çalışılmalıdır.⁵

TEKRARLAYAN İMPLANTASYON BAŞARISIZLIĞININ NEDENLERİ

EMBRİYONİK FAKTÖRLER

TİB etiolojisinde rol oynayan embriyo ile ilgili faktörler arasında kromozomal bozukluklar, embriyo kalitesinin kötü ve kültür ortamlarının yetersiz olması, zona kalınlaşması, embriyo transfer tekniğinin yanlış olması sayılabilir.⁶

Transfer Edilen Embriyo Kalitesi, Sayısı ve Gelişim Düzeyi

Embriyo kalitesi maternal yaşla ilişkili olup özellikle 40 yaş sonrası azalmaktadır.^{7,8} Gelişim gününe göre

uygun sayıda hücre içeren embriyo iyi kaliteli olarak tanımlanır. Blastomerlerin eşit sayıda ve düzgün dağılması, sitoplazmanın granülsüz olması ve %10'dan az fragmantasyon olması diğer kriterlerdir. Blastokist aşamasında ise embriyo iç hücre kitlesi, trofoektoderm ekspansiyonu ve kalitesine göre değerlendirilir.⁹ Kötü kaliteli bir embriyonun implantasyon olasılığı %10 iken iyi kaliteli bir embriyonun implantasyon olasılığı %30, implantasyon başarısızlığı olasılığı ise %70 civarındadır. İki embriyo transfer edildiğinde ise implantasyon başarısızlığı oranı %49'a transfer edilen embriyo sayısı arttıkça da daha düşük oranlara inmektedir.² Bir in vitro fertilizasyon (IVF) siklusunda tek embriyo transferi, iki embriyo transferine göre daha düşük canlı doğum oranlarına sahiptir. Ancak tek siklusta iki embriyo transferi ile tekrarlayan tek embriyo transferi (iki fresh ya da bir fresh ve onu takip eden donma çözme siklusu) karşılaştırıldığında kümülatif canlı doğum oranları açısından anlamlı fark olmaması ve tek embriyo transferinde çoğul gebelik riskinde azalma nedeni ile iki ve daha fazla embriyo transferine göre daha güvenli bir seçenek olduğu unutulmamalıdır.¹⁰

Blastokist transferinde implantasyon oranı %40 iken 2 ya da 3. gün transferlerinde bu oran %25-30 civarında kalmaktadır. Bunun sebebi daha iyi kaliteli embriyoların blastokist aşamasına ulaşabilmesi ve bu şekilde doğal bir seçim sağlanmasıdır.

Embriyonun kaliteli olabilmesi için hem oosit hem de spermin kaliteli olması gerekmektedir. İleri maternal yaş varlığında anöploidi oranı artışına bağlı olarak oosit kalitesi bozulmaktadır. Yüksek doz gonadotropin kullanılan sikluslarda da oosit kalitesi bozulmakta, fertilizasyon oranları düşük kalmaktadır.^{11,12} Sigara tüketimi, radyoterapi ve kemoterapi sperm DNA hasarına neden olmaktadır.^{13,14} Sperm DNA hasarının da embriyo kalitesini bozduğu, konsepsiyon ve implantasyon oranlarını azalttığı gösterilmiştir.¹⁵

Kromozomal Yapı

TİB olan hastalarda translokasyon, delesyon, mo-saisizm, inversiyon gibi kromozomal anomalilerin insidansı %2,5 oranındadır ve bu oran normal po-

pulasyona göre artmıştır. Bu nedenle TİB olan hastalarda karyotip analizi yapılması önerilmektedir.⁶ Bu hasta grubunda en sık görülen kromozomal anomali ise translokasyonlardır. TİB olgularında embriyoların yaklaşık %50'sinde anöploidi tespit edilmekte ve anöploidik embriyolar morfolojik görünümüne göre normal embriyolardan ayırt edilememektedir.^{16,17}

Zona Kalınlaşması

Oositi çevreleyen kalın aselüler matrikse zona pellusida denmektedir. Sperm bağlanmasında, akrozom reaksiyonunun oluşmasında, sperm ve oosit füzyonunda rol almakta; oositin birden fazla spermle fertilizasyonunu engellemektedir. İmplantasyonun oluşabilmesi için blastokist ekspansiyonu ile zona pellusidanın rüptüre olması gerekir; bu olay "hatching" olarak adlandırılır. Embriyoların uzun süre kültür ortamında kalması ve ileri yaş zona kalınlaşmasına neden olarak "hatching"i ve dolayısıyla implantasyonu engellemektedir.⁶

Embriyo Kültür Ortamı

Kaliteli ve standardize kültür ortamı kullanımı IVF başarısı için çok önemlidir. Osmolalite ve pH testleri ile kültür ortamları değerlendirilmelidir. Bazı vakalarda kültür ortamlarının kişiselleştirilmesi gerekebilir.⁶

Embriyo Transfer Tekniği

Embriyo transferi sırasında uterin kontraksiyonların oluşması, kateter ucunda kan ve mukus olması, endometriyuma zarar verilmesi, embriyoların kateterde kalması, embriyonun zona parçalanması nedeni ile dışarı çıkması, istenmeyen ve implantasyon oranlarını azaltan durumlardır.⁶ Transfer kateterinin endoservikal kanaldan zor geçtiği ve hastanın kramp hissettiği vakalar zor transfer olarak değerlendirilir. Gebelik oranlarının zor transferlerde yaklaşık %30 oranında daha az olduğu bildirilmiştir.⁶

UTERİN FAKTÖRLER

Konjenital Uterin Anomaliler

Müllerian kanalın oluşumunda ya da füzyonunda meydana gelen defektler sonucu konjenital

uterin anomaliler oluşur.² Uterin septum, bu anomaliler içinde abort, erken doğum, intrauterin gelişme geriliği gibi gebelik komplikasyonları ve infertilite ile en sık birlikte olan ve en sık görülenidir.⁴ Uterin septumun kanlanmasının az olması nedeni ile implantasyon oranını azalttığı düşünülmektedir. Histeroskopik septum rezeksiyonu hem fekunditeyi artırdığı hem de gebelik komplikasyonlarını azalttığı için önerilmektedir.⁴ Bikornuat uteri ve arkuat uteri varlığında ise nadiren cerrahi tedavi gerekmektedir.^{2,4}

Submuköz Miyom

Submuköz miyom varlığında uterin kavitenin anatomisi ve endometriyumun kanlanması bozulur; sitokin salınımı, inflamasyon ve uterin kontraktilite artar. Submuköz miyomu olan infertil hastalarda infertil kontrollere göre klinik gebelik ve implantasyon oranları azalmaktadır.¹⁸ Histeroskopik miyom rezeksiyonu yapıldığında ise kümülatif gebelik oranları iki katına çıkmaktadır.¹⁹

İntramural Miyom

Kavite ile ilişkisi olmayan intramural miyomların IVF sonuçlarını etkileyip etkilemediği tartışmalı olsa da yapılan meta-analizler intramural miyomu olan hastalarda olmayanlara göre implantasyon oranlarının daha az olduğunu göstermektedir. Ancak bu miyomların histeroskopik olarak çıkarılması klinik gebelik ve canlı doğum oranlarını anlamlı olarak artırmamaktadır.²

Endometriyal Polip

Histeroskopik inceleme sırasında uterusu en sık saptanan patoloji endometriyal poliplerdir.⁴ Endometriyal poliplerin implantasyonu olumsuz etkilediği düşünülmektedir.² Yapılan çalışmalar polipler çıkarıldığında spontan gebelik oranlarının arttığını göstermektedir.^{20,21} Histeroskopik polipektomi işleminin intrauterin inseminasyon sikluslarında gebelik oranlarını istatistiksel anlamlı olarak artırdığı randomize prospektif bir çalışmada gösterilmiştir.²² İnfertil hastalarda polipektomi önerilen bir tedavidir.²³

İntrauterin Adezyonlar

İntrauterin adezyonlar intrauterin cerrahi, küretaj ve intrauterin enfeksiyonlar sonrası oluşabilir ve

sperm geçişini ya da embriyonun endometriyumun luminal tabakasına yaklaşmasını ve tutunmasını bozarak infertilite sebebi olabilirler.⁴ TİB olan hastaların %8,5'inde intrauterin adezyon saptanmıştır.² Histeroskopi adezyonların teşhis ve tedavisinde ilk seçenektir.⁴ Histeroskopik adezyolizis işleminin fertilitate sonuçlarını olumlu etkilediği gösterilmiştir.²⁴ Postoperatif rahim içi araç ya da balon kullanmak adezyonların tekrar oluşma riskini engellemektedir.²⁵

Adenomyozis

Adenomyozis uterusun jonksiyonel bölgesini etkileyerek implantasyonu bozmakta ve fertilitateyi olumsuz olarak etkilemektedir.²⁶ Ultrasonografik olarak her zaman doğru tanı konulamadığından TİB olan hastalarda prevalansı olduğundan daha az bulunmaktadır. Adenomyozis varlığında manyetik rezonans (MR) ise kesin doğru tanı koydurucu bir testtir.²⁷ Adenomyozisli vakalarda gerçek bir kapsül olmadığından cerrahisi miyomlara göre zor olmaktadır.

Endometriyoz

Endometriyoz vakalarında hem oosit ve embriyo kalitesinin kötü olması hem de endometriyal reseptivitenin azalması infertiliteye neden olmaktadır.^{28,29} Endometriyozun erken evrelerinde bile implantasyon oranları daha az bulunmaktadır.³⁰ Endometriyozlu hastalarda glikodelin A, osteopontin, HOXA10 gibi implantasyon belirteçlerinin üretimi azalmıştır.³¹ Bu hasta grubunda implantasyon döneminde sayıca azalması gereken östrojen reseptörlerinin artması ve progesteron reseptörlerinin β alt ünitesinin olmaması nedeni ile gelişen progesteron direnci uterin reseptiviteyi bozmakta ve infertiliteye neden olmaktadır.^{32,33}

İnce Endometriyum

Menstrüel siklus boyunca endometriyum başarılı bir implantasyon için biyolojik ve morfolojik değişiklikler geçirmektedir. Ultrasonografik olarak endometriyum kalınlığının ve yapısının değerlendirilmesi implantasyon başarısını öngörmeye yardımcı olmaktadır.⁵ hCG günü ya da embriyo transfer günü endometriyal kalınlığın 7 mm'nin altında olması durumunda ince endometriyumdan bahsedilir. Yapılan çalışmalarda implantasyon için yeterli

minimum endometriyal kalınlık 6-8 mm olarak belirtilmektedir.⁵ Endometriyal kalınlığın 9 mm'den daha fazla olduğu durumlarda implantasyon, klinik gebelik ve canlı doğum oranlarının daha fazla olduğu gösterilmiştir.^{34,35} Endometriyumun östrojenik uyarıya rağmen ince kalması konjenital ya da T-shaped uterus, Turner sendromu, daha önce alınmış radyoterapi, geçirilmiş uterin cerrahi ve enfeksiyonlarla ilişkili olabilir.²

Endometriyal Reseptivite

İmplantasyon süreci adezyon molekülleri, sitokinler ve büyüme faktörlerinin rol aldığı geniş bir sinyal sistemini içermektedir.⁴ Yapılan çalışmalarda TİB olan hastalarla fertil kontroller arasında implantasyon döneminde eksprese olan genlerde büyük farklılıklar tespit edilmiştir.⁴ Bu çalışmaların amacı implantasyon penceresini tekrarlanabilir ve doğru belirteçlerle tespit edebilmek; endometriyal proteinler ve transkripsiyon faktörleri üzerine direkt etki ederek implantasyon sürecini başarıya ulaştıracak tedaviler bulmaktır.

Gonadotropin Stimülasyonunun Endometriyuma Etkisi

Östrojen ve progesteronun IVF sikluslarında normal değerlerin çok üzerine çıkması nedeni ile endometriyal morfoloji ve reseptivite etkilenmektedir.^{36,37} Yüksek östrojen değerleri endometriyal integrin ekspresyonunu ve dolayısıyla implantasyon oranlarını azaltmaktadır.⁴ Yapılan çalışmalarda donma-çözme sikluslarında klinik gebelik oranları taze sikluslara göre anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur.³⁸ Bu sonuç ovaryan stimülasyonun endometriyal reseptiviteyi bozucu etkisini göstermektedir.

HİDROSALPİNKS

Hidrosalpinks, distal tubal obstrüksiyona bağlı tubaların sıvı ile dolup genişlemesini ifade etmektedir.² Hidrosalpinks varlığında tubalarda biriken sıvının uterin kaviteye boşalması sonucu oluşan mekanik etki ile embriyonun endometriyumdan uzaklaşması, inflamatuvar maddelerin embriyoya direkt toksik etkisi yapması ve endometriyal reseptivite markerlerinin üretiminin azalması sonucu implantasyon bozulmaktadır.^{2,4} Hidrosalpinks varlığında IVF hastalarında canlı doğum oranları %50

azalmaktadır.² Bu nedenle IVF öncesi bu hastalara salpingektomi önerilmektedir.³⁹

TROMBOFİLİK FAKTÖRLER

Tekrarlayan gebelik kayıpları ile trombofili arasındaki ilişki net olarak tespit edilmesine rağmen TİB ile arasındaki ilişkiyle ilgili değişik görüşler vardır.^{40,41} TİB ve antifosfolipit antikor pozitifliği olan hastalarda tedavi verilmesinin IVF başarısı üzerine etkisi kanıtlanmamıştır.² Herediter trombofilisi olan hastalarda yapılan geniş kapsamlı bir çalışmada da maternal trombofili ile TİB arasında bir ilişki bulunamamıştır.⁴² Bu konuda geniş kapsamlı çalışmalar gerekmektedir.

İMMÜNOLOJİK FAKTÖRLER

İmplantasyon başarısızlığı olan hastalarda immünojenik faktörlerin rolü giderek artan oranda dikkat çekmektedir.³ İmmün sistemin bir hücresi olan doğal öldürücü hücrelerin plasental gelişim ve maternal toleransta rol aldığı tespit edilmiştir.³ Doğal öldürücü hücrelerin sayısı ve aktivitesinde değişiklikler implantasyon başarısızlığına neden olabilir.⁴³ İmmünomodülatör tedaviler IVF başarısızlıklarını açıklayacak başka bir neden bulunmadığında başarıyı artırmak için kullanılmaktadır.³ Ancak hem immünojenik test yapma hem de immünomodülatör tedavi verme konusunda fikir birliği bulunmamaktadır.^{2,44}

TEKRARLAYAN İMPLANTASYON BAŞARISIZLIĞI OLAN HASTALARDA YAPILACAK TETKİK VE TEDAVİLER

EMBRİYONİK FAKTÖRLERİN TANI VE TEDAVİSİ

Ovaryan Rezerv Testleri

Ovaryan fonksiyon bozukluğu tekrarlayan implantasyon başarısızlığına neden olabileceğinden bu hastalar bazal FSH, antimüllerian hormon ve antral folikül sayısı gibi ovaryan rezerv testleri açısından değerlendirilmelidir. Bu testler hastalara danışmanlık vermede yol gösterici olacaktır.²

Sperm DNA Fragmentasyonu

Sağlıklı bir embriyonun gelişimi için sağlıklı sperm gerektiğinden TİB'li hastalarda spermle-

rin morfolojik analizini yapan testler de kullanılmaktadır. Bu testlerden biri sperm DNA fragmentasyonunun ölçüldüğü, sperm kromatininin asit ortamdaki stabilitesini değerlendiren sperm kromatin testi'dir.⁴⁵ Fragmente DNA'lı spermatozoa oranı flow sitometrik olarak belirlenir. DNA fragmentasyon oranının %27'nin üzerinde olmasının IVF başarısızlığı ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur.^{46,47} Sperm fragmentasyon testi birçok merkezde kullanılmaya başlanmakla beraber henüz araştırma aşamasında olan bir testtir.^{2,48} Sperm DNA fragmentasyonunun artmış olduğu hastalarda çeşitli tedaviler kullanılmaktadır. Antioksidan ilaçlarla DNA fragmentasyon oranı azaltılabilir.⁴⁹ Başka bir tedavi seçeneği, ejakülden düşük DNA fragmentasyonlu spermi seçmeye yönelik yöntemlerin kullanılmasıdır.⁵⁰ Bunların içinde en sık kullanılanı intrasitoplazmik morfolojik seçilmiş sperm injeksiyonudur (IMSI). IMSI ve "intracytoplasmic sperm injection (ICSI)"yi karşılaştıran çalışmalarda IMSI uygulanan hastalarda implantasyon ve gebelik oranlarının anlamlı olarak daha yüksek, abort oranlarının ise anlamlı olarak daha az olduğu tespit edilmiştir.⁵¹ İki yöntem arasında anlamlı fark bulunmayan çalışmalar da olduğundan, IMSI yönteminin üstünlüğünü kanıtlamak için daha fazla randomize kontrollü çalışmaya ihtiyaç vardır. Ejakülatta, seminifer tübüldeki spermere göre daha fazla oranda DNA fragmentasyonu saptandığından fragmentasyon oranı yüksek olan hastalarda ICSI için testiküller sperm kullanımı da kullanılan bir başka yöntemdir. TİB'li hasta grubunda testiküller spermatozoa kullanımı ile daha yüksek gebelik oranları elde edilmesine rağmen bu konu ile ilgili daha fazla randomize kontrollü çalışmaya ihtiyaç vardır.^{49,52}

Karyotip Tayini

TİB'li hastalarda kromozomal anomali insidansı %2,5 olup normal populasyona göre daha yüksek olduğundan bu hasta grubunda çiftlere karyotip analizi önerilmektedir.²

Preimplantasyon Genetik Tarama

Preimplantasyon genetik taramanın (PGT) amacı genetik olarak normal embriyoyu seçip transfer ederek implantasyon oranlarını artırmaktır. Biyopsi metotları polar cisim biyopsisi, klivaj fazında

bir veya iki blastomer biyopsisi ve blastokist aşamasında yapılan hücre biyopsisidir.⁵³ Klivaj faz biyopsisi en sık kullanılan metot olmasına rağmen yüksek oranda mosaisizm insidansı taşımaktadır. Mozaik embriyolar blastokist aşamasına ulaşamayacağından blastokist biyopsisinde anöploidi riski klivaj faz biyopsisine göre daha az olmaktadır.⁵⁴ Son yapılan randomize kontrollü çalışmalarda TİB olan hastalarda PGT'nin IVF sonrası implantasyon oranlarını artırmadığı, hatta canlı doğum oranlarının PGS grubunda daha az olduğu sonucuna varılmıştır.⁵⁵ Biyopsi sırasında embriyoya verilen hasar, mozaik embriyoların varlığı ve "fluorescence in situ hybridization (FISH)" ile sınırlı sayıda kromozomun incelenmesi bu durumdan sorumlu olabilir. Amerika Üreme Derneği (ASRM) ve Avrupa İnsan Üremesi ve Embriyoloji Derneği, ileri maternal yaş, TİB ya da tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda PGT'nin canlı doğum oranlarını artırmadığı sonucuna varmışlardır.^{56,57} FISH'e alternatif yaklaşımlar; karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH) ve tek nükleotid polimorfizm analizi (SNPs)'dir. CGH microarray daha geniş bir kromozomal analiz avantajı sağlar ve konvansiyonel CGH'e göre üstünlüğü daha basit ve hızlı olmasıdır. SNPs ise kromozomal kopya sayısının yanı sıra genomik yapı ile ilgili de bilgi vermektedir.⁵⁸ Karyotipi normal olan çiftlerde TİB yönetiminde klivaj faz biyopsisi önerilmemektedir. Blastokist fazında CGH array bu hasta grubunda başarılı gebelik oluşumuna katkı sağlayabilir, ancak bu hasta grubunda rutin kullanımı için randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.⁵⁹

Zona Pellusidanın İnceltilmesi/Delinmesi

İmplantasyon ve klinik gebelik oranlarını artırmak amacıyla zona pellusidada yapay delikler açılmaktadır.⁶⁰ Bu işleme assisted hatching adı verilmektedir. Mekanik, enzimatik ya da kimyasal (Tyrode asit) olarak; piezo mikromanipülatör ya da lazer kullanarak yapılabilir. Ancak bu işlem blastomere zarar vererek embriyo canlılığını etkileyebilir ve monozigotik ikiz oranında artışa sebep olabilir.⁶¹ Son yapılan bir meta-analizde taze embriyo transferinin yapıldığı TİB olan vakalarda assisted hatching işleminin klinik gebelik oranlarını artırdığı gösterilmiştir.⁶² ASRM, assisted hatching işleminin tüm IVF hastalarında rutin kullanımını

önermezken TİB, kötü embriyo kalitesi ve ileri anne yaşı (≥ 38) olan kötü prognozlu hastalarda kullanımını önermektedir.⁶³

Embriyo Kültürü

Embriyonun sağlıklı bir şekilde gelişebilmesi için kültür şartlarının uygun olması gerekir. Embriyonun metabolik ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla değişik kokültür ortamları geliştirilmiştir.⁶ Embriyo kokültürlerinde kümülüs-granüloza hücreleri, endometriyal hücreler kullanılabilir. Bunlardan en etkili olanlar homolog endometriyal hücrelerin kullanıldığı kokültürlerdir.⁶⁴ TİB olan hastalarda olog endometriyal hücrelerin kullanıldığı bir çalışmada embriyo kalitesi ve klinik gebelik oranlarında artış tespit edilmiş olmasına rağmen kokültür kullanımı için çoğu merkezde yeterli donanım bulunmamaktadır.⁶⁵ Kokültür kullanımının avantajlarını ortaya koymak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

Blastokist Transferi

TİB olan hastalarda implantasyon ve gebelik oranlarını artırmak için blastokist transferi önerilmektedir. Blastokist transferi bu aşamaya ilerleyen, implantasyon potansiyeli daha yüksek olan embriyoyu seçebilme ve endometriyal reseptivitenin artmış olduğu dönemde transfer yapabilme avantajı sağlayan daha fizyolojik bir işlemdir. Blastokist transferinde 2-3. gün transferine göre canlı doğum ve implantasyon oranlarının daha yüksek olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur.⁶⁶ Bazı embriyolar blastokist aşamasına gidemeyeceğinden iptal oranlarını artırmamak için hasta seçimi dikkatli yapılmalıdır.

Ardışık Embriyo Transfer

İmplantasyon başarısızlığının temelinde bulunabilecek olası bir embriyo endometriyum asenkronizasyonu düzeltmek amacıyla ardışık embriyo transferi önerilmiştir.⁶⁷ Bazı çalışmalar ikinci bir transfer işleminin bakteriyel kontaminasyona, endometriyal travmaya ve uterin kontraksiyonlara neden olarak implantasyon sürecini bozabileceği sonucuna varırken, bazı çalışmalar ise ikinci kez kateter girişinin bu süreci olumlu etkileyeceği sonucuna varmıştır.⁶⁸ Bu tekniğin etkinliğini ka-

nıtlamak için daha fazla randomize kontrollü çalışmaya ihtiyaç vardır.

İntratubal Zigot Transferi

İntratubal zigot transferi (ZİFT) embriyonun fizyolojik olan tubal ortamda gelişimine olanak sağladığı, teknik olarak zor transfer ve kontraksiyonlar sonucu embriyonun serviksten atılma sorununu çözdüğü için önerilmiştir.⁶⁹ Ancak son yapılan meta-analizde ZİFT'nin intrauterin transfere üstünlüğü tespit edilememiştir.⁷⁰ Ayrıca işlem laparoskopik yapıldığından cerrahi, genel anestezi ve tubal transferden dolayı ektopik gebelik riski taşımaktadır. Günümüzde kültür ortamları yeterince geliştiğinden tercih edilen yöntem değildir.

Embriyo Transfer Tekniği

Embriyo transfer tekniği gebelik elde etme başarısını etkileyen önemli faktörlerdendir. Transfer kateterinde kan ya da mukus olması, bakteriyel kontaminasyon, uterin fundusa temas edilmesi, endometriyumun zedelenmesi, tenakulum kullanılması, işlemin uzun sürmesi ve işlem sırasında şiddetli ağrı oluşması gebelik ve implantasyon oranlarını azaltan durumlardır.^{71,72} Ultrason eşliğinde transfer, servikal mukusun aspirasyonu, deneme transferi yapılması, dolu mesane ile işlem yapılması, yumuşak kateter kullanımı transfer başarısını artıran yöntemlerdir.^{73,74} Eksternal servikal osun ve serviks uterus arası açının çok dar olduğu veya önceki denemelerinde zor transfer öyküsü olan kadınlarda KOH'a başlamadan önce servikal dilatasyon yapmak faydalı olabilir. Servikal dilatasyonun başarısız olduğu durumlarda higroskopik çubukların kullanımı veya servikal darlığın histeroskopik olarak açılması düşünülebilir.⁷⁵

Ovaryan Stimülasyon Protokolleri

Stimülasyon protokolüne suboptimal yanıt alındığında doz artırılabilir ya da protokol değiştirilebilir.² Daha önce agonist sikluslarla TİB öyküsü olanlarda antagonist protokol ile daha iyi gebelik sonuçları elde edilmiştir.⁷⁶ Stimülasyona kötü yanıt veren hastalarda luteal faz eklenmesi düşünülebilir.⁷⁷ Endometriyoz ve adenomiyozis vakalarında da tedavi öncesi birkaç ay GnRH agonist kullanımı gebelik oranlarını artırabilir.⁷⁸

Embriyo Değerlendirme Yöntemleri

Morfolojik kriterlere göre embriyo seçimi subjektif olabilmekte ve tecrübe gerektirmektedir. Bu nedenle embriyo kalitesini ve canlılığını değerlendirmek için yeni yöntemler gelişmektedir. Bu yöntemlerden biri olan zamana aralıklı görüntüleme embriyo gelişimi inkübatörden çıkarılmadan devamlı monitörize edilebilmektedir.² IVF sikluslarında hâlen embriyonun morfolojik olarak değerlendirilmesi en sık kullanılan metot olsa da subjektif olması güvenilirliğini azaltmaktadır. Son yıllarda embriyo ve oosit metabolizma ürünlerinin foliküler sıvıda veya kültür sıvısında noninvaziv yöntemlerle yapılan analizleri embriyo kalitesi hakkında bilgi verebilmektedir. Metabolitlerin hepsinin ayrı ayrı değerlendirilmesi yerine son yıllarda ortaya konan ve kızıl ötesi spektroskopi kullanılarak yapılan vibrasyonel spektroskopi ile toplu olarak değerlendirme yapılabilmektedir. TİB olan hastalarda metabolitlerin kullanım avantajı henüz kanıtlanmamış olsa da morfolojik değerlendirme ile birlikte kullanımı embriyo kalitesi hakkındaki bilgimizi artırabilmektedir.²

UTERİN FAKTÖRLERİN TANISI VE TEDAVİSİ

Uterusu ve endometriyal kaviteyi değerlendirmek için kullanılan tanı yöntemleri ultrasonografi, histerosalpingografi (HSG), sonohisterografi ve histeroskopidir. Ultrasonografi ile uterin anatomi, miyom, polip gibi uterin patolojiler, hidrosalping, folikül çapları ve endometriyal gelişim incelenebilir. HSG'nin intrauterin patolojilerin tespitinde sensitivitesi düşük, yanlış pozitiflik oranı yüksek olup hidrosalping tespitinde ise faydalı bir tanı yöntemidir.² Sonohisterografi hem HSG'ye hem de histeroskopiye göre daha az invaziv olup histeroskopiye benzer tanısal güce sahiptir.⁷⁹ Histeroskopi ise intrakaviter lezyonların hem tanı hem tedavisinde altın standart yöntemdir. TİB olan hastalarda intrauterin kavitede patoloji olma insidansı %25-50 bulunmuştur ve bu hastalarda histeroskopi ile kavitenin değerlendirilmesinin gebelik oranlarını artırdığı gösterilmiştir.^{80,81} Histeroskopinin proliferatif fazda yapılması daha iyi bir görüntü sağlarken IVF öncesi luteal fazda biyopsi ile birlikte yapılması endometriyal uyarı etkisi yaparak implantasyon oranlarını artırabilir.²

İntrakaviter Lezyonlar

Endometriyal polipler ofis histeroskopi sırasında en sık tespit edilen patoloji olup implantasyonu olumsuz etkilediğinden TİB olan hastalarda çıkarılması önerilmektedir.² Son yapılan meta-analizler submuköz miyomların da implantasyon, klinik gebelik, canlı doğum oranlarını anlamlı olarak azaltırken abort oranlarını anlamlı olarak artırdığını göstermiştir. Submuköz miyomlar çaptan bağımsız olarak çıkarıldıklarında klinik gebelik oranları artmaktadır.¹⁸ Çapı 5 cm'den küçük olan submuköz miyomların çıkarılmasında bir sorun olmazken, 5 cm'den büyük ve %50'den fazlası miyometriyuma gömülü olan vakalar için birkaç seans gerekebilmektedir. Multipl submuköz miyomların çıkarılması intrauterin adezyon oluşumuna neden olabilir.²

Uterin septum olan hastalarda hem fekundite üzerine olumlu etkileri hem de preterm eylem ve abort gibi gebelik komplikasyon oranlarını azaltması nedeni ile septum boyutundan bağımsız olarak histeroskopik septum rezeksiyonu önerilmektedir.^{82,83}

Intrauterin adezyonlar da uterin septum gibi hem implantasyon oranlarını azaltmakta hem de gebelik komplikasyonlarına sebep olmaktadır. Bu nedenle histeroskopik adezyolizis işlemi önerilmektedir.²⁴

Miyometriyal Patolojiler

TİB olan hastalarda kavite ile ilişkisi olmayan intramural miyomların çıkarılması konusu tartışmalıdır. Hastalar miyomların hem implantasyon sürecini bozduğu hem de "intrauterine growth retardation (IUGR)", ablasyo, malprezantasyon gibi çeşitli gebelik komplikasyonları ile birlikte olduğu konusunda bilgilendirilmeli, ayrıca miyomektomi işleminin kanama, adezyon oluşumu gibi riskleri anlatılarak karar kişiye göre alınmalıdır. Uterin arter embolizasyonu ve ultrason eşliğinde MR uygulaması cerrahi miyomektomiye alternatif tedavilerdir.²

Adenomyozisde TİB nedenleri arasında yer almaktadır. Cerrahi tedaviye uygun olmadığından ultra-long pitüiter down regülasyon yapılmalıdır.⁷⁸

İnce Endometriyum

Östrojenik uyarıya cevap vermeyen ince endometriyum, tedavisi zor bir durumdur.⁵ İnce endometriyum varlığında intrauterin adezyon varlığından şüphelenilerek histeroskopi yapılmalı ve adezyon tespit edilmesi durumunda adezyolizis uygulanmalıdır.⁸⁴ Bu hasta grubunda cerrahi olarak düzeltilcek bir neden bulunmadığında yüksek doz östrojen, vajinal ya da transdermal patch östrojen, endometriyal kan akımını artıracak aspirin ve sildenafil gibi tedaviler verilebilir.⁸⁵ Bu tedavilere rezistan olan hastalarda granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör (GMCSF) lokal ya da sistemik olarak kullanılabilir.⁸⁶ İnce endometriyum varlığında IVF tedavisi öncesindeki siklusta endometriyal biyopsi yapmanın ise inflamatuvar yanıtı başlatarak implantasyon oranlarını artırdığı düşünülmektedir.⁸⁷ Bir başka seçenek ise gonadotropin stimülasyonu sırasında yüksek doz östrojen tedavisine dirençli hastalarda embriyo transferi yapıp "oocyte pick-up (OPU)"tan 7 gün sonra endometriyal biyopsi yapmak ve sekretuar endometriyum gelmesi durumunda daha sonra yüksek doz östrojen ile hazırlanan ve yeterli kalınlığın sağlandığı donma-çözme siklusunda transfer yapmaktır.² Son yapılan randomize kontrollü bir çalışmada GnRH agonisti ile luteal destek verilen hastalarda daha yüksek östrojen ve progesteron seviyeleri ve daha kalın endometriyum tespit edilmiştir.⁸⁸ Bu tedavilerin rutin kullanımı ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Endometriyoz

Endometriyozlu kadınlarda IVF tedavisi öncesi uzun süreli (3-6 ay) GnRH analogu ile süpresyon yapılması devam eden gebelik oranlarını anlamlı olarak artırmaktadır.⁸⁹ IVF öncesi endometriyomaların çıkartılması veya aspire edilmesinin faydası ortaya konulamamıştır.⁹⁰ Tekrarlayan başarısız sikluslar sonrasında olası bir endometriyoz tanısı ve tedavisi amacıyla laparoskopi yapılması önerilmemektedir.

Endometriyal "Stracth" (Çizik Atma)

TİB olan hastalarda IVF denemesi öncesinde luteal fazda yapılan endometriyal biyopsinin implantasyon, gebelik ve canlı doğum oranlarını artırdığı

gösterilmiştir.⁹¹⁻⁹³ Bu etkinin endometriyal lokal hasar sonrası sitokin ve büyüme faktörlerinin salınımı sonucu olduğu düşünülmektedir.⁹¹ Endometriyal çizik atma işlemi pipelle veya histeroskopi sırasında yapılabilir.

Endometriyal Reseptivite Assay

Moleküler tıptaki gelişmeler sayesinde günümüzde endometriyumun transkriptomik profiline göre reseptivite durumunu tespit etmek mümkündür. Bu amaçla geliştirilen ERA testinde doğal sikluslarda luteal faz+7. gün, hormon tedavisi verilen sikluslarda ise progesteron+5. gün, alınan endometriyal biyopside 238 gen incelenerek endometriyumun reseptivite durumu belirlenir. Sonuç nonreseptif geldiğinde reseptif dönem tespit edilene kadar her ay biyopsi yapılır. Sonuç reseptif geldiğinde bir sonraki siklusta tespit edilen günde transfer yapılır. Eldeki veriler TİB olan hastalarda implantasyon penceresinde kayma ve transkriptomik modifikasyonlar olduğunu gösterdiğinden ERA testi ile kişiselleştirilmiş embriyo transferi yapılarak başarılı sonuçlar elde edilebilir.^{94,95}

HİDROSALPİNKS TANI VE TEDAVİSİ

TİB olan hastalarda hidrosalpinks ekarte edilmelidir. Çoğu zaman hidrosalpinks ultrasonografide görülmediğinden bu hastalara daha önce yapılmamışsa HSG yapılmalıdır. Eğer HSG ile de kesin bir sonuca ulaşılamazsa laparoskopi ile değerlendirilmelidir.² Hidrosalpinks varlığında salpingektomi yapılması implantasyon ve gebelik oranlarını artırmaktadır. Ultrasonografik olarak görülemeyen hidrosalpinks vakalarında ise salpingektominin faydası tartışmalıdır. Hidrosalpinks varlığında bir başka tedavi seçeneği de salpingostomidir. Bu tedavi ile intrauterin gebelik oranları %30 olarak tespit edilmiştir.⁹⁶ Doğal yoldan gebe kalma şansı da devam ettiğinden hasarın minimal olduğu vakalarda salpingostomi önerilebilir. Ancak sonrasında hidrosalpinksin tekrarlama riskinin olması ve ek işlem gerekebilmesi dezavantajlarıdır.

Ultrasonografi eşliğinde hidrosalpinks drenajı ise hem sonrasında hızlı sıvı birikimi olması hem de enfeksiyon riskini artırması nedeni ile tercih edilmemektedir.² Proksimal tubal oklüzyon da özellikle

yaygın pelvik adezyonu olan hastalarda salpingektomiye alternatif bir yöntemdir.³⁹

TROMBOFİLİK FAKTÖRLERİN TANI VE TEDAVİSİ

Trombofili veya otoantikörler ile implantasyon başarısızlığı arasında net bir ilişki ortaya konulamadığı gibi, aspirin ve heparin uygulamasının sonucu iyileştireceğine dair yeterli kanıt da yoktur.^{2,97} Trombofili tespit edilmeyen TİB hastalarında ampirik heparin, aspirin ya da kortikosteroid kullanımı da önerilmemektedir. ASRM de IVF yapılacak hastalarda antifosfolipit antikor testi yapılmasının ve tedavi verilmesinin endike olmadığını bildirmiştir.²

İMMÜNOLOJİK FAKTÖRLERİN TANI VE TEDAVİSİ

TİB olan hastalarda son yıllarda etiyolojide immünojenik nedenler üzerinde durulmakta ve kanıta dayalı olmamasına rağmen immünoterapi sıkça kullanılmaktadır.⁹⁷ İmmünoterapide natural killer (NK) hücre üretimi ve/veya aktivitesini azaltmak ve anormal Th1/Th2 oranını düzeltmek amacıyla intravenöz immünglobulin, proinflatuar sitokinlerin salınımını ve NK sitotoksitesini azaltmak amacıyla %20'lik intralipid solüsyonu, steroid kullanımı ve allojenik lenfosit terapisi gibi uygulamalar denenmektedir. Ancak TİB olan hastalarda bu tedavilerin faydası ve güvenilirliği ile ilgili kesin kanıt bulunmamaktadır.⁹⁷⁻⁹⁹

SONUÇ

TİB olan hastalarda implantasyon başarısızlığının nedenine yönelik ek incelemeler yapılmalıdır. Önerilen incelemeler; histeroskopi, histerosalpingografi, pelvik ultrasonografi, parental karyotip ve ovaryan rezerv ve fonksiyon testleridir. Bu hastalara uygulanacak tedaviler kanıta dayalı tıp dâhilinde olmalı, faydası kanıtlanmamış tedaviler ancak bilimsel çalışmalar kapsamında kullanılmalıdır. Tedavide amaç embriyo kalitesi ve endometriyal reseptiviteyi artırmak olmalıdır. Gelecekte endometriyal gen tedavisi, intrauterin adezyon moleküllerinin kullanımı, embriyo kültürlerinin geliştirilmesi yeni umutlar doğuracaktır.

KAYNAKLAR

- Iacobellis G, Ribaudo MC, Assael F, Vecci E, Tiberti C, Zappaterreno A, et al. Echocardiographic epicardial adipose tissue is related to anthropometric and clinical parameters of metabolic syndrome: a new indicator of cardiovascular risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(11):5163-8.
- Coughlan C, Ledger W, Wang Q, Liu F, Demiroglu A, Gurgan T, et al. Recurrent implantation failure: definition and management. *Reprod Biomed Online* 2014;28(1):14-38.
- Polanski LT, Baumgarten MN, Quenby S, Brosens J, Campbell BK, Raine-Fenning NJ. What exactly do we mean by 'recurrent implantation failure'? A systematic review and opinion. *Reprod Biomed Online* 2014;28(4):409-23.
- Revel A. Defective endometrial receptivity. *Fertil Steril* 2012;97(5):1028-32.
- Simon A, Laufer N. Repeated implantation failure: clinical approach. *Fertil Steril* 2012;97(5):1039-43.
- Das M, Holzer HE. Recurrent implantation failure: gamete and embryo factors. *Fertil Steril* 2012;97(5):1021-7.
- Devroey P, Godoy H, Smits J, Camus M, Tournaye H, Derde MP, et al. Female age predicts embryonic implantation after ICSI: a case-controlled study. *Hum Reprod* 1996;11(6):1324-7.
- Spandorfer SD, Chung PH, Kligman I, Liu HC, Davis OK, Rosenwaks Z. An analysis of the effect of age on implantation rates. *J Assist Reprod Genet* 2000;17(6):303-6.
- Cutting R, Morroll D, Roberts SA, Pickering S, Rutherford A; BFS and ACE. Elective single embryo transfer: guidelines for practice British Fertility Society and Association of Clinical Embryologists. *Hum Fertil (Camb)* 2008;11(3):131-46.
- Pandian Z, Marjoribanks J, Ozturk O, Serour G, Bhattacharya S. Number of embryos for transfer following in vitro fertilisation or intracytoplasmic sperm injection. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;7:CD003416.
- Collins J. Mild stimulation for in vitro fertilization: making progress downward. *Hum Reprod Update* 2009;15(1):1-3.
- Verberg MF, Eijkemans MJ, Macklon NS, Heijnen EM, Baart EB, Hohmann FP, et al. The clinical significance of the retrieval of a low number of oocytes following mild ovarian stimulation for IVF: a meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2009;15(1):5-12.
- Erenpreiss J, Hlevicka S, Zalkalns J, Erenpreiss J. Effect of leukocytospermia on sperm DNA integrity: a negative effect in abnormal semen samples. *J Androl* 2002;23(5):717-23.
- Morris ID. Sperm DNA damage and cancer treatment. *Int J Androl* 2002;25(5):255-61.
- Fernández-Gonzalez R, Moreira PN, Pérez-Crespo M, Sánchez-Martín M, Ramirez MA, Pericuesta E, et al. Long-term effects of mouse intracytoplasmic sperm injection with DNA-fragmented sperm on health and behavior of adult offspring. *Biol Reprod* 2008;78(4):761-72.
- Gianaroli L, Magli MC, Ferraretti AP, Munné S. Preimplantation diagnosis for aneuploidies in patients undergoing in vitro fertilization with a poor prognosis: identification of the categories for which it should be proposed. *Fertil Steril* 1999;72(5):837-44.
- Pehlivan T, Rubio C, Rodrigo L, Romero J, Remohi J, Simón C, et al. Impact of preimplantation genetic diagnosis on IVF outcome in implantation failure patients. *Reprod Biomed Online* 2003;6(2):232-7.
- Pritts EA, Parker WH, Olive DL. Fibroids and infertility: an updated systematic review of the evidence. *Fertil Steril* 2009;91(4):1215-23.
- Shokeir T, El-Shafei M, Yousef H, Allam AF, Sadek E. Submucous myomas and their implications in the pregnancy rates of patients with otherwise unexplained primary infertility undergoing hysteroscopic myomectomy: a randomized matched control study. *Fertil Steril* 2010;94(2):724-9.
- Shokeir TA, Shalan HM, El-Shafei MM. Significance of endometrial polyps detected hysteroscopically in eumenorrheic infertile women. *J Obstet Gynaecol Res* 2004;30(2):84-9.
- Spiewankiewicz B, Stelmachów J, Sawicki W, Cendrowski K, Wypych P, Swiderska K. The effectiveness of hysteroscopic polypectomy in cases of female infertility. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2003;30(1):23-5.
- Pérez-Medina T, Bajo-Arenas J, Salazar F, Redondo T, Sanfrutos L, Alvarez P, et al. Endometrial polyps and their implication in the pregnancy rates of patients undergoing intrauterine insemination: a prospective, randomized study. *Hum Reprod* 2005;20(6):1632-5.
- American Association of Gynecologic Laparoscopists. AAGL practice report: practice guidelines for the diagnosis and management of endometrial polyps. *J Minim Invasive Gynecol* 2012;19(1):3-10.
- Dawood A, Al-Talib A, Tulandi T. Predisposing factors and treatment outcome of different stages of intrauterine adhesions. *J Obstet Gynaecol Can* 2010;32(8):767-70.
- Myers EM, Hurst BS. Comprehensive management of severe Asherman syndrome and amenorrhea. *Fertil Steril* 2012;97(1):160-4.
- Maheshwari A, Gurunath S, Fatima F, Bhattacharya S. Adenomyosis and subfertility: a systematic review of prevalence, diagnosis, treatment and fertility outcomes. *Hum Reprod Update* 2012;18(4):374-92.
- Bazot M, Daraï E, Rouger J, Detchev R, Cortez A, Uzan S. Limitations of transvaginal sonography for the diagnosis of adenomyosis, with histopathological correlation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002;20(6):605-11.
- Matsuzaki S, Darcha C, Maleysson E, Canis M, Mage G. Impaired down-regulation of E-cadherin and beta-catenin protein expression in endometrial epithelial cells in the mid-secretory endometrium of infertile patients with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(7):3437-45.
- Díaz I, Navarro J, Blasco L, Simón C, Pellicer A, Remohi J. Impact of stage III-IV endometriosis on recipients of sibling oocytes: matched case-control study. *Fertil Steril* 2000;74(1):31-4.
- Kuivasaari P, Hippeläinen M, Anttila M, Heinonen S. Effect of endometriosis on IVF/ICSI outcome: stage III/IV endometriosis worsens cumulative pregnancy and live-born rates. *Hum Reprod* 2005;20(11):3130-5.
- Wei Q, St Clair JB, Fu T, Stratton P, Nieman LK. Reduced expression of biomarkers associated with the implantation window in women with endometriosis. *Fertil Steril* 2009;91(5):1686-91.
- Lessey BA, Killam AP, Metzger DA, Haney AF, Greene GL, McCarty KS Jr. Immunohistochemical analysis of human uterine estrogen and progesterone receptors throughout the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;67(2):334-40.
- Wu Y, Strawn E, Basir Z, Halverson G, Guo SW. Promoter hypermethylation of progesterone receptor isoform B (PR-B) in endometriosis. *Epigenetics* 2006;1(2):106-11.
- Richter KS, Bugge KR, Bromer JG, Levy MJ. Relationship between endometrial thickness and embryo implantation, based on 1,294 cycles of in vitro fertilization with transfer of two blastocyst-stage embryos. *Fertil Steril* 2007;87(1):53-9.
- Kovacs P, Matyas S, Boda K, Kaali SG. The effect of endometrial thickness on IVF/ICSI outcome. *Hum Reprod* 2003;18(11):2337-41.
- Thomas K, Thomson A, Wood S, Kingsland C, Vincel G, Lewis-Jones I. Endometrial integrin expression in women undergoing in vitro fertilization and the association with subsequent treatment outcome. *Fertil Steril* 2003;80(3):502-7.

37. Thomas K, Thomson AJ, Sephton V, Cowan C, Wood S, Vince G, et al. The effect of gonadotrophic stimulation on integrin expression in the endometrium. *Hum Reprod* 2002;17(1):63-8.
38. Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, Aguirre M, Hudson C, Thomas S. Evidence of impaired endometrial receptivity after ovarian stimulation for in vitro fertilization: a prospective randomized trial comparing fresh and frozen-thawed embryo transfer in normal responders. *Fertil Steril* 2011;96(2):344-8.
39. Johnson N, van Voorst S, Soutter MC, Strandell A, Mol BW. Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo in vitro fertilisation. *Cochrane Database Syst Rev* 2010(1):CD002125.
40. Azem F, Many A, Ben Ami I, Yovel I, Amit A, Lessing JB, et al. Increased rates of thrombophilia in women with repeated IVF failures. *Hum Reprod* 2004;19(2):368-70.
41. Grandone E, Colaizzo D, Lo Bue A, Checola MG, Cittadini E, Margaglione M. Inherited thrombophilia and in vitro fertilization implantation failure. *Fertil Steril* 2001;76(1):201-2.
42. Simur A, Ozdemir S, Acar H, Colakoglu MC, Gorkemli H, Balci O, et al. Repeated in vitro fertilization failure and its relation with thrombophilia. *Gynecol Obstet Invest* 2009;67(2):109-12.
43. Tuckerman E, Mariee N, Prakash A, Li TC, Laird S. Uterine natural killer cells in peri-implantation endometrium from women with repeated implantation failure after IVF. *J Reprod Immunol* 2010;87(1-2):60-6.
44. Moffett A, Shreeve N. First do no harm: uterine natural killer (NK) cells in assisted reproduction. *Hum Reprod* 2015;30(7):1519-25.
45. Erenpreiss J, Bungum M, Spano M, Elzanaty S, Orbidans J, Giwerzman A. Intra-individual variation in sperm chromatin structure assay parameters in men from infertile couples: clinical implications. *Hum Reprod* 2006;21(8):2061-4.
46. Bungum M, Humaidan P, Axmon A, Spano M, Bungum L, Erenpreiss J, et al. Sperm DNA integrity assessment in prediction of assisted reproduction technology outcome. *Hum Reprod* 2007;22(1):174-9.
47. Gandini L, Lombardo F, Paoli D, Caruso F, Eleuteri P, Leter G, et al. Full-term pregnancies achieved with ICSI despite high levels of sperm chromatin damage. *Hum Reprod* 2004;19(6):1409-17.
48. Coughlan C, Clarke H, Cutting R, Saxton J, Waite S, Ledger W, et al. Sperm DNA fragmentation, recurrent implantation failure and recurrent miscarriage. *Asian J Androl* 2015;17(4):681-5.
49. Greco E, Scarselli F, Iacobelli M, Rienzi L, Ubaldi F, Ferrero S, et al. Efficient treatment of infertility due to sperm DNA damage by ICSI with testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 2005;20(1):226-30.
50. Sakkas D, Alvarez JG. Sperm DNA fragmentation: mechanisms of origin, impact on reproductive outcome, and analysis. *Fertil Steril* 2010;93(4):1027-36.
51. Souza Setti A, Ferreira RC, Paes de Almeida Ferreira Braga D, de Cássia Sávio Figueira R, Iaconelli A Jr, Borges E Jr. Intracytoplasmic sperm injection outcome versus intracytoplasmic morphologically selected sperm injection outcome: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2010;21(4):450-5.
52. Weissman A, Horowitz E, Ravhon A, Nahum H, Golan A, Levrán D. Pregnancies and live births following ICSI with testicular spermatozoa after repeated implantation failure using ejaculated spermatozoa. *Reprod Biomed Online* 2008;17(5):605-9.
53. Harton GL, Magli MC, Lundin K, Montag M, Lemmen J, Harper JC, et al. ESHRE PGD Consortium/Embryology Special Interest Group—best practice guidelines for polar body and embryo biopsy for preimplantation genetic diagnosis/screening (PGD/PGS). *Hum Reprod* 2011;26(1):41-6.
54. Ly KD, Agarwal A, Nagy ZP. Preimplantation genetic screening: does it help or hinder IVF treatment and what is the role of the embryo? *J Assist Reprod Genet* 2011;28(9):833-49.
55. Blockeel C, Schutyser V, De Vos A, Verpoest W, De Vos M, Staessen C, et al. Prospectively randomized controlled trial of PGS in IVF/ICSI patients with poor implantation. *Reprod Biomed Online* 2008;17(6):848-54.
56. Group ECW. Intrauterine insemination. *Hum Reprod Update* 2009;15(3):265-77.
57. Vanneste E, Voet T, Melotte C, Debrock S, Sermon K, Staessen C, et al. What next for preimplantation genetic screening? High mitotic chromosome instability rate provides the biological basis for the low success rate. *Hum Reprod* 2009;24(11):2679-82.
58. Wells D, Alfarawati S, Fragouli E. Use of comprehensive chromosomal screening for embryo assessment: microarrays and CGH. *Mol Hum Reprod* 2008;14(12):703-10.
59. Harper JC, Sengupta SB. Preimplantation genetic diagnosis: state of the art 2011. *Hum Genet* 2012;131(2):175-86.
60. Malter HE, Cohen J. Blastocyst formation and hatching in vitro following zona drilling of mouse and human embryos. *Gamete Res* 1989;24(1):67-80.
61. Hershlag A, Paine T, Cooper GW, Scholl GM, Rawlinson K, Kvapil G. Monozygotic twinning associated with mechanical assisted hatching. *Fertil Steril* 1999;71(1):144-6.
62. Martins WP, Rocha IA, Ferriani RA, Nastro CO. Assisted hatching of human embryos: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Hum Reprod Update* 2011;17(4):438-53.
63. Mansour RT, Rhodes CA, Aboulghar MA, Serour GI, Kamal A. Transfer of zona-free embryos improves outcome in poor prognosis patients: a prospective randomized controlled study. *Hum Reprod* 2000;15(5):1061-4.
64. Jayot S, Parneix I, Verdaguier S, Discamps G, Audebert A, Emperaire JC. Coculture of embryos on homologous endometrial cells in patients with repeated failures of implantation. *Fertil Steril* 1995;63(1):109-14.
65. Spandorfer SD, Pascal P, Parks J, Clark R, Veeck L, Davis OK, et al. Autologous endometrial coculture in patients with IVF failure: outcome of the first 1,030 cases. *J Reprod Med* 2004;49(6):463-7.
66. Levitas E, Lunenfeld E, Har-Vardi I, Albortiano S, Sonin Y, Hackmon-Ram R, et al. Blastocyst-stage embryo transfer in patients who failed to conceive in three or more day 2-3 embryo transfer cycles: a prospective, randomized study. *Fertil Steril* 2004;81(3):567-71.
67. Goto S, Takebayashi K, Shiotani M, Fujiwara M, Hirose M, Noda Y. Effectiveness of 2-step (consecutive) embryo transfer. Comparison with cleavage-stage transfer. *J Reprod Med* 2003;48(5):370-4.
68. Egbase PE, al-Sharhan M, al-Othman S, al-Mutawa M, Udo EE, Grudzinskas JG. Incidence of microbial growth from the tip of the embryo transfer catheter after embryo transfer in relation to clinical pregnancy rate following in-vitro fertilization and embryo transfer. *Hum Reprod* 1996;11(8):1687-9.
69. Margalioth EJ, Ben-Chetrit A, Gal M, Eldar-Geva T. Investigation and treatment of repeated implantation failure following IVF-ET. *Hum Reprod* 2006;21(12):3036-43.
70. Habana AE, Palter SF. Is tubal embryo transfer of any value? A meta-analysis and comparison with the Society for Assisted Reproductive Technology database. *Fertil Steril* 2001;76(2):286-93.
71. Goudas VT, Hammit DG, Damario MA, Session DR, Singh AP, Dumesic DA. Blood on the embryo transfer catheter is associated with decreased rates of embryo implantation and clinical pregnancy with the use of in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 1998;70(5):878-82.
72. Lesny P, Killick SR, Tetlow RL, Robinson J, Maguiness SD. Embryo transfer—can we learn anything new from the observation of junctional zone contractions? *Hum Reprod* 1998;13(6):1540-6.
73. Mansour R, Aboulghar M, Serour G. Dummy embryo transfer: a technique that minimizes the problems of embryo transfer and improves the pregnancy rate in human in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1990;54(4):678-81.

74. Sundstrom P, Wramsby H, Persson PH, Liedholm P. Filled bladder simplifies human embryo transfer. *Br J Obstet Gynaecol* 1984;91(5):506-7.
75. Serhal P, Ranieri DM, Khadum I, Wakim RA. Cervical dilatation with hygroscopic rods prior to ovarian stimulation facilitates embryo transfer. *Hum Reprod* 2003;18(12):2618-20.
76. Guerif F, Bidault R, Gasnier O, Couet ML, Gervereau O, Lansac J, et al. Efficacy of blastocyst transfer after implantation failure. *Reprod Biomed Online* 2004;9(6):630-6.
77. Surrey ES, Schoolcraft WB. Evaluating strategies for improving ovarian response of the poor responder undergoing assisted reproductive techniques. *Fertil Steril* 2000;73(4):667-76.
78. Tremellen K, Russell P. Adenomyosis is a potential cause of recurrent implantation failure during IVF treatment. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2011;51(3):280-3.
79. Shokeir T, Abdelsheeh M. Sonohysterography as a first-line evaluation for uterine abnormalities in women with recurrent failed in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 2009;91(4 Suppl):1321-2.
80. Makrakis E, Pantos K. The outcomes of hysteroscopy in women with implantation failures after in-vitro fertilization: findings and effect on subsequent pregnancy rates. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2010;22(4):339-43.
81. Demiroglu A, Gurgan T. Effect of treatment of intrauterine pathologies with office hysteroscopy in patients with recurrent IVF failure. *Reprod Biomed Online* 2004;8(5):590-4.
82. Ban-Franjez H, Tomazevic T, Virant-Klun I, Verdenik I, Ribic-Pucej M, Bokal EV. The outcome of singleton pregnancies after IVF/ICSI in women before and after hysteroscopic resection of a uterine septum compared to normal controls. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009;146(2):184-7.
83. Ozgur K, Isikoglu M, Donmez L, Oehninger S. Is hysteroscopic correction of an incomplete uterine septum justified prior to IVF? *Reprod Biomed Online* 2007;14(3):335-40.
84. Yu D, Wong YM, Cheong Y, Xia E, Li TC. Asherman syndrome--one century later. *Fertil Steril* 2008;89(4):759-79.
85. Raziel A, Schachter M, Strassburger D, Bern O, Ron-El R, Friedler S. Favorable influence of local injury to the endometrium in intracytoplasmic sperm injection patients with high-order implantation failure. *Fertil Steril* 2007;87(1):198-201.
86. Würfel W, Santjohanser C, Hirv K, Bühl M, Meri O, Laubert I, et al. High pregnancy rates with administration of granulocyte colony-stimulating factor in ART-patients with repetitive implantation failure and lacking killer-cell immunoglobulin-like receptors. *Hum Reprod* 2010;25(8):2151-2.
87. Gnainsky Y, Granot I, Aldo PB, Barash A, Or Y, Schechtman E, et al. Local injury of the endometrium induces an inflammatory response that promotes successful implantation. *Fertil Steril* 2010;94(6):2030-6.
88. Qublan H, Amarin Z, Al-Qudah M, Diab F, Nawasreh M, Malkawi S, et al. Luteal phase support with GnRH-a improves implantation and pregnancy rates in IVF cycles with endometrium of ≤ 7 mm on day of egg retrieval. *Hum Fertil (Camb)* 2008;11(1):43-7.
89. Sallam HN, Garcia-Velasco JA, Dias S, Arici A. Long-term pituitary down-regulation before in vitro fertilization (IVF) for women with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2006(1):CD004635.
90. Garcia-Velasco JA, Mahutte NG, Corona J, Zuniga V, Giles J, Arici A, et al. Removal of endometriomas before in vitro fertilization does not improve fertility outcomes: a matched, case-control study. *Fertil Steril* 2004;81(5):1194-7.
91. Barash A, Dekel N, Fieldust S, Segal I, Schechtman E, Granot I. Local injury to the endometrium doubles the incidence of successful pregnancies in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2003;79(6):1317-22.
92. Narvekar SA, Gupta N, Shetty N, Kottur A, Srinivas M, Rao KA. Does local endometrial injury in the nontransfer cycle improve the IVF-ET outcome in the subsequent cycle in patients with previous unsuccessful IVF? A randomized controlled pilot study. *J Hum Reprod Sci* 2010;3(1):15-9.
93. Nastro CO, Lensen SF, Gibreel A, Raine-Fenning N, Ferriani RA, Bhattacharya S, et al. Endometrial injury in women undergoing assisted reproductive techniques. *Cochrane Database Syst Rev* 2015;3:CD009517.
94. Ruiz-Alonso M, Blesa D, Diaz-Gimeno P, Gomez E, Fernandez-Sanchez M, Carranza F, et al. The endometrial receptivity array for diagnosis and personalized embryo transfer as a treatment for patients with repeated implantation failure. *Fertil Steril* 2013;100(3):818-24.
95. Diaz-Gimeno P, Ruiz-Alonso M, Blesa D, Bosch N, Martinez-Conejero JA, Alama P, et al. The accuracy and reproducibility of the endometrial receptivity array is superior to histology as a diagnostic method for endometrial receptivity. *Fertil Steril* 2013;99(2):508-17.
96. Canis M, Mage G, Pouly JL, Manhes H, Wattiez A, Bruhat MA. Laparoscopic distal tuboplasty: report of 87 cases and a 4-year experience. *Fertil Steril* 1991;56(4):616-21.
97. Nardo LG, El-Toukhy T, Stewart J, Balen AH, Potdar N. British Fertility Society Policy and Practice Committee: Adjuvants in IVF: Evidence for good clinical practice. *Hum Fertil (Camb)* 2015;18(1):2-15.
98. Li J, Chen Y, Liu C, Hu Y, Li L. Intravenous immunoglobulin treatment for repeated IVF/ICSI failure and unexplained infertility: a systematic review and a meta-analysis. *Am J Reprod Immunol* 2013;70(6):434-47.
99. Polanski LT, Barbosa MA, Martins WP, Baumgarten MN, Campbell B, Brosens J, et al. Interventions to improve reproductive outcomes in women with elevated natural killer cells undergoing assisted reproduction techniques: a systematic review of literature. *Hum Reprod* 2014;29(1):65-75.