

Dondurulmuş-Çözünmüş Embriyo Transfer Sikluslarında Oral ve Transdermal Östrojen Desteğinin Gebelik Sonuçları Üzerine Etkisi

Uğur KESKİN (*), Beril YÜKSEL (**), Cihangir Mutlu ERCAN (*), Mustafa ULUBAY (*), Ulaş FİDAN (*), Cem KORKMAZ (*), Seyit Temel CEYHAN (*), Ali ERGÜN (*)

ÖZET

Frozen embriyo transferi (FET) sırasında başarıyı etkileyen en önemli faktörlerden biri endometrium'un yapay olarak hazırlanmasıdır. Yeterli endometriyal hazırlık amacı ile farklı doz ve yollarda östrojen desteği kullanılmıştır. Çalışmamızın amacı, FET uygulanan hastalarda endometrium hazırlığı için verilen östrojen şeklinin (Oral veya transdermal) gebelik başarısı üzerine etkilerini incelemektir. Çalışmaya retrospektif olarak FET uygulanmış 64 hasta dâhil edildi. Hastalar kullanılan östrojen desteğine göre 2 gruba ayrıldı (Grup 1 (n:30): Oral östrojen desteği alanlar; Grup 2 (n:34): Transdermal östrojen desteği alanlar). Çalışmanın primer amacı, gruplar arasında gebelik ve canlı doğum oranının karşılaştırılması idi. Grup 1'de ortalama yaş $30,26 \pm 3,43$ iken, grup 2'de $30,50 \pm 5,02$ idi (p:0,819). Grup 1'de transfer edilen embriyo sayısı $1,36 \pm 0,55$ iken, grup 2'de $1,47 \pm 0,61$ olarak saptandı (p:0,496). Grup 1'de gebelik oranı % 53,3 (n: 16/30) iken, grup 2'de % 47,1 (n:16/34) idi. (p:0,616) Grup 1'de canlı doğum oranı % 40,0 (12/30) iken, grup 2'de % 26,5 (9/34) olmuştur (p: 0,250). Sonuç olarak, FET uygulaması sırasında endometriyal hazırlık amacı ile östrojenin oral veya transdermal yolla uygulamasının, gebelik ve canlı doğum üzerinde anlamlı etkisi bulunmamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Frozen embriyo transferi; Östrojen; Endometriyal hazırlık.

SUMMARY

The effect of oral and transdermal estrogen supplementation on frozen-thawed embryo transfer pregnancy outcomes

The artificial preparation of endometrium is one of the most important steps in effecting the outcome of frozen-thawed embryo transfer cycles. Estrogen supplementation has been used in different doses and routes for the sufficient endometrial preparation. The aim of this study was to, find out the effect of estrogen administration either orally vs transdermally on pregnancy outcomes. Sixty-four patients were included in this retrospective study. The patients were divided into two groups according to their estrogen administration (Group 1 (n:30): Estrogen supplemented via orally; group 2 (n:34): Estrogen supplemented via transdermally). The primary outcome of this study was to compare the pregnancy and live birth rates of these two groups. The mean ages of the study groups were, $30,26 \pm 3,43$, and $30,50 \pm 5,02$ in group 1 and 2, respectively (p:0,819). The mean number of embryo transfers were recorded as; $1,36 \pm 0,55$ and $1,47 \pm 0,61$ in group 1 and 2, respectively (p:0,496). The pregnancy rates were 53,3% (n: 16/30) in group 1 and 47,1% (n:16/34) in group 2 (p:0,616). The live birth rates were 40,0% (12/30) in group 1 and 26,5% (9/34) in group 2 (p: 0,250). In conclusion, the endometrial preparation with either oral or transdermal estrogen preparations do not have any significant effect on pregnancy outcomes in frozen-thawed embryo transfer cycles.

Key Words: Frozen embryo transfer; Estrogen; Endometrial preparation;

Giriş

Embriyo kriyoprezervasyonu, (Yardımla Üreme Teknikleri) YÜT' nin kullanımının yaygınlaşması ile potansiyel fertilitate prezervasyonu için önemli bir alternatif oluşturmuştur (1). Embriyo kriyoprezervasyonu ile multiple embriyonun transfer ihtiyacı azalmış olup, aynı zamanda birden fazla embriyonun depolanmasına olanak sağlamıştır (2).

Frozen embriyo transferi (FET) ile elde edilen gebelik oranları, taze embriyo transferleri ile elde edilen gebelik oranlarına göre daha düşük orandadır. Bununla birlikte FET'nin kümülatif gebelik oranlarının daha yüksek olması, tekrarlayan siklus sayıları göz önünde bulundurulduğunda maliyet etkin olması, normal sıklusa göre rölaf olarak daha basit şekilde uygulanması ve daha kısa zaman periyodu gereksinimi nedeniyle önemli bir fertilitate prezervasyon seçeneği oluşturmaktadır. Embriyo kriyoprezervasyonu uygulanmış olan hastalarda, dondurulmuş embriyonun çözündürülmesi ve transfer edilmesi sırasında gebelik başarısı üzerine etkisi olan birçok faktör ön sürülmektedir.

Taze ET sonrası gebelik başarısı sağlamadığı durumlarda, FET uygulaması bir avantaj ve alternatif oluşturmaktadır. FET uygulaması sırasında başarıyı etkileyen en önemli basamaklardan birisi de endometriumun hazırlanmasıdır. Oosit donasyonu ile gebelik planlanan hastalardaki protokole benzer şekilde FET uygulanacak hastalarda da, endometrium östrojen ve progesteron uygulaması ile hazırlanmaktadır. Spontan ovulasyon olasılığının önüne geçebilmek için bu hastalarda sıklıkla GnRH agonistleri kullanılmaktadır. GnRH agonistlerinin ovarian fonksiyonlardaki baskılayıcı özelliğinden dolayı sıklıkla östrojen ile birlikte kullanılmaktadır. Yeterli endometriyal hazırlık amacı ile farklı doz ve yollarda östrojen desteği kullanılabilir. Fakat endometriyal reseptiviteyi maksimum düzeye getirmek için en iyi endometriyal hazırlık protokolü ile ilişkili elde net bir veri bulunmamaktadır.

Bizim çalışmamızın amacı, farklı günlerde FET uygulanan hastalarda endometrium hazırlığı için verilen östrojen şeklinin (Oral veya transdermal) gebelik başarısı üzerine etkilerini incelemektir.

Gereç ve yöntem

Çalışmada GATA Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, YÜT ünitesinde 2011-2013 yılları arasında FET uygulanmış olan hastaların verileri retrospektif olarak incelendi. Çalışma öncesi GATA Etik kurulundan etik kurul onayı alındı.

Çalışmaya retrospektif olarak FET uygulanmış 64 hasta dahil edildi. Hastalar kullanılan östrojen desteğine göre 2 gru-

* Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD.

**Dumlupınar Üniversitesi, Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD.

Ayrı basım isteği: Dr. Uğur KESKİN
GATA Kadın Hastalıkları ve Doğum AD.
Etlik/Ankara
e-posta: ukeskin@gata.edu.tr

Makalenin Geliş Tarihi: 06.03.2014 • Kabul Tarihi: 02.07.2014 • Çevrim İçi Basım Tarihi: 25.10.2015

ba ayrıldı (Grup 1:Oral östrojen desteği alanlar (n:30); Grup 2:Transdermal östrojen desteği alanlar (n:34)). Hastalar ayrıca embriyo transfer gününe göre de 3 alt gruba (3ncü-4 ncü- 5nci günler) ayrıldı.

Hastaların mevcut verilerine göre yaş, ET sayıları, gebelik ve canlı doğum oranları karşılaştırıldı. Yaş belirlemesi ET tarihindeki hasta yaşı olarak kabul edildi. Gebelik tanısı ET sonrası β -HCG' nin pozitif saptanması olarak kabul edildi.

Oral östrojen uygulama protokolü: Oral estradiol uygulamasına adet 1 nci günü 2 mg x 3 /gün dozu (Estrafem 2 mg 28 tb, Nova NorDisk; Danimarka) ile başlandı. 4 ncü gün kan östradiol düzeyine bakıldı. Östradiol düzeyi 180 pg/ml nin üzerinde ise doza aynı şekilde devam edildi. Östradiol düzeyi 180 pg/ml nin altında ise östradiol dozu 2 mg daha artırıldı. 650 pg/ml nin üzerinde ise günlük östradiol dozu 2 mg azaltıldı. Gebelik oluşun (β -HCG pozitifliği) olgular 2 hafta süre ile uygulamaya devam edildi.

Transdermal östrojen uygulama protokolü: Transdermal estradiol uygulamasına adet 1 nci günü 7.6 mg transdermal östradiol flaster sistem (Estraderm 100 TTS 8 flaster; Novartis; İsviçre) kullanılarak başlandı. 3 günde 1 transdermal flaster sistemi yenilendi. Embryo transferi sonrası, 12. gün β -HCG tayini ile gebelik oluştuğu saptanılan (β -HCG pozitifliği) olgular 2 hafta süre ile östrojen uygulamaya devam edildi.

Çalışmanın primer amacı olan gruplar arasındaki gebelik ve canlı doğum oranları karşılaştırıldı. İstatistiksel analiz için SPSS for Windows 15.0 versiyonu kullanıldı. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu için Kolmogorov Smirnov testi kullanıldı. Sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında, veriler normal dağılıma uymadığı için (Yaş ve ET sayısı) Mann Whitney-U testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında (Gebelik oranı ve canlı doğum oranları) Ki-Kare testi kullanıldı. Veriler uygun olduğu yerde, median (min-max), ortalama $\pm$ standart sapma, sayı ve yüzde olarak verildi. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Her iki grup arasında, yaş ($p:0,819$), transfer edilen embriyo sayısı ($p:0,496$), gebelik oranları ($p:0,616$) ve canlı doğum oranları ($p: 0,250$) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 1).

Tablo 1. Frozen Embriyo Transferi uygulanan hastalarda endometrial hazırlık için oral ve transdermal östrojen desteğinin gebelik başarısı üzerine etkisi

Parametreler	Oral (n:30)		Transdermal (n:34)		P
	Ortalama	SS	Ortalama	SS	
Yaş (yıl)	30,26	3,43	30,50	5,02	0,819
ET sayısı (n)	1,36	0,55	1,47	0,61	0,496
Gebelik (%)	16/30 (% 53,3)		16/34 (% 47,1)		0,616
Canlı Doğum (%)	12/30 (% 40,0)		9/34 (% 26,5)		0,250

Çalışmamızda hastalar embriyo transfer günlerine göre ayrıca alt gruplar altında değerlendirildi. 3ncü, 4ncü ve 5 nci gün transfer yapılmış olan hastaların östrojen destek tipine göre demografik ve klinik bilgileri ile gebelik ve canlı doğum oranları Tablo 2' de özetlenmiştir.

Üçüncü gün FET uygulanan toplam 10 hasta mevcut olup, bunlardan 2' sine oral ve 8' ine transdermal östrojen desteği

uygulanmıştır. Bu hastaların demografik ve siklus özellikleri incelendiğinde, yaşları ($p: 0.791$) ve transfer edilen embriyo sayıları ($p:0.134$) açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Bu grupta gebelik ve canlı doğum oranları incelendiğinde, oral östrojen desteği sağlanan grupta gebelik ve canlı doğum gözlenmez iken (0/2), transdermal östrojen desteği uygulanan hastalarda, % 37.5 (3/8) oranında gebelik ve canlı doğum saptanmıştır. Oral östrojen desteği uygulanan hasta grubunun hasta sayısının yetersiz olması nedeni ile gebelik ($p: 0.301$) ve canlı doğum oranları ($p: 0.301$) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 2).

Dördüncü gün FET uygulanan toplam 14 hasta mevcut olup, bunlardan 9' una oral ve 5' ine transdermal östrojen desteği verilmiştir. Bu hastaların demografik ve siklus özellikleri incelendiğinde, yaşları ($p: 0.349$) ve transfer edilen embriyo sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ($p:0.456$). 4 ncü gün FET uygulanan hastalarda gebelik oranları incelendiğinde, oral östrojen desteği sağlanan grupta gebelik oranı % 55.6 (5/9) iken, transdermal östrojen desteği alan grupta % 40 (2/5) olarak saptanmıştır. Yine 4 ncü gün FET uygulanan hastalarda canlı doğum oranları analiz edildiğinde, oral östrojen desteği sağlanan grupta canlı doğum oranı % 55.6 (5/9) iken, transdermal östrojen desteği alan grupta canlı doğum (0/5) izlenmemiştir. Dördüncü gün FET uygulanan hastalarda oral östrojen desteğinin transdermal uygulamaya göre gebelik başarısı açısından üstünlüğü saptanmaz iken ($p: 0.501$), canlı doğum oranları açısından daha anlamlı olduğu ortaya konmuştur ($p: 0.038$), ancak bu durum klinik olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 2).

Beşinci gün FET uygulanan toplam 40 hasta mevcut olup, bunlardan 19' una oral ve 21' ine transdermal östrojen desteği verilmiştir. Bu hastaların demografik ve siklus özellikleri incelendiğinde, yaşları ($p: 0.634$) ve transfer edilen embriyo sayıları ($p:0.319$) açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Bu grupta gebelik oranları incelendiğinde, oral östrojen desteği sağlanan grupta gebelik oranı % 57.9 iken (11/19), transdermal östrojen desteği uygulanan hastalarda % 52.4 idi. (11/21). Sonuçlar canlı doğum oranları açısından incelendiğinde oral östrojen desteği uygulanan hastalarda canlı doğum oranı % 36.8 (7/19) iken, transdermal östrojen uygulanan hastalarda % 28.6 (6/21) olarak saptandı. 2 grup arasında gebelik oranları ($p: 0.726$) ve canlı doğum oranları ($p:0.577$) açısından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 2).

Tartışma

Frozen embriyo transferinde başarıyı etkileyen birçok faktör bulunmaktadır (3). Bunlar arasında önemli faktörler birisi de, endometrial hazırlık ile yeterli endometrial kalınlık ve reseptiviteye ulaşılabilir. Frozen embriyo transfer protokollerinde endometrial maturasyon ve embriyonal gelişim arasında senkronizasyonun sağlanması önemli bir basamaktır (4). Bu tür senkronizasyon spontan ovulasyonu takiben doğal siklusla başarılabileceği gibi (doğal siklus frozen ET), dışarıdan verilen steroidler ile endometriyumun yapay olarak hazırlanması ile (Artifisyel siklus Frozen ET) oluşturulabilir (4-6).

Dondurulmuş-çözünmüş embriyo transferi uygulanan kadınlarda artifisyel olarak endometriyum hazırlanmasındaki amaç, östrojen ve progesteronun sekansiyel olarak verilmesi ile doğal siklus takine benzer şekilde endometriyum gelişiminin

stimülasyonudur. Hormon replasmanı, fonksiyonel overi olan hastalarda amenoreik- anovulatuvar hastalardan farklılık göstermektedir. Normal ovarian fonksiyona sahip olan kadınlarda

spontan ovulasyon endometriyal hücrelerde desidualizasyona neden olmaktadır (7). Bu olasılık nedeniyle, GnRH agonistleri gibi ovarian fonksiyonları süprese eden ilaçlar sıklıkla östrojen ile birlikte kullanılmaktadır.

Tablo 2. Transfer günlerine göre Frozen Embriyo Transferi uygulanan hastalarda endometriyal hazırlık için oral ve transdermal östrojen desteğinin gebelik başarısı üzerine etkisi

Parametreler	Oral (n:2)		Transdermal (n:8)		P
3ncü Gün					
	Ortalama	SS	Ortalama	SS	
Yaş (yıl)	30,5	7,77	29,5	6,61	0,791
ET sayısı (n)	2,0	0,0	1,37	0,51	0,134
Gebelik (%)	0/2 (% 0)		3/8 (% 37,5)		0,301
Canlı Doğum (%)	0/2 (% 0)		3/8 (% 37,5)		0,301
4ncü Gün					
	Oral (n:9)		Transdermal (n:5)		
Yaş (yıl)	30,0	2,78	28,4	2,88	0,349
ET sayısı (n)	1,11	0,33	1,0	0,0	0,456
Gebelik (%)	5/9 (% 55,6)		2/5 (% 40)		0,501
Canlı Doğum (%)	5/9 (% 55,6)		0/5 (% 0)		0,038
5nci Gün					
	Oral (n:19)		Transdermal (n:21)		
Yaş (yıl)	30,36	3,48	31,38	4,73	0,634
ET sayısı (n)	1,42	0,60	1,61	0,66	0,319
Gebelik (%)	11/19 (% 57,9)		11/21 (% 52,4)		0,726
Canlı Doğum (%)	7/19 (% 36,8)		6/21 (% 28,6)		0,577

SS: Standart Sapma, ET: Embriyo Transferi

Endometriyal hazırlık için en popüler kullanım, spontan ovulasyondan korunmak için GnRH analogları ile pitüiter down regülasyon sağlanması sonrasında ekzojen östrojen ve progesteron ile endometriyumun hazırlanmasıdır.

Endometriyal kalınlık, embriyo transferinde prognostik faktör ve endometriyal reseptivitenin bir belirteci olarak kullanılmaktadır (8). Endometriyal kalınlığın 8 mm'nin altında olduğu durumlarda gebelik başarı şansı düşmektedir (9-12). Endometriyal gelişimin yeterli olmadığı durumda bunu başarabilmek için östrojen desteği sağlamak gereklidir.

Artifisyonel siklus frozen ET için farklı bazı protokoller öne sürülmüştür. Çalışmaların çoğunluğunda oral östrojen desteği (Oral mikronize estradiol) 4-6 mg/gün dozunda kullanılmıştır. Transdermal estradiol patch kullanan çalışma sayısı sınırlıdır. Bizim bilgilerimize göre, endometriyal hazırlık amacı ile oral ve transdermal östrojen desteğini karşılaştıran yalnız bir çalışma mevcuttur (13). İki farklı çalışmada östrojen seviyeleri ve endometriyal kalınlıkları karşılaştırıldığında, tedavi rejimleri arasında düşük bir farklılık bulunmuştur (14-15). Hem östrojen seviyeleri hem de endometriyal kalınlıklar her iki tedavi rejminde karşılaştırılabilir düzeydedir. Östrojenin başlama zamanı yapılan çalışmalar arasında farklılıklar göstermekle birlikte, çalışmaların tamamına siklusun 4 ncü gününden önce başlanmıştır (15). Uygun zamanda başlanılan östrojen desteği, istenmeyen folliküler gelişim ve ovulasyonu önlemektedir. Çalışmaların çoğunluğunda folliküler gelişim bozukluğuna bağlı iptal oranları belirtilmediği için östrojenin başlangıç günü etkisini,

analiz etmek mümkün olamamıştır (13).

Endometriyal hazırlık amacı ile östrojen kullanımı farklı veriliş yolları ile uygulanabilir (Oral veya transdermal). Özellikle oral yolla kullanılan östrojenden farklı olarak transdermal östrojen kullanımı, karaciğerde metabolize edilmediği için estron'a konversiyon azalmakta ve dolayısı ile endometriyum üzerindeki etkisinin arttığı düşünülmektedir (16). Yapılan çalışmalar göstermektedir ki, östrojen kullanımı endometriyal patern ve subendometriyal kan akımı üzerinde etki göstermektedir (17).

Prato L.D. ve ark. tedavi öncesi GnRH agonisti kullanılan ve kullanılmayan hastalardaki transdermal östrojen kullanımını araştırmışlardır. GnRH agonisti kullanılmaksızın ekzojen östrojen ile endometriyal hazırlık, frozen embriyo transferinde başarı şansını azaltmamaktadır (18).

Bizim çalışmamızın en önemli kısıtlılığı, retrospektif olarak dizayn edilmiş olmasıdır. Diğer yandan hasta sayısının düşük oluşu ve östrojen desteği ile ilgili randomizasyon yapılmamış olması kısıtlayıcı unsurlar olarak görülebilir.

Sonuç olarak, frozen embriyo transferi uygulaması sırasında endometriyal hazırlık amacı ile östrojenin oral veya transdermal yolla uygulamanın, gebelik ve canlı doğum sonuçları üzerinde anlamlı etkisi bulunmamıştır. Ayrıca araştırmamızda embriyo transfer günlerinin farklı olmasının da başarı şansı üzerine herhangi etkisi gösterilememiştir.

Kaynaklar

1. Lobo R. Current Concepts: Potential Options for Preservation of Fertility in Women. *N Engl J Med* 2005;353:64–73.
2. Bankowsky B, Lysterly A, Faden R, Wallach E. The social implication of embryo cryopreservation. *Fertil Steril* 2005;84:23–32.
3. Veleva Z, Orava M, Nuojua-Huttunen S, Tapanainen JS, Martikainen H. Factors affecting the outcome of frozen-thawed embryo transfer. *Hum Reprod*. 2013. Sep;28(9):2425–31.
4. Cohen J, DeVane GW, Elsner CW, Kort HI, Massey JB, Norbury SE. Cryopreserved zygotes and embryos and endocrinologic factors in the replacement cycle. *Fertil Steril* 1988;50:61–7.
5. Muasher SJ, Kruithoff C, Simonetti S, Oehninger S, Acosta AA, Jones GS. Controlled preparation of the endometrium with exogenous steroids for the transfer of frozen-thawed pre-embryos in patients with anovulatory or irregular cycles. *Hum Reprod* 1991;6:443–5.
6. Schmidt CL, de Ziegler D, Gagliardi CL, Mellon RW, Taney FH, Kuhar MJ, et al. Transfer of cryopreserved-thawed embryos: the natural cycle versus controlled preparation of the endometrium with gonadotropin-releasing hormone agonist and exogenous estradiol and progesterone (GEEP). *Fertil Steril* 1989;52:609–16.
7. Devroey P, Pados G. Preparation of endometrium for egg donation. *Human Reproduction Update* 1998;4(6):856–61.
8. Jimenez PT, Schon SB, Odem RR, Ratts VS, Jungheim ES. A retrospective of inadequate endometrial thickness in frozen embryo transfer cycles. *Reprod Biol Endocrinol*. 2013 May 10;11:35.
9. Abdalla HI, Brooks AA, Johnson MR, Kirkland A, Thomas A, Studd JW. Endometrial thickness: a predictor of implantation in ovum recipients? *Hum Reprod*. 1994;11:363–365.
10. Basir GS, Basir GS, O WS, So WW, Ng EH, Ho PC. Evaluation of cycle-to-cycle variation of endometrial responsiveness using transvaginal sonography in women undergoing assisted reproduction. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2002;11:484–489.
11. Dessolle L, Darai E, Cornet D, Rouzier R, Coutant C, Mandelbaum J, Antoine JM. Determinants of pregnancy rate in the donor oocyte model: a multivariate analysis of 450 frozen-thawed embryo transfers. *Hum Reprod*. 2009;11:3082–3089.
12. Gonen Y, Casper RF, Jacobson W, Blankier J. Endometrial thickness and growth during ovarian stimulation: a possible predictor of implantation in in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1989;11:446–450.
13. 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. Sep-Oct;19(5):458–70.
14. Hancke K, More S, Kreienberg R, Weiss JM. Patients undergoing frozen-thawed embryo transfer have similar live birth rates in spontaneous and artificial cycles. *J Assist Reprod Genet*. 2012 May;29(5):403–7.
15. Tomás C, Alsbjerg B, Martikainen H, Humaidan P. Pregnancy loss after frozen-embryo transfer—a comparison of three protocols. *Fertil Steril*. 2012 Nov;98(5):1165–9.
16. Paulson RJ. Hormonal induction of endometrial receptivity. *Fertil Steril*. 2011;11:530–535.
17. Singh N, Bahadur A, Mittal S, Malhotra N, Bhatt A. Predictive value of endometrial thickness, pattern and sub-endometrial blood flows on the day of hCG by 2D doppler in in-vitro fertilization cycles: a prospective clinical study from a tertiary care unit. *J Hum Reprod Sci*. 2011;11:29–33.
18. Dal Prato L, Borini A, Cattoli M, Bonu MA, Sciajno R, Flamigni C. Endometrial preparation for frozen-thawed embryo transfer with or without pretreatment with gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertil Steril*. 2002 May;77(5):956–60.