

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

“CAROL DAVILA” BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ

DOMENIUL MEDICINĂ



## REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. BRĂȚILĂ ELVIRA

Student-doctorand:

MIHAI DIANA

2021

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE “CAROL  
DAVILA”, BUCUREȘTI  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
MEDICINĂ**

***RATA DE IMPLANTARE ȘI PROGNOȘTICUL SARCINILOR OBȚINUTE ÎN URMA  
TRANSFERULUI DE EMBRIONI PROASPEȚI VERSUS EMBRIONI  
CRIOPREZERVAȚI***

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

Conducător de doctorat:  
PROF. UNIV. DR. BRĂȚILĂ ELVIRA

Student-doctorand:  
MIHAI DIANA

**2021**

## MULȚUMIRI

Lucrarea de doctorat reflectă munca unei întregi echipe: studentul-doctorand, coordonatorul, echipa medicală din cadrul clinicii unde are loc studiul, membrii comisiei de evaluare și nu în ultimul rând pacientele care au contribuit la realizarea studiului și au păstrat legătura cu investigatorii pe o perioadă de aproximativ 1 an fiecare.

Astfel, în primul rând doresc să îi mulțumesc coordonatorului meu științific, Doamnei Prof. Univ. Dr. Elvira Brătilă pentru încrederea pe care mi-a oferit-o în alegerea temei de doctorat, sprijinul și suportul pe parcursul acestor 4 ani și pentru oportunitatea de a aborda acest subiect într-o manieră personală. Sunt recunoscătoare să am un asemenea mentor, un exemplu excepțional atât profesional cât și sufletește.

Doresc să mulțumesc și colectivului din cadrul secției de Reproducere Umană asistată a Spitalului Clinic de Obstetrică și Ginecologie “Prof. Dr. Panait Sârbu” din București, un departament unit, primitiv și profesionist, ce pune mereu accentul pe sănătatea și îmbunătățirea calității vieții pacientelor.

Nu în ultimul rând, colegii din școala doctorală precum și membrii comisiei de evaluare au tot respectul și grațitudinea mea pentru profesionalism, devotamentul față de cercetarea medicală și pasiunea pentru cunoaștere, ceea ce mi-a oferit inspirație și sprijin.

Familia mea ocupă un loc special pentru reușitele mele, doresc să le mulțumesc pentru sprijinul oferit mereu necondiționat și încrederea pe care mi-au oferit-o întotdeauna.

## Cuprins

<b>LISTA CU LUCRĂRILE ȘTIINȚIFICE PUBLICATE.....</b>	<b>6</b>
<b>LISTA CU ABREVIERI ȘI SIMBOLURI .....</b>	<b>15</b>
<b>INTRODUCERE.....</b>	<b>18</b>
MOTIVAȚIA ALEGERII TEMEI DE CERCETARE .....	18
IMPORTANTA, NOUȚATEA ȘI ACTUALITATEA TEMEI.....	18
ÎNCADRAREA TEMEI ÎN PREOCUPĂRILE INTERNAȚIONALE .....	19
SCOPUL STUDIULUI .....	20
FORMULAREA IPOTEZEI DE CERCETARE .....	21
COMENTARIILE PRIVIND METODA ȘI METODOLOGIA CERCETĂRII .....	21
PREZENTAREA PE SCURT A CONȚINUTULUI LUCRĂRII.....	22
EVIDENȚIEREA CARACTERULUI INTERDISCIPLINAR AL CERCETĂRIILOR EFECTUATE.....	23
LIMITELE CERCETĂRIILOR EFECTUATE ȘI PERSPECTIVELE VIITOARE ALE CERCETĂRII .....	23
<b>I. PARTEA GENERALĂ.....</b>	<b>24</b>
<b>1. PRINCIPIILE DE BAZĂ ALE TEHNICILOR DE REPRODUCERE UMANĂ ASISTATĂ.....</b>	<b>25</b>
1.1. CE ESTE INFERTILITATEA .....	25
1.2. CE REPREZINTĂ REPRODUCEREA UMANĂ ASISTATĂ.....	27
1.3. CE ESTE TEHNICA ”FREEZE-ALL” .....	29
1.4. IMPORTANȚA EMBRIOTRANSFERULUI .....	30
<b>2. AVANTAJELE ȘI DEZAVANTAJELE TRANSFERULUI DE EMBRIONI CRIOPREZERVAȚI VERSUS EMBRIONI PROASPEȚI</b>	<b>31</b>
2.1. INTRODUCERE.....	31
2.2. MATERIALE ȘI METODE.....	31

2.3.	OBIECTIVELE REVIEW-ULUI .....	31
2.4.	REZULTATELE STUDIILOR INTERNAȚIONALE DE SPECIALITATE .....	33
2.5.	CONCLUZII ȘI DIRECȚII DE PERSPECTIVĂ .....	42
<b>II.PARTEA SPECIALĂ .....</b>		<b>43</b>
<b>3. IPOTEZA DE LUCRU ȘI OBIECTIVE GENERALE .....</b>		<b>44</b>
<b>4. METODOLOGIA GENERALĂ A CERCETĂRII .....</b>		<b>47</b>
4.1.	PREZENTAREA GENERALĂ A PROIECTULUI .....	47
4.2.	VARIABLELE ANALIZATE .....	52
4.3.	ANALIZA STATISTICĂ EFECTUATĂ .....	53
<b>5. RATA DE SARCINI BIOCHIMICE DUPĂ EMBRIOTRANSFER: INFLUENȚA VARIABLELOR CLINICE ȘI PARACLINICE .....</b>		<b>55</b>
5.1.	INTRODUCERE.....	55
5.2.	MATERIAL ȘI METODĂ .....	56
5.3.	PROFILUL EPIDEMIOLOGIC AL LOTULUI STUDIAT .....	61
5.4.	REZULTATE .....	65
5.5.	DISCUȚII .....	75
5.6.	CONCLUZII.....	79
<b>6. RATA DE SARCINI CLINICE DUPĂ EMBRIOTRANSFER: INFLUENȚA VARIABLELOR CLINICE ȘI PARACLINICE .....</b>		<b>80</b>
6.1.	INTRODUCERE.....	80
6.2.	MATERIAL ȘI METODĂ .....	81
6.3.	REZULTATE .....	86
6.4.	DISCUȚII .....	91
6.5.	CONCLUZII.....	92
<b>7. RATA DE NOU-NĂSCUȚI VII DUPĂ EMBRIOTRANSFER: INFLUENȚA VARIABLELOR CLINICE ȘI PARACLINICE .....</b>		<b>93</b>

7.1.	INTRODUCERE.....	93
7.2.	MATERIAL ȘI METODĂ .....	94
7.3.	REZULTATE .....	99
7.4.	DISCUȚII .....	106
7.5.	CONCLUZII.....	108
<b>8.</b>	<b>RATA DE SARCINI DUPĂ EMBRIOTRANSFER FRESH VERSUS CRIOPREZERVAT.....</b>	<b>109</b>
8.1.	INTRODUCERE.....	109
8.2.	MATERIAL ȘI METODĂ .....	110
8.3.	REZULTATE .....	116
8.4.	DISCUȚII .....	130
8.5.	CONCLUZII.....	132
<b>9.</b>	<b>RATA DE SARCINI DUPĂ EMBRIOTRANSFER DE ZIUA 3 VERSUS ZIUA 5 PROASPĂT ȘI CRIOPREZERVAT .....</b>	<b>134</b>
9.1.	INTRODUCERE.....	134
9.2.	MATERIAL ȘI METODĂ .....	135
9.3.	REZULTATE .....	140
9.4.	DISCUȚII .....	156
9.5.	CONCLUZII.....	157
<b>10.</b>	<b>CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE .....</b>	<b>159</b>
10.1.	CONCLUZII.....	159
10.2.	DISCUȚII .....	168
10.3.	LIMITELE CERCETĂRILOR EFECTUATE ȘI PERSPECTIVELE VIITOARE ALE CERCETĂRII 168	
10.4.	CONTRIBUȚII PROPRII .....	169
	<b>BIBLIOGRAFIE .....</b>	<b>172</b>
	<b>ANEXE .....</b>	<b>197</b>

## Introducere

Natalitatea a scăzut în majoritatea țărilor , iar mai mult decât atât sporul natural se păstrează negativ în România de câțiva ani. Tehnicile de reproducere umană asistată se dezvoltă rapid, aducând în lumina o nouă perspectivă asupra infertilității de cuplu și noi șanse pentru aceste familii. (1) (2)

Există în momentul de față studii care au concluzionat că rată de sarcini este mai mare în cazul în care după fertilizare se congelează toți embrionii, aceștia urmând a fi transferați în cicluri ulterioare (1) (3) (4) (5) (6) Multiple studii au raportat un prognostic favorabil în cazul transferului de blastocisti congelați din punctul de vedere al ratei de implantare și ratei de nou născuți vii (45.8% vs 64.3% crioprezervati (1) , prognostic favorabil al sarcinii obținute în urmă ET decongelat din punctul de vedere al ratei de avort spontan, ratei de mortalitate perinatală , ratei preeclampsie, ratei de greutate mică la naștere, ratei de naștere prematură și ratei de hemoragie antepartum (1) (7,7,7) (8) (9) (10). Totodată , s-au observat malformații asociate reduse în cazul ET decongelat (11) și incidența scăzută a sindromului de hiperstimulare.

Informațiile prezentate par a încuraja în viitor strategia ”freeze-all”, adică de a recomanda crioprezervarea tuturor embrionilor și transferul acestora ulterior, în alt ciclu decât cel de hiperstimulare ovariană și în plus față de acest aspect, se pare că alegerea de a transfera blastociști față de transferul de embrioni are rezultate superioare (12). Totuși, asociațiile internaționale de reproducere umană asistată recomandă efectuarea de studii suplimentare în acest sens, motiv pentru care vom realiza și noi acest proiect.

Lucrarea de față este structurată în două părți. Prima parte este reprezentată de partea generală și cuprinde o analiză a stadiului actual în care se află tema cercetată, în baza unei analize descriptive a rezultatelor studiilor internaționale, obținute în urma unei documentări laborioase. Am realizat un review al literaturii de specialitate analizând avantajele și dezavantajele transferului de embrion fresh sau congelat, la diverse zile după fertilizare.

Partea a doua, partea de contribuție personală și anume prezentarea cercetării doctorale efectuate. Aceasta include metodologia, rezultatele, discuțiile și concluziile

studiului. Sunt prezentate beneficiile și riscurile utilizării ET fresh sau crioprezervat, în funcție de caracteristicile clinice și paraclinice ale pacientelor, evaluând țara de sarcini biochimice, clinice, rata de nașteri, de avort șamd. Ambele metode s-au demonstrat a fi similare ca și rată de sarcini, dacă sunt utilizate la pacientele potrivite. Totuși, transferul de blastocist congelat a demonstrat mai multe beneficii, analizând pacientele pe diverse categorii de vârstă și incluzând ratele de succes în funcție de numărul de proceduri de embriotransfer necesare pentru atingerea obiectivului, și anume nașterea unui nou-născut sănătos.



# I. PARTEA GENERALĂ

## 1. Principiile de bază ale tehnicilor de reproducere umană asistată

### 1.1. Ce este infertilitatea

Infertilitatea este definită drept lipsa apariției unei sarcini după 1 an de contact sexual neprotejat (dacă pacienta are sub 35 de ani) sau după 6 luni (dacă pacienta are peste 35 de ani).

### 1.2. Ce reprezintă Reproducerea Umană Asistată

Reproducerea umană asistată (RUA) reprezintă orice procedură care are drept scop obținerea unei sarcini și implică manipularea ovocitelor sau a spermatozoizilor in vitro (în afara corpului uman). De asemenea, RUA include și tehnicile speciale de diagnostic preimplanțational, maturarea in vitro a ovocitelor, ecloziunea asistată a ovocitelor (assisted hatching), donarea de gameți, donarea de embrioni, mame surrogat, etc.

### 1.3. Ce este tehnica "freeze-all"

Reprezintă înghețarea tuturor embrionilor rezultați și transferul lor pe rând, în următoarele cicluri, lăsând organismul matern să "se refacă" după hiperstimularea ovariană. Deci, abordarea "freeze-all" constă în 2 pași și poate fi schematizată astfel: în primul ciclu menstrual se pune accentul pe ovare: stimulare ovariană, dezvoltarea foliculilor și a ovocitelor, puncție, recoltarea ovocitelor. În pasul 2, în următorul ciclu, se pune accentul pe uter: dezvoltarea și analiza endometrului, îmbunătățirea și monitorizarea locului unde se va implanta sarcina.

## **1.4. Importanța embriotransferului**

În infertilitate, un eveniment de maximă intensitate emoțională este reprezentat de momentul embriotransferului, transferul embrionului rezultat în uterul mamei. Din păcate însă, în medie, doar 1 din 3 embriotransferuri va ajunge la nașterea unui făt viu (36%).

## **2. Avantajele și dezavantajele transferului de embrioni crioprezervați versus embrioni proaspeți**

### **2.1. Materiale și metode**

În capitolul de față, voi analiza și compara pe baza studiilor de specialitate internaționale existente rata de sarcini, de avorturi, de naștere prematură și rata de nou-născuți vii în urmă embriotransferului fresh și embriotransferului decongelat, evaluând în total 278.000 de nou-născuți.

### **2.2. Obiectivele review-ului**

Scopul capitolului este de a oferi o vedere de ansamblu asupra cunoașterii din prezent și a recomandărilor studiilor internaționale cu privire la metode de îmbunătățire a șanselor de reușită a obținerii unei sarcini în cadrul programelor de fertilizare in vitro, prin îmbunătățirea ratei de implantare după embriotransfer.

### **2.3. Rezultatele studiilor internaționale de specialitate**

#### **2.3.1. Rata de sarcini**

Există în momentul de față studii care au concluzionat că rata de sarcini este mai mare în cazul în care după fertilizare se congelează toți embrionii, aceștia urmând a fi transferați în cicluri ulterioare (RR 1.30 [95% CI]). (1) (3) (4) (5) (6). De asemenea, rata cumulativă de nou-născuți vii în cazul utilizării transferului crioprezervat este mai mare (60.55% vs. 45%).

### **2.3.2. Placentația și complicațiile obstetricale asociate**

Pe lângă numărul de sarcini care pare a fi mai redus în grupul cu embrioni fresh, se pare că medicamentele de hiperstimulare ovariană au afecte și asupra dezvoltării sarcinii, placentația fiind alterată în caz de embriotransfer în același ciclu de stimulare (13) (14) (15). Multiple complicații obstetricale sunt asociate cu acest proces: risc mai redus de a fi fătul mic pentru vârsta gestațională RR: 0.59, risc mai redus de greutate scăzută în sarcină RR: 0.74, risc mai mic de naștere prematură RR: 0.74, însă în același timp s-a observat creșterea riscului de naștere prin operație cezariană RR: 1.10 și a riscului ca fătul să fie mare pentru vârsta gestațională RR: 1.49 (1) (8) (16).

### **2.3.3. Riscul de macrosomie fetală și rata de operații cezariene**

Feții rezultați în urma embriotransferului crioprezervat au riscul de a fi macrosomi (mari pentru vârsta gestațională) RR: 1.49 și de a se naște postermen, iar mamele au o incidență crescută a nașterii prin operație cezariană RR: 1.10 (1) (8) (16).

### **2.3.4. Transferul de embrion sau de blastocist?**

Pentru a analiza dacă rata cumulativă de sarcini și rata de nașteri vii este influențată de transferul intrauterin de embrion aflat în stadiul de clivaj (ziua 2, 3) sau de blastocist (ziua 5, 6) am folosit o meta-analiză Cochrane ce a inclus 27 de studii clinice randomizate, la care au participat 4031 de femei (17) (18) (19). Comparând grupul fresh, rata de nou-născuți vii după blastocist fresh a fost mai mare decât cea după embriotransfer fresh: ( 13 studii clinice randomizate incluzând 1630 de paciente, însă cu rezultate de calitate scăzută (OR) 1.48, CI=95%,  $I^2 = 45\%$ ). Nu s-au observat diferențe privind rata cumulativă de sarcini după o singură puncție ovariană între grupul fresh și cel crioprezervat (5 studii clinice randomizate, incluzând 632 de paciente, OR 0.89, CI=95% ;  $I^2 = 71\%$ , cu rezultate de calitate foarte scăzută). Comparând între ele grupurile cu blastociști, s-a observat o rată de sarcini clinice mai mare în cazul folosirii de blastociști fresh (27 de studii clinice randomizate incluse în meta-analiză, ce au inclus 4031 de paciente, OR 1.30, 95% CI 1.14 to 1.47;  $I^2 = 56\%$ , evidență cu o calitate moderată).

### **2.3.5. Anomaliile fetale congenitale**

Cu privire la riscul de anomalii fetale, se cunoaște faptul că feții obținuți prin tehnici de reproducere umană asistată pot avea din punct de vedere statistic un risc mai mare decât cei din populația cu sarcini obținute spontan de a avea o malformație congenitală. S-a observat însă faptul că, în grupul pacientelor cu sarcină după embriotransfer crioprezervat, riscul de sarcină cu anomalii fetale nu mai este crescut, ci este asemănător cu cel din populația generală [1, 7,12, 13,14] (1) (11) (20) (21) (22).

### **2.3.6. Riscul de sarcină gemelară monozigotică monocorionică după embriotransfer unic fresh sau crioprezervat**

Chiar și după single embryo transfer, reproducerea umană asistată are un risc dublu de a rezulta o sarcină gemelară monozigotică monocorială față de sarcinile spontane. Analiza de regresie logistică a arătat că pacientele sub 35 ani, cu număr mare de ovocite de calitate recuperate și cu număr crescut de embrioni de ziua 3 sau 5 de calitate superioară au ratele de sarcini monozigotice cele mai mari (3.1%), indiferent de utilizarea ICSI sau assisted hatching [ $p < 0.01$ ]. Alte studii au concluzionat că transferul de blastociști este factor de risc în ciclurile fresh (2.6% vs 1.2% embrioni fresh de 3 zile), în timp ce la pacientele peste 35 de ani, vârsta acestora este factor de risc în ciclurile crioprezervate.

### **2.3.7. Riscul de placentă accreta după embriotransfer crioprezervat**

Reproducerea umană asistată prezintă un risc mai mare de patologie placentară față de sarcinile spontane, dar, în plus, recent a fost raportat un risc crescut în urma transferului de embrioni crioprezervați (23). Din acest motiv, am realizat o metanaliză retrospectivă pentru evaluarea corelației dintre transferul de embrioni crioprezervați și decongelați și creșterea riscului de placentă accreta [30] (24). Am observat că prevalența placentei accreta este de 3 ori mai mare după transferul de embrioni crioprezervați decât după transferul de embrioni proaspeți (aOR, 3,2;  $P = 0,03$ ).

### **2.3.8. Implicațiile etice ale crioprezervării embrionilor umani**

Etica privind embrionii umani este un subiect foarte sensibil, deoarece embrionii nu sunt numai țesuturi de transplant, ci au potențialul de a genera viața unei noi ființe umane

(25) (26). Principiile bioeticii trebuie luate în considerare în toate deciziile menționate mai sus: respectarea autonomiei (respectarea capacității persoanei de a alege), non-maleficența (evitarea răului), beneficența (beneficiul unei acțiuni) și justiția (respectarea echitabilă a beneficiilor și a costurilor). Există totodată legi specifice care trebuie respectate în luarea deciziei, legile stipulate de Societățile de Reproducere Umană și Embriologie, Declarația drepturilor omului și diferite Coduri Civile și Penale disponibile, care diferă de la țară și de stat în parte la nivel mondial (27) (28) (29) (30) (31) (32). Convingerile religiei creștine sunt departe de a sprijini acest domeniu controversat și sunt ferm împotriva utilizării embrionilor în studii științifice iar ”adopția” unui embrion este considerată drept ”adulter”.

### **2.3.9. Rata de sarcini după ET proaspăt vs congelat la pacientele cu rezervă ovariană scăzută**

În urma studiilor evaluate putem concluziona că valoarea AMH-ul nu este un factor de risc independent, ci poate fi interpretat în legătură strânsă cu vârsta pacientei. Astfel, în cazul pacientelor sub 35 de ani AMH-ul nu trebuie utilizat ca un predictor singular, deoarece chiar și pacientele cu AMH foarte redus, de sub 0.2ng/mL au obținut o rată cumulativă de sarcini bună. Totuși, vârsta pacientei este cea care influențează negativ semnificativ numărul de sarcini, iar pacientele de peste 40 de ani, cu o un rezultat AMH mai bun, au o o rată de sarcini superioară.

#### **2.3.1. Pacientele cu endometrioza**

Adresarea precoce către specialiștii în ART în vederea stabilirii necesității de utilizare a prezervării fertilității va scade numărul de paciente ce vor deveni infertile. În funcție de vârstă, rezerva ovariană și severitatea endometriozei se poate opta pentru crioprezervarea de țesut ovarian, ovocite sau embrioni. Rata de sarcini este cea mai crescută după prezervarea embrionilor, însă crioprezervarea ovocitelor îi oferă independență pacientei, având în vedere că la vârste tinere probabilitatea de a nu avea încă un partener stabil este ridicată.

### **2.3.2. Concluzii și direcții de perspectivă**

În grupul în care s-a congelat toți embrionii rezultați și au fost transferați ulterior s-a observat atât o rată de nașteri vii cumulativă cât și o rată de sarcini semnificativ mai mari: (FET) față de ET (rata cumulativă de nașteri vii LBR: 60,55% vs. Rata de sarcini PR de 45%, : RR 1,30 cu CI 95%). FET (frozen embryo transfer) este asociat per total cu un risc obstetrical mai redus. Există controverse în ceea ce privește hipertensiunea gestațională, o parte dintre studii arătând că FET are un RR (risc relativ) de 1.29 ori mai mare decât ET, însă semnificația statistică este redusă. Merită precizat însă că FET a fost demonstrat că este incriminat pentru placenta accreta, pacientele cu FET având un risc de 3 ori mai mare decât pacientele cu ET. Ciclurile FET au însă un risc crescut de sarcină gemelară monozigotică monocorială după transferul unui singur embrion în ceea ce privește pacientele sub 35 de ani.

## II. PARTEA SPECIALĂ

### 3. Ipoteza de lucru și obiective generale

Infertilitatea este un subiect important care influențează frecvent viața de cuplu. Este o situație foarte des întâlnită atât la nivel global, cât și în România. Cauzele infertilității sunt diverse, având origine fie feminină, fie masculină ori combinată, precum și de origine psihologică-emoțională.

Întrebările pe care le-am adresat în continuare, și care reprezintă subiectul lucrării actuale, au fost:

1. În ce măsură factorii care determină infertilitate influențează și rata de obținere a sarcinii prin tehnici de reproducere umană asistată? Iar apoi, după studierea acestor rezultate:
2. Cum putem alege, pentru creșterea ratei de nou-născuți vii sănătoși, metoda de embriotransfer (proaspăt sau crioprezervat), în funcție de variabilele care au impact statistic semnificativ asupra obținerii sarcinii?

#### Obiective generale

1. Evaluarea prin analiză statistică a influenței variabilelor clinice și paraclinice asupra eșecului de obținere a sarcinii (biochimice, clinice și nașterea unui făt viu)
2. Evaluarea prin analiză statistică a influenței folosirii tehnicii FIV sau ICSI asupra eșecului de obținere a sarcinii (biochimice, clinice și nașterea unui făt viu)
3. Evaluarea prin analiză statistică a influenței folosirii tehnicii embriotransferului proaspăt sau crioprezervat asupra ratei de obținere a sarcinii (biochimice, clinice și nașterea unui făt viu)
4. Evaluarea prin analiză statistică a influenței folosirii pentru transfer a embrionilor sau blastociștilor asupra ratei de obținere a sarcinii (biochimice, clinice și nașterea unui făt viu).

## 4. Metodologia generală a cercetării

### 4.1. Prezentarea generală a proiectului

Studiul de față este prospectiv, observațional, nerandomizat. Au fost incluse 79 de paciente diagnosticate cu infertilitate, care au urmat tratamente specializate pentru obținerea unei sarcini în cadrul Spitalului Clinic de Obstetrică și Ginecologie „Prof. Dr. Panait Sîrbu”, departamentul de RUA (Reproducere Umană Asistată). Acest eșantion este reprezentativ pentru o populație din România ce urmează tratament pentru infertilitate într-un centru specializat. Studiul s-a desfășurat în perioada **martie 2018 și mai 2020**.

**Am utilizat următoarele criterii de includere:** pacientelor care efectuează tratamente de Reproducere Umană Asistată (RUA) și care au cel puțin un embrion rezultat în urma acestora, care urmează să facă procedura de embriotransfer (proaspăt sau crioconservat) în Spitalul Clinic de Obstetrică și Ginecologie „Prof. Dr. Panait Sîrbu”, care au completat un formular de consimțământ unde își dau acordul includerii în acest studiu și care păstrează legătura cu investigatorul pe parcursul sarcinii și completează chestionarul online pe adresa [www.embriotransfer.ro](http://www.embriotransfer.ro) până la momentul nașterii.

**Am exclus din studiu pacientele** care au refuzat semnarea consimțământului sau care pe parcursul studiului au cerut renunțarea, pacientele cu care s-a pierdut contactul pe parcursul procedurilor efectuate sau lipsa de răspuns a acestora ulterior, după obținerea sarcinii.

În urma criteriilor de includere și excludere, în studiul de față au fost introduse în final datele a **79 de paciente asupra cărora au fost efectuate în total 145 de proceduri de embriotransfer**. Pacientele au completat un chestionar online, iar datele lor au fost prelucrate statistic. Fiind un studiu prospectiv ce a necesitat păstrarea legăturii cu fiecare pacientă pentru **aproximativ 1 an** (perioada de tratamente RUA plus durata sarcinii), din 300 de paciente care au fost inițial de acord cu includerea în studiu doar 79 au păstrat legătura cu investigatorul și au avut datele incluse în analiza statistică.



Pacienta, sub îndrumarea medicului curant și a embriologului, are următoarele opțiuni după obținerea embrionilor: transferul unuia/ mai multor embrioni/ blastociști proaspeți (fresh), congelarea celorlalți și ulterior transferul acestora sau crioprezervarea în totalitate a embrionilor și blastociștilor rezultați și transferul lor în cicluri ulterioare. În funcție de această alegere, pe care studiul nu a influențat-o, pacientele au fost împărțite în două grupuri: grupul cu embriotransfer fresh și grupul cu embriotransfer crioprezervat. Pacientele care au efectuat transfer fresh dar aveau și embrioni crioprezervați, în momentul în care au efectuat un embriotransfer după decongelare, au fost introduse și în grupul de paciente cu transfer de embrioni/ blastociști crioprezervați.

După transfer, cele două grupuri au fost urmărite în paralel, observându-se rata de sarcini biochimice obținute (prin măsurarea BHCG-ului), rata de sarcini clinice obținute (diagnostic ecografic al sarcinii intrauterine, cu bătăi cardiace embrionare prezente), rezultatele testelor de screening sau diagnostic pentru malformații fetale, evoluția sarcinii intrauterin urmărind atât evoluția fătului cât și starea mamei pe perioada sarcinii, iar ultimul punct îl reprezintă evaluarea fătului după naștere, în viața extrauterină.

#### **4.2. Variabilele analizate**

Am urmărit rata de obținere a sarcinii biochimice, clinice, rata de naștere a unui nou-născut viu, rata de avort, rata de sarcini în funcție de tipul de embriotransfer și rata de complicații. Dacă aceeași pacientă a efectuat și procedura ICSI și FIV au fost păstrate doar datele pentru procedura care a avut succes și în urma căreia a rezultat cel puțin un embrion, datele referitoare la procedurile cu eșec fiind eliminate din analiza finală. În ceea ce privește pacientele care au efectuat mai multe proceduri de reproducere umană asistată, însă toate urmate de eșec, au fost păstrate pentru analiză doar datele referitoare doar la o singură procedură aleasă aleator.

Rezultatele au fost cuantificate pe mai multe stadii și anume:

- rata de succes biochimic (rezultat pozitiv al  $\beta$ -HCG-ului după embriotransfer),
- rata de succes clinic (vizualizarea sarcinii intrauterine ecografic)
- rata de succes final prin nașterea unui făt viu.

### 4.3. Analiza statistică efectuată

Pentru analiza statistică am utilizat programul R, versiunea 4.0.2 Copyright (C) 2020 "The R Foundation for Statistical Computing, R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria". URL <https://www.R-project.org>

Am realizat analiză descriptivă uzuală cu o regresie logistică binomială univariată simplă la analiza inferențială, regresie de tip binominal multiplă  
Testul  $\chi^2$  bidirecțional, Fisher exact test, etc.

Diferențele vor fi considerate ca fiind semnificativ statistice la un  $p < 0.05$ .

## 5. Rata de sarcini biochimice după embriotransfer: influența variabilelor clinice și paraclinice

### 5.1. Introducere

Studiul **prospectiv, observațional, nerandomizat**

**Obiectiv:** Stabilirea variabilelor clinice și paraclinice care influențează rata de sarcini după embriotransfer

**Durata:** martie 2018 și mai 2020.

**Număr pacienți:** 79

**Număr de proceduri de embriotransfer:** 145

**Variabile dependente:** succesul fie eșecul obținerii sarcinii biochimice

**Variabile independente:** vârsta, menarha, AMH, antecedentele pacientei, tipul de embriotransfer

**Criterii de includere:** pacientelor care au cel puțin un embrion rezultat în urma RUA, care urmează să facă procedura de embriotransfer (proaspăt sau crioconservat) în Spitalul Clinic de Obstetrică și Ginecologie „Prof. Dr. Panait Sîrbu”, care au completat un formular de consimțământ unde își dau acordul includerii în acest studiu și care păstrează legătura cu investigatorul pe parcursul sarcinii și completează chestionarul online până la momentul nașterii.

**Criterii de excludere:** pacientele care au refuzat semnarea consimțământului sau care pe parcursul studiului au cerut renunțarea, pacientele cu care s-a pierdut contactul pe parcursul procedurilor efectuate sau lipsa de răspuns a acestora ulterior, după obținerea sarcinii.

### 5.2. Material și metodă

Toate pacientele incluse au efectuat cel puțin o procedură de embriotransfer în cadrul Spitalului Clinic de Obstetrică și Ginecologie „Prof. Dr. Panait Sîrbu”, departamentul de RUA (Reproducere Umană Asistată). Cele care au fost de acord cu semnarea consimțământului informat (vezi anexa 35) au completat apoi un chestionar online (vezi anexa 36) ce include întrebări despre vârstă, antecedentele personale și

heredo-colaterale, stil de viață, cauzele infertilității, tratamentele de reproducere umană asistată efectuate în trecut sau în prezent, protocolul de stimulare utilizat pentru a obține embrionul pe care urmează să îl transfere, data și numărul de ovocite rezultate la puncția transvaginală, analizele hormonale dinainte de embriotransfer, tratamentul efectuat până în ziua embriotransferului, tipul de embrion care urmează să fie transferat (de ziua 3 sau 5, proaspăt sau congelat, calitatea acestuia) și date cu privire la partener.

Pacientele au obținut embrionii în urma unui protocol de stimulare ovariană controlată, ce variază în funcție de pacientă și de medical curant și au efectuat puncție ovariană ghidată ecografic. Ovocitele rezultate au fost fertilizate de către embriolog prin tehnica FIV sau ICSI. Embriotransferul s-a realizat fresh sau congelat, în funcție de caracteristicile pacientei și caracteristicile embrionilor rezultați și preferința medicului.

Diagnosticul de sarcină biochimică s-a pus în cazul unei valori pozitive a BHCG după 10 zile de la embriotransfer. Diagnosticul de sarcină clinică s-a pus odată cu vizualizarea ecografică a bătăilor cardiace embrionare. Monitorizarea sarcinii s-a produs conform protocolului obișnuit de urmărire. Modalitatea și momentul nașterii a fost decis de medical curant care a monitorizat sarcina, de majoritatea dăților acesta fiind diferit față de medicul care a efectuat procedura de RUA. Datele pacientelor au fost procesate prin analize statistice variate, ce vor fi prezentate în cele ce urmează.

### **5.3. Profilul epidemiologic al lotului studiat**

Cele 79 de paciente incluse în studiu au între 27 de ani și 47 de ani. Toate pacientele au declarat că nu consumă alcool, 19 paciente au declarat că fumează iar 4 paciente au consumat droguri. Indicele de masă corporală minim este de 16,32, deci avem paciente subponderale, dar totodată sunt prezente și paciente cu obezitate de grad II, cu un indice de masă corporală maxim de 38,56. În ceea ce privește antecedentele de infertilitate, există doar 4 paciente care au răspuns afirmativ, dar observăm o prevalență ridicată a bolilor în familie (62,02%).

Menarha este cuprinsă între 11 și 17 ani, iar 56 de paciente declară că au dismenoree, în timp ce doar 16 femei declară că au dispareunie. În ceea ce privește avorturile în antecedente, aproape jumătate dintre pacientele din acest lot declară că au efectuat avorturi în antecedente (30 de paciente), jumătate dintre acestea fiind la cerere (18), iar 17 spontane. Majoritatea femeilor incluse în studiu (86,08%) nu au avut sarcini

extrauterine în antecedente. Diagnosticul de endometrioză este relativ ridicat, 17 paciente declarând că se știu diagnosticate cu această patologie. Aproape jumătate dintre pacientele incluse au trompele nepermeabile (30 de paciente) în timp ce AMH acestora este cuprins în intervalul 0.10 la 12.50, cu o mediană situată la 2.00.

54 de paciente au efectuat procedura de fertilizare in vitro pentru obținerea embrionilor, în timp ce 24 au efectuat procedura de injectare intracitoplasmatică a spermatozoidului, ICSI.

Ca și rate de succes, dintre cele 79 de paciente 53 au obținut în urma celor 145 de transferuri de embrioni sarcini biochimice, dintre aceste sarcini 46 de sarcini au fost confirmate și ecografic, iar 27 dintre sarcini au rezultat în nașterea unui făt viu.

În continuare, am efectuat un studiu pentru a evalua ce variabile clinice și paraclinice influențează obținerea unei sarcini la pacientele care efectuează tehnici de Reproducere Umană Asistată.

#### **5.4. Rezultate, discuții, concluzii**

Vârsta și menarha sunt singurii factori de risc semnificativi statistici. Vârsta predispune la o rată de eșec de 3,30 ori mai mare pentru a obține o sarcină biochimică (cut-off la 34 ani) ( $p = 0,0210$ ,  $OR = 3,30$ ). O pacientă care a avut menarha înainte de 13 ani (cut-off calculat) are un risc de 4 ori mai mare de eșec la obținerea unei sarcini biochimice ( $p = 0,0126$ ,  $OR = 3,91$ ).

Fumatul, consumul de droguri, indicele de masă corporală (IMC), antecedentele de infertilitate, bolile familiale, avorturi spontane anterioare, avorturi la cerere, existența avorturilor anterioare (indiferent de tip), sarcină ectopică anterioară, dispareunia, dismenoreea, endometrioza sau AMH-ul s-au dovedit că nu sunt factori de risc independenți ce influențează eșecul obținerii sarcinii biochimice, rezultatele nefiind semnificative statistic ( $p > 0,05$ ).

## 6. Rata de sarcini clinice după embriotransfer: influența variabilelor clinice și paraclinice

### 6.1. Introducere

Studiul **prospectiv, observațional, nerandomizat**

**Obiectiv:** Stabilirea variabilelor clinice și paraclinice care influențează rata de sarcini după embriotransfer

**Durata:** martie 2018 și mai 2020.

**Număr paciente:** 79

**Număr de proceduri de embriotransfer:** 145

**Variabile dependente:** succesul fie eșecul obținerii sarcinii clinice

**Variabile independente:** vârsta, menarha, AMH, antecedentele pacientei, tipul de embriotransfer

**Criterii de includere:** pacientelor care au cel puțin un embrion rezultat în urma RUA, care urmează să facă procedura de embriotransfer (proaspăt sau crioconservat) în Spitalul Clinic de Obstetrică și Ginecologie „Prof. Dr. Panait Sîrbu”, care au completat un formular de consimțământ unde își dau acordul includerii în acest studiu și care păstrează legătura cu investigatorul pe parcursul sarcinii și completează chestionarul online până la momentul nașterii.

**Criterii de excludere:** pacientele care au refuzat semnarea consimțământului sau care pe parcursul studiului au cerut renunțarea, pacientele cu care s-a pierdut contactul pe parcursul procedurilor efectuate sau lipsa de răspuns a acestora ulterior, după obținerea sarcinii.

### 6.2. Material și metodă

Toate pacientele incluse au efectuat cel puțin o procedură de embriotransfer în cadrul Spitalului Clinic de Obstetrică și Ginecologie „Prof. Dr. Panait Sîrbu”, departamentul de RUA (Reproducere Umană Asistată). Cele care au fost de acord cu semnarea consimțământului informat (vezi anexa 35) au completat apoi un chestionar

online (vezi anexa 36) ce include întrebări despre vârstă, antecedentele personale și heredo-colaterale, stil de viață, cauzele infertilității, tratamentele de reproducere umană asistată efectuate în trecut sau în prezent, protocolul de stimulare utilizat pentru a obține embrionul pe care urmează să îl transfere, data și numărul de ovocite rezultate la puncția transvaginală, analizele hormonale dinainte de embriotransfer, tratamentul efectuat până în ziua embriotransferului, tipul de embrion care urmează să fie transferat (de ziua 3 sau 5, proaspăt sau congelat, calitatea acestuia) și date cu privire la partener.

Pacientele au obținut embrionii în urma unui protocol de stimulare ovariană controlată, ce variază în funcție de pacientă și de medical curant și au efectuat puncție ovariană ghidată ecografic. Ovocitele rezultate au fost fertilizate de către embriolog prin tehnica FIV sau ICSI. Embriotransferul s-a realizat fresh sau congelat, în funcție de caracteristicile pacientei și caracteristicile embrionilor rezultați și preferința medicului.

Diagnosticul de sarcină biochimică s-a pus în cazul unei valori pozitive a BHCG după 10 zile de la embriotransfer. Diagnosticul de sarcină clinică s-a pus odată cu vizualizarea ecografică a bătăilor cardiace embrionare. Monitorizarea sarcinii s-a produs conform protocolului obișnuit de urmărire. Modalitatea și momentul nașterii a fost decis de medical curant care a monitorizat sarcina, de majoritatea datilor acesta fiind diferit față de medicul care a efectuat procedura de RUA. Datele pacientelor au fost procesate prin analize statistice variate, ce vor fi prezentate în cele ce urmează.

### **6.3. Rezultate, discuții, concluzii**

Am efectuat în continuare analiza statistică a caracteristicilor pacientelor pentru a stabili dacă acestea influențează sau nu obținerea sarcinii clinice intrauterine.

Vârsta și menarha sunt singurii factori de risc semnificativi statistici. Vârsta predispune la o rată de eșec de 3,30 ori mai mare pentru a obține o sarcină (cut-off la 34 ani) ( $p = 0,0210$ ,  $OR = 3,30$ ). O pacientă care a avut menarha înainte de 13 ani (cut-off calculat) are un risc de 4 ori mai mare de eșec la obținerea unei sarcini ( $p = 0,0126$ ,  $OR = 3,91$ ).

Fumatul, consumul de droguri, indicele de masă corporală (IMC), antecedentele de infertilitate, bolile familiale, avorturi spontane anterioare, avorturi la cerere, existența avorturilor anterioare (indiferent de tip), sarcină ectopică anterioară, dispareunia, dismenoreea, endometrioza sau AMH-ul s-au dovedit că nu sunt factori de risc independenți ce influențează eșecul obținerii sarcinii, rezultatele nefiind semnificative statistic ( $p > 0,05$ ).

## 7. Rata de nou-născuți vii după embriotransfer: influența variabilelor clinice și paraclinice

### 7.1. Introducere

Studiul **prospectiv, observațional, nerandomizat**

**Obiectiv:** Stabilirea variabilelor clinice și paraclinice care influențează rata de sarcini după embriotransfer

**Durata:** martie 2018 și mai 2020.

**Număr paciente:** 79

**Număr de proceduri de embriotransfer:** 145

**Variabile dependente:** succesul fie eșecul obținerii de nou-născuți

**Variabile independente:** vârsta, menarha, AMH, antecedentele pacientei, tipul de embriotransfer

**Criterii de includere:** pacientelor care au cel puțin un embrion rezultat în urma RUA, care urmează să facă procedura de embriotransfer (proaspăt sau crioconservat) în Spitalul Clinic de Obstetrică și Ginecologie „Prof. Dr. Panait Sîrbu”, care au completat un formular de consimțământ unde își dau acordul includerii în acest studiu și care păstrează legătura cu investigatorul pe parcursul sarcinii și completează chestionarul online până la momentul nașterii.

**Criterii de excludere:** pacientele care au refuzat semnarea consimțământului sau care pe parcursul studiului au cerut renunțarea, pacientele cu care s-a pierdut contactul pe parcursul procedurilor efectuate sau lipsa de răspuns a acestora ulterior, după obținerea sarcinii.

### 7.2. Material și metodă

Toate pacientele incluse au efectuat cel puțin o procedură de embriotransfer în cadrul Spitalului Clinic de Obstetrică și Ginecologie „Prof. Dr. Panait Sîrbu”, departamentul de RUA (Reproducere Umană Asistată). Cele care au fost de acord cu semnarea consimțământului informat (vezi anexa 35) au completat apoi un chestionar



online (vezi anexa 36) ce include întrebări despre vârstă, antecedentele personale și heredo-colaterale, stil de viață, cauzele infertilității, tratamentele de reproducere umană asistată efectuate în trecut sau în prezent, protocolul de stimulare utilizat pentru a obține embrionul pe care urmează să îl transfere, data și numărul de ovocite rezultate la puncția transvaginală, analizele hormonale dinainte de embriotransfer, tratamentul efectuat până în ziua embriotransferului, tipul de embrion care urmează să fie transferat (de ziua 3 sau 5, proaspăt sau congelat, calitatea acestuia) și date cu privire la partener.

Pacientele au obținut embrionii în urma unui protocol de stimulare ovariană controlată, ce variază în funcție de pacientă și de medical curant și au efectuat puncție ovariană ghidată ecografic. Ovocitele rezultate au fost fertilizate de către embriolog prin tehnica FIV sau ICSI. Embriotransferul s-a realizat fresh sau congelat, în funcție de caracteristicile pacientei și caracteristicile embrionilor rezultați și preferința medicului.

Diagnosticul de sarcină biochimică s-a pus în cazul unei valori pozitive a BHCG după 10 zile de la embriotransfer. Diagnosticul de sarcină clinică s-a pus odată cu vizualizarea ecografică a bătăilor cardiace embrionare. Monitorizarea sarcinii s-a produs conform protocolului obișnuit de urmărire. Modalitatea și momentul nașterii a fost decis de medical curant care a monitorizat sarcina, de majoritatea datilor acesta fiind diferit față de medicul care a efectuat procedura de RUA. Datele pacientelor au fost procesate prin analize statistice variate, ce vor fi prezentate în cele ce urmează.

### **7.3. Rezultate, discuții, concluzii**

Am efectuat în continuare analiza statistică a caracteristicilor pacientelor pentru a stabili dacă acestea au sau nu impact asupra ratei de nou-născuți vii după embriotransfer.

Vârsta și menarha sunt singurii factori de risc semnificativi statistici. Vârsta predispune la o rată de eșec de 3,30 ori mai mare pentru a obține o sarcină (cut-off la 34 ani) ( $p = 0,0210$ ,  $OR = 3,30$ ). O pacientă care a avut menarha înainte de 13 ani (cut-off calculat) are un risc de 4 ori mai mare de eșec la obținerea unei sarcini ( $p = 0,0126$ ,  $OR = 3,91$ ).

Fumatul, consumul de droguri, indicele de masă corporală (IMC), antecedentele de infertilitate, bolile familiale, avorturi spontane anterioare, avorturi la cerere, existența avorturilor anterioare (indiferent de tip), sarcină ectopică anterioară, dispareunia, dismenoreea, endometrioza sau AMH-ul s-au dovedit că nu sunt factori de risc independenți ce influențează eșecul obținerii sarcinii biochimice, rezultatele nefiind semnificative statistic ( $p > 0,05$ ).

Rezultatul privind prezența avorturilor în antecedente arată că există tendința ca pacientele care au avut un avort anterior să aibă un risc de aproape 3 ori mai mare de a nu finaliza sarcina dar acesta este *marginal nesemnificativ* ( $p < 0.10$ , dar  $p > 0,05$ ), deci conform studiului prezent nu există dovezi suficiente.

Rezultatele la dublu test sau morfologii, pacientele cu diabet gestațional sau complicații în sarcină nu influențează nașterea unui făt viu conform studiului nostru.

## 8. Rata de sarcini după embriotransfer fresh versus crioprezervat

### 8.1. Introducere

Studiul **prospectiv, observațional, nerandomizat**

**Obiectiv:** Stabilirea tipului de embriotransfer cu rata superioară de sarcini (**proaspăt sau congelat**)

**Durata:** martie 2018 și mai 2020.

**Număr paciente:** 79

**Număr de proceduri de embriotransfer:** 145

**Variabile dependente:** succesul fie eșecul obținerii sarcinii

**Variabile independente:** embrion proaspăt sau congelat

**Criterii de includere:** pacientelor care au cel puțin un embrion rezultat în urma RUA, care urmează să facă procedura de embriotransfer (proaspăt sau crioconservat) în Spitalul Clinic de Obstetrică și Ginecologie „Prof. Dr. Panait Sîrbu”, care au completat un formular de consimțământ unde își dau acordul includerii în acest studiu și care păstrează legătura cu investigatorul pe parcursul sarcinii și completează chestionarul online până la momentul nașterii.

**Criterii de excludere:** pacientele care au refuzat semnarea consimțământului sau care pe parcursul studiului au cerut renunțarea, pacientele cu care s-a pierdut contactul pe parcursul procedurilor efectuate sau lipsa de răspuns a acestora ulterior, după obținerea sarcinii.

### 8.2. Material și metodă

Toate pacientele incluse au efectuat cel puțin o procedură de embriotransfer în cadrul Spitalului Clinic de Obstetrică și Ginecologie „Prof. Dr. Panait Sîrbu”, departamentul de RUA (Reproducere Umană Asistată). Cele care au fost de acord cu semnarea consimțământului informat (vezi anexa 35) au completat apoi un chestionar online (vezi anexa 36) ce include întrebări despre vârstă, antecedentele personale și

heredo-colaterale, stil de viață, cauzele infertilității, tratamentele de reproducere umană asistată efectuate în trecut sau în prezent, protocolul de stimulare utilizat pentru a obține embrionul pe care urmează să îl transfere, data și numărul de ovocite rezultate la puncția transvaginală, analizele hormonale dinainte de embriotransfer, tratamentul efectuat până în ziua embriotransferului, tipul de embrion care urmează să fie transferat (de ziua 3 sau 5, proaspăt sau congelat, calitatea acestuia) și date cu privire la partener. Pacientele au obținut embrionii în urma unui protocol de stimulare ovariană controlată, ce variază în funcție de pacientă și de medical curant și au efectuat puncție ovariană ghidată ecografic. Ovocitele rezultate au fost fertilizate de către embriolog prin tehnica FIV sau ICSI. Embriotransferul s-a realizat fresh sau congelat, în funcție de caracteristicile pacientei și caracteristicile embrionilor rezultați și preferința medicului.

Diagnosticul de sarcină biochimică s-a pus în cazul unei valori pozitive a BHCG după 10 zile de la embriotransfer. Diagnosticul de sarcină clinică s-a pus odată cu vizualizarea ecografică a bătăilor cardiace embrionare. Monitorizarea sarcinii s-a produs conform protocolului obișnuit de urmărire. Modalitatea și momentul nașterii a fost decis de medical curant care a monitorizat sarcina, de majoritatea dăților acesta fiind diferit față de medicul care a efectuat procedura de RUA. Datele pacientelor au fost procesate prin analize statistice variate, ce vor fi prezentate în cele ce urmează.

### 8.3. Rezultate, discuții, concluzii

În capitolul de față am analizat felul în care utilizarea unui embrion proaspăt (fresh) sau congelat (crioprezervat) influențează rata de sarcini biochimice, rata de nașteri la termen, rata de naștere prematură, rata de avort și modul în care aceste rate sunt influențate de vârsta pacientei în funcție de tipul de embriotransfer efectuat.

Cea mai mare rată de succes de sarcină biochimică a fost de 47.62% și a apărut în cazul utilizării **embrionului proaspăt de ziua 3**, următoarea fiind de 46.07% al **blastocistului congelat de ziua 5**, apoi blastocistul proaspăt de ziua 5 - 43.48%, embriotransferul cu embrion congelat de ziua 3 – 30%.

Cea mai bună **rată de succes a nașterii unui făt viu**, a fost în cazul utilizării **blastocistului congelat de ziua 5** - 21.62% , 15.38% : embriotransferul cu **embrion de ziua 3 de tip congelat** și **blastocistul de ziua 5 de tip proaspăt**, embriotransferul cu

embrion proaspăt de ziua 3 a condus la o singură naștere (4.76%) (deși la studiul anterior acest tip de embrion a avut rata cea mai mare de sarcini biochimice).

Cea mai mică **rată de naștere prematură** (0%) a fost înregistrată în cazul **blastocitului proaspăt de ziua 5** și în cazul **embrionului congelat de ziua 3**, ambele proceduri obținând doar nou-născuți la termen, apoi 7.41% **blastocistul de ziua 5 congelat**, iar un rezultat interesant (rata 100%) a fost în cazul **embrionului proaspăt de ziua 3**, nou-născutul unic fiind prematur (deși la studiul anterior acest tip de embrion a avut rata cea mai mare de sarcini biochimice).

Rata cea mai mare de **avort** (aproximativ 80%) a apărut la **embriotransferul de tip embrion proaspăt de ziua 3**, apoi 37.14% la **blastocistul congelat de ziua 5**, pe când embriotransferul cu **blastocist proaspăt de ziua 5 și cel cu embriotransfer congelat de ziua 3** au cele mai mici rate de avort 33,33%.

Luând în considerare greutatea medie la naștere a diferitelor tipuri de embriotransfer, se observă că valoarea cea mai mare este înregistrată în cazul **blastocistului proaspăt de ziua 5**, având o valoare de 3420 grame. Următoarea valoare este atinsă de **embrionul congelat de ziua 3** și apoi de **blastocistul congelat de ziua 5**. Cea mai mică valoare a greutății, de doar 1000 grame a apărut în cazul embriotransferului realizat cu embrion proaspăt de ziua 3. **Se infirmă în studiul nostru ipoteza formulată în alte studii, cum că feții obținuți după FET z5 sunt macrosomi** - valoarea cea mai mare a greutății la naștere este înregistrată în cazul **blastocistului proaspăt de ziua 5**, având o valoare de 3420 grame, următoarea valoare este atinsă de **embrionul congelat de ziua 3** și abia apoi de **blastocistul congelat de ziua 5**.

În ceea ce privește rata de sarcini biochimice în funcție de vârsta mamei, **blastocistul congelat de ziua 5**, are o rată de succes foarte bună, de 50% atât pentru categoria de vârstă 30-35 ani cât și pentru cele peste 40 ani. Totuși pacientele cu vârsta între **36-40** ani au avut o valoare a ratei de aproximativ **44%**, în timp ce cele din categoria de sub 30 ani o rată de aproximativ 41.66%. În intervalul 36-40 ani **blastocistul proaspăt de ziua 5** are rata de succes de **25%**, **embrionul congelat de ziua 3** de doar **20%** iar **embrionul proaspăt de ziua 3** - **50%**.

În ceea ce privește rata de nașteri în funcție de vârstă, cea mai bună rată de succes pe toate intervalele de vârste l-a avut transferul de **blastocist de ziua 5 de tip congelat**. Este evidențiat totodată și faptul că pe măsură ce înaintează în vârstă pacientele integrate în studiu, se reduce și rata de succes evaluată: sub 30 ani - 80% , 30-35 ani - 56.52%, 36-40 ani cu o rată de succes de aproximativ 36.36% , femeile de peste 40 ani cea au o rata de 33.33%.

Cele mai ridicate rate de avort pe categorii de vârstă sunt la transferul cu **embrion proaspăt de ziua 3 și congelat**, pe când această rată scade în caz de **blastocist proaspăt de ziua 5**. Utilizând **blastocist congelat de ziua 5** nu a apărut niciun avort în categoria femeilor tinere, de sub 30 ani, dar odată cu creșterea vârstei, riscul de avort spontan crește de la aproximativ 33.33% la femeile de 30-35 de ani la 37.5% în cazul celor de 36-40 ani și 50 % la femeile ce depășesc 40 ani.

În ceea ce privește influența vârstei și tipului de embriotransfer ca și factori independenți în rata de eșec a nașterii de feți vii se observă că **vârsta mamelor peste 34 ani** independent de transferul efectuat și de menarhă conduce la o majorare a riscului de insucces de **3.4 ori**. Utilizarea **blastociștilor congelați de ziua 5**, în aceleași condiții de independență și comparativ cu embrionii **fresh de ziua 3**, reduc semnificativ riscul de eșec, **scăzându-l de 10 ori**.

**Blastocistul congelat de ziua 5** are o rată foarte bună de sarcină biochimică 46.07% , cea mai mare rată de nașteri (21.62%), deși rată de avort mare de 37.14% și rată mică de naștere prematură 7.41%, astfel încât în studiul efectuat după **89 de FET z5 au rezultat 24 de nou-născuți, dintre care 22 de nașteri la termen 24.71%**.

Utilizarea de **blastocistul congelat de ziua 5** a avut cele mai bune rezultate în ceea ce privește obiectivul final: nașterea unui făt viu, la termen.

Din 79 de paciente 53 au avut sarcini biochimice, din acestea 46 de sarcini au fost confirmate ulterior ecografic, iar 28 dintre acestea au avut nou-născuți la termen (rata de sarcini 35.44%).

## 9. Rata de sarcini după embriotransfer de ziua 3 versus ziua 5 proaspăt și crioprezervat

### 9.1. Introducere

Studiul **prospectiv, observațional, nerandomizat**

**Obiectiv:** Stabilirea tipului de embriotransfer cu rata superioară de sarcini (de ziua 3 sau ziua 5)

**Durata:** martie 2018 și mai 2020.

**Număr paciente:** 79

**Număr de proceduri de embriotransfer:** 145

**Variabile dependente:** succesul fie eșecul obținerii sarcinii

**Variabile independente:** tipul de embriotransfer

**Criterii de includere:** pacientelor care au cel puțin un embrion rezultat în urma RUA, care urmează să facă procedura de embriotransfer (proaspăt sau crioconservat) în Spitalul Clinic de Obstetrică și Ginecologie „Prof. Dr. Panait Sîrbu”, care au completat un formular de consimțământ unde își dau acordul includerii în acest studiu și care păstrează legătura cu investigatorul pe parcursul sarcinii și completează chestionarul online până la momentul nașterii.

**Criterii de excludere:** pacientele care au refuzat semnarea consimțământului sau care pe parcursul studiului au cerut renunțarea, pacientele cu care s-a pierdut contactul pe parcursul procedurilor efectuate sau lipsa de răspuns a acestora ulterior, după obținerea sarcinii.

### 9.2. Material și metodă

Toate pacientele incluse au efectuat cel puțin o procedură de embriotransfer în cadrul Spitalului Clinic de Obstetrică și Ginecologie „Prof. Dr. Panait Sîrbu”, departamentul de RUA (Reproducere Umană Asistată). Cele care au fost de acord cu semnarea consimțământului informat (vezi anexa 35) au completat apoi un chestionar

online (vezi anexa 36) ce include întrebări despre vârstă, antecedentele personale și heredo-colaterale, stil de viață, cauzele infertilității, tratamentele de reproducere umană asistată efectuate în trecut sau în prezent, protocolul de stimulare utilizat pentru a obține embrionul pe care urmează să îl transfere, data și numărul de ovocite rezultate la puncția transvaginală, analizele hormonale dinainte de embriotransfer, tratamentul efectuat până în ziua embriotransferului, tipul de embrion care urmează să fie transferat (de ziua 3 sau 5, proaspăt sau congelat, calitatea acestuia) și date cu privire la partener. Pacientele au obținut embrionii în urma unui protocol de stimulare ovariană controlată, ce variază în funcție de pacientă și de medical curant și au efectuat puncție ovariană ghidată ecografic. Ovocitele rezultate au fost fertilizate de către embriolog prin tehnica FIV sau ICSI. Embriotransferul s-a realizat fresh sau congelat, în funcție de caracteristicile pacientei și caracteristicile embrionilor rezultați și preferința medicului.

Diagnosticul de sarcină biochimică s-a pus în cazul unei valori pozitive a BHCG după 10 zile de la embriotransfer. Diagnosticul de sarcină clinică s-a pus odată cu vizualizarea ecografică a bătăilor cardiace embrionare. Monitorizarea sarcinii s-a produs conform protocolului obișnuit de urmărire. Modalitatea și momentul nașterii a fost decis de medical curant care a monitorizat sarcina, de majoritatea datilor acesta fiind diferit față de medicul care a efectuat procedura de RUA. Datele pacientelor au fost procesate prin analize statistice variate, ce vor fi prezentate în cele ce urmează.

### 9.3. Rezultate, discuții, concluzii

În capitolul de față am analizat ratele de sarcină, comparând embrionii proaspeți cu cei congelați – de ziua 3 sau ziua 5.

Rata de succes în obținerea sarcinii biochimice pentru **embrion Z3 congelat** este foarte mică, **30%**, față de rata **ET z3 fresh** de 47,62%, însă pentru a vedea dacă sunt diferențe cu semnificație statistică, este folosit un Fisher exact test, care infirmă acest lucru ( $p > 0.05$ ).

Comparând compara **rata de sarcini biochimice**, dintre folosirea blastocistului de ziua 5 fresh sau congelat, s-au observat rezultate asemănătoare, (FET 46.07% vs ET 43.48%), însă testul  $\chi^2$  bidirecțional nu a arătat rezultate cu semnificație statistică ( $p > 0.05$ ).



Comparând compara **rata de nou-născuți**, dintre folosirea **blastocistului de ziua 5 fresh sau congelat**, s-au observat rezultate în favoarea FET (FET 24.71% vs ET 17.39 %), însă testul Fisher exact test nu a arătat rezultate cu semnificație statistică ( $p > 0.05$ ) (având în vedere puterea  $\beta$  de 0.80 și un nivel de semnificație  $\alpha = 0.05$  ar fi nevoie de două grupuri de 540 de paciente).

**Activitatea fizică** mai intensă crește semnificativ statistic șansele de obținere a unei *sarcini biochimice*: după **embriotransfer proaspăt de ziua 5** de 20 ori ( $p 0.04$ ) iar după **embrion Z5 congelat** de aproape 4.5 ori ( $p 0.03$ ).

**Vârsta pacientei** influențează rata de *sarcină biochimică* după **embriotransfer proaspăt de ziua 5** (creșterea vârstei cu 1 an este corelată cu o scădere cu 30% a șanselor pentru succes ( $p < 0.050$ ))

**Antecedentele de infertilitate** în familie scad de 20 de ori rata de *sarcini biochimice* după **embrion Z5 congelat (FET z5)** ( $p 0.05$ ).

## 10. Concluzii și contribuții personale

### 10.1. Concluzii

Ca și rate de succes, în urma celor 145 de transferuri de embrioni, **53** dintre cele 79 de paciente incluse au obținut sarcini biochimice ( Pregnancy Rate (PR) aproape 69%), dintre aceste sarcini, **46** au fost confirmate și ecografic (Ongoing Pregnancy Rate (OPR) 58,23%), iar **27** dintre sarcini au rezultat în nașterea unui făt viu (Live Birth Rate (LBR) 34% ).

Variabilele care modifică rata de obținere a sarcinii biochimice, clinice și rata de nou-născuți vii cu rezultate semnificativ statistice sunt: **vârsta mamei (peste 34 de ani) și vârsta de menarhă (sub 13 ani)**. Influența celorlalte variabile în cazul pacientelor care efectuează tehnici de reproducere umană asistată este fără valoare semnificativă statistic. După atingerea punctului de transfer embrionar, caracteristicile clinice și paraclinice ale pacientei nu sunt factori negativi independenți asupra PR și LBR, cu excepția vârstei pacientei și a vârstei de menarhă.

Analiza acestor variabile însă, în momentul în care le analizăm per fiecare tip de embriotransfer efectuat, ne arată câteva lucruri interesante. **Activitatea fizică** mai intensă crește semnificativ statistic șansele de obținere a unei sarcini biochimice după **embriotransfer proaspăt de ziua 5** de 20 ori (p 0.04) iar după **embrion Z5 congelat** de aproape 4.5 ori (p 0.03). **Antecedentele de infertilitate** în familie scad de 20 de ori rata de sarcini biochimice după **embrion Z5 congelat (FET z5)** (p 0.05). Comparând pacientele care au utilizat **blastocist Z5 fresh** și pacientele cu **blastocist Z5 congelat** observăm că singurul parametru diferit cu semnificație statistică valoarea AMH. AMH a fost cu 1.53 mai mic la pacientele cu **ET Z5 fresh**, diferența fiind semnificativă statistic (p < 0.01, IC95% = -2.74 la -0.43).

- **Vârsta pacientei** influențează rata de sarcină biochimică după **embriotransfer proaspăt de ziua 5** (creșterea vârstei cu 1 an este corelată cu o scădere cu 30% a șanselor pentru succes (p < 0.050).

## **Utilizarea de blastocistul congelat de ziua 5 a avut cele mai bune rezultate în ceea ce privește obiectivul final: nașterea unui făt viu, la termen**

1. În ceea ce privește obiectivul final pe care dorim să îl îmbunătățim și anume rata de nou-născuți după tehnici de reproducere umană asistată, următoarele concluzii sunt important de reținut. Embriotransferul cu **blastocist de ziua 5 congelat** scade riscul de eșec al **nașterii unui nou-născut viu**. Astfel, cea mai bună rată de nașteri de feți vii au avut-o pacientele care au efectuat embriotransfer cu blastocist de ziua 5 congelat (**21,62%**), pe locul doi, la egalitate, pacientele care au efectuat embriotransferul cu blastocist de ziua 5 proaspăt (15,38%) și cu embrion de ziua 3 congelat (15,38%), iar pe ultimul loc, cu cea mai mică rată de succes a nașterii unui nou-născut viu se situează embriotransferul cu embrion de ziua 3 proaspăt (4,76%). **Blastocistul congelat de ziua 5** are o rată foarte bună de sarcină biochimică 46.07% , cea mai mare rată de nașteri (21.62%), deși rată de avort mare de 37.14% și rată mică de naștere prematură 7.41%, astfel încât în studiul efectuat după **89 de FET z5 au rezultat 24 de nou-născuți, dintre care 22 de nașteri la termen 24.71%**.

2. În ceea ce privește rata de sarcini biochimice în funcție de vârsta mamei, **blastocistul congelat de ziua 5**, are o rată de succes foarte bună, de 50% atât pentru categoria de vârstă 30-35 ani cât și pentru cele peste 40 ani. Totuși pacientele cu vârsta între **36-40** ani au avut o valoare a ratei de aproximativ **44%**, în timp ce cele din categoria de sub 30 ani o rată de aproximativ 41.66%. În intervalul 36-40 ani **blastocistul proaspăt de ziua 5** are rata de succes de **25%**, **embrionul congelat de ziua 3** de doar **20%** iar **embrionul proaspăt de ziua 3 - 50%**.

3. Utilizarea **blastociștilor congelați de ziua 5**, în aceleași condiții de independență și comparativ cu embrionii **fresh de ziua 3**, reduc semnificativ riscul de eșec de a obține un nou-născut, **scăzându-l de 10 ori**.

4. **Activitatea fizică** mai intensă crește semnificativ statistic șansele de obținere a unei sarcini biochimice după transfer de **blastocist Z5 congelat** de aproape 4.5 ori (p 0.03).

**5. Antecedentele de infertilitate** în familie scad de 20 de ori rata de sarcini biochimice după **transfer de blastocist de Z5 congelat (FET z5)** ( $p < 0.05$ ).

6. Sarcina biochimică și nici rata de nou-născuți după **embriotransfer congelat de ziua 5** nu sunt influențate semnificativ statistic de **vârsta pacientei, vârsta de menarhă, fumatul** sau alte caracteristici ale pacientei.

7. Comparând pacientele care au utilizat **blastocist Z5 fresh** și pacientele cu **blastocist Z5 congelat** observăm că singurul parametru diferit cu semnificație statistică valoarea AMH. AMH a fost cu 1.53 mai mic la pacientele cu **ET Z5 fresh**, diferența fiind semnificativă statistic ( $p < 0.01$ , IC95% = -2.74 la -0.43).

### **Transferul de embrionul proaspăt de ziua 3 a avut cea mai mică rată de nou-născuți vii: și anume zero.**

1. Rezultatele trebuie privite atent în ceea ce privește **transferul de embrion proaspăt de ziua 3**, care până nu demult era cea mai utilizată tehnică de transfer. Cea mai mare **rată de succes de sarcină biochimică** a fost de 47.62% și a apărut în cazul utilizării **embrionului proaspăt de ziua 3**, următoarea fiind de 46.07% al **blastocistului congelat de ziua 5**, apoi blastocistul proaspăt de ziua 5 - 43.48%, embriotransferul cu embrion congelat de ziua 3 – doar 30%. Rata de succes în obținerea sarcinii biochimice pentru **embrion Z3 congelat** este foarte mică, **30%**, față de rata **ET z3 fresh** de 47,62%, însă pentru a vedea dacă sunt **diferențe cu semnificație statistică**, este folosit un Fisher exact test, care infirmă acest lucru ( $p > 0.05$ ). Trebuie însă luat în considerare și numărul pacientelor incluse în studiu, pentru a obține o putere  $\beta = 0.80$  (80%), și un nivel de semnificație  $\alpha = 0.05$  sunt necesare 114 paciente în fiecare grup. Cu alte cuvinte, pentru a stabili dacă într-adevăr această diferență între embriotransferul de ziua 3 proaspăt și cel congelat este reală, ar fi necesar să avem câte 114 paciente în grupul cu embriotransfer fresh și 114 paciente în grupul cu embriotransfer congelat.

2. Pe lângă faptul că diferențele dintre aceste proceduri care pun ET z3 pe primul loc ca număr de sarcini biochimice nu sunt semnificative statistic, **trebuie avut în vedere**

**că embrionul proaspăt de ziua 3** are cele mai mari rate de sarcină biochimică 47.62% , dar și cea mai mare rată de avort 80% și cea mai mare rată de naștere prematură 100%, astfel încât în studiul efectuat după **21 de ET z3** **nu a rezultat nici o naștere la termen 0%**.

3.Sarcină biochimică după **embriotransfer proaspăt de ziua 3** nu este influențată de caracteristicilor pacientei (regresie logistică binară univariată simplă), cu excepția vârstei de **menarhă** mai târzie, o creștere cu 1 an fiind corelată cu o creștere de 2.17 ori a Odds pentru succes ( $p < 0.05$ , IC95% pentru OR = 1.09 la 5.76]. Vârsta pacientei, fumatul sau antecedentele nu influențează rata de succes după ET Z3 semnificativ statistic ( $p > 0.05$ ).

**Rata de nou-născuți după transferul de embrion congelat de ziua 3 și blastocistul proaspăt de ziua 5 au fost asemănătoare: 15.38%.**

**1. În ceea ce privește embrionul congelat de ziua 3**, acesta are cele mai mici rate de sarcină biochimică 30% , dar și cea mai mare mică rată de avort 33.33% și cea mai mare mică rată de naștere prematură 0%, astfel încât în studiul efectuat **după 13 de FET z3** **au rezultat 2 nașteri la termen 15.38%**.

**2. Evaluând transferul de blastocistul proaspăt de ziua 5**, acesta are o rată bună de sarcină biochimică 43.48% , rată mică rată de avort 33.33% și cea mai mare mică rată de naștere prematură 0%, astfel încât în studiul efectuat după **23 de ET z5** **au rezultat 4 nou-născuți la termen (15.38%)**.

3. Cea mai mică **rată de naștere prematură (0%)** a fost înregistrată în cazul **blastocitului proaspăt de ziua 5** și în cazul **embrionului congelat de ziua 3**, ambele proceduri obținând doar nou-născuți la termen (apoi 7.41% **blastocistul de ziua 5 congelat**, și 100% a fost în cazul **embrionului proaspăt de ziua 3**).

4. Rata cea mai mică de **avort a fost după embriotransfer congelat de ziua 3** și după **blastocist proaspăt de ziua 5- 33,33%**, în timp ce rata de avort a fost de aproximativ 80%

la **embriotransferul de tip embrion proaspăt de ziua 3**, apoi 37.14% la **blastocistul congelat de ziua 5**.

5. Sarcină biochimică după **transfer proaspăt de blastocist de ziua 5** este influențată de **vârsta pacientei** (creșterea vârstei cu 1 an este corelată cu o scădere cu 30% a șanselor pentru succes ( $p < 0.05$ , IC95% pentru OR = 0.49 la 0.94]). De asemenea șansele de succes sunt de 20 ori mai mari la pacientele cu **activitate fizică** mai intensă (1 și 2 pe scala),  $p < 0.05$ , OR = 19.33 nu se poate evalua IC 95%. Vârsta de menarhă, fumatul sau antecedentele pacientei nu influențează rata de succes după ET Z5 semnificativ statistic ( $p > 0.05$ ).

6. **Activitatea fizică** mai intensă crește semnificativ statistic șansele de obținere a unei sarcini biochimice: după **transfer proaspăt de blastocist ziua 5** de 20 ori ( $p < 0.05$ ).

7. Rata de succes în obținerea sarcinii biochimice pentru **embrion Z3 congelat** este foarte mică, **30%**, față de rata **ET z3 fresh** de 47,62%, însă pentru a vedea dacă sunt diferențe cu semnificație statistică, este folosit un Fisher exact test, care infirmă acest lucru ( $p > 0.05$ ). Am avea nevoie de 114 paciente în fiecare grup comparat ca să avem rezultate semnificative statistic.

8. Comparând compara rata de sarcini biochimice, dintre folosirea **blastocistului de ziua 5 fresh sau congelat**, s-au observat rezultate asemănătoare, (FET 46.07% vs ET 43.48%), însă testul  $\chi^2$  bidirecțional nu a arătat rezultate cu semnificație statistică ( $p > 0.05$ ).

9. Comparând compara rata de nou-născuți, dintre folosirea **blastocistului de ziua 5 fresh sau congelat**, s-au observat rezultate în favoarea FET (FET 24.71% vs ET 17.39 %), însă testul Fisher exact test nu a arătat rezultate cu semnificație statistică ( $p > 0.05$ ) (având în vedere puterea  $\beta$  de 0.80 și un nivel de semnificație  $\alpha = 0.05$  ar fi nevoie de două grupuri de 540 de paciente).

10. Rata de nou-născuți după **embriotransfer proaspăt de ziua 5** nu este influențată semnificativ statistic de **vârsta pacientei**, **vârsta de menarhă**, fumatul sau alte caracteristici ale pacientei (însă trebuie menționat că au fost doar 4 cazuri în care a fost obținut un făt viabil după fertilizarea cu blastocist Z5 fresh).

## **Se infirmă în studiul nostru ipoteza formulată în alte studii, cum că feții obținuți după FET z5 sunt macrosomi**

Luând în considerare greutatea medie la naștere a diferitelor tipuri de embriotransfer, se observă că valoarea cea mai mare este înregistrată în cazul **blastocistului proaspăt de ziua 5**, având o valoare de 3420 grame. Următoarea valoare este atinsă de **embrionul congelat de ziua 3** și apoi de **blastocistul congelat de ziua 5**. Cea mai mică valoare a greutății, de doar 1000 grame a apărut în cazul embriotransferului realizat cu embrion proaspăt de ziua 3.

**Se infirmă în studiul nostru ipoteza formulată în alte studii, cum că feții obținuți după FET z5 sunt macrosomi** - valoarea cea mai mare a greutății la naștere este înregistrată în cazul **blastocistului proaspăt de ziua 5**, având o valoare de 3420 grame, următoarea valoare este atinsă de **embrionul congelat de ziua 3** și abia apoi de **blastocistul congelat de ziua 5** (totuși, rezultatele nu au semnificație statistică dovedită).

### **Ce tip de embrion este mai bine să transferăm în funcție de vârsta pacientei?**

1. În ceea ce privește rata de nașteri în funcție de vârstă, cea mai bună rată de succes pe toate intervalele de vârste l-a avut transferul de **blastocist de ziua 5 de tip congelat**. Este evidențiat totodată și faptul că pe măsură ce înaintează în vârstă pacientele integrate în studiu, se reduce și rata de succes evaluată: sub 30 ani - 80% , 30-35 ani - 56.52%, 36-40 ani cu o rată de succes de aproximativ 36.36% , femeile de peste 40 ani cea au o rata de 33.33%.

2. În ceea ce privește rata de sarcini biochimice în funcție de vârsta mamei, **blastocistul congelat de ziua 5**, are o rată de succes foarte bună, de 50% atât pentru categoria de vârstă 30-35 ani cât și pentru cele peste 40 ani. Totuși pacientele cu vârsta între **36-40** ani au avut o valoare a ratei de aproximativ **44%**, în timp ce cele din categoria de sub 30 ani o rată de aproximativ 41.66%. În intervalul 36-40 ani **blastocistul proaspăt de ziua 5** are rata de succes de **25%**, **embrionul congelat de ziua 3** de doar **20%** iar **embrionul proaspăt de ziua 3 - 50%**.

3. Cele mai ridicate rate de avort pe categorii de vârstă sunt la transferul cu **embrion proaspăt de ziua 3 și congelat**, pe când această rată scade în caz de **blastocist proaspăt de**

**ziua 5.** Utilizând **blastocist congelat de ziua 5** nu a apărut niciun avort în categoria femeilor tinere, de sub 30 ani, dar odată cu creșterea vârstei, riscul de avort spontan crește de la aproximativ 33.33% la femeile de 30-35 de ani la 37.5% în cazul celor de 36-40 ani și 50 % la femeile ce depășesc 40 ani.

3.În ceea ce privește influența vârstei și tipului de embriotransfer ca și factori independenți în rata de eșec a nașterii de feți vii se observă că **vârsta mamelor peste 34 ani** independent de transferul efectuat și de menarhă conduce la o majorare a riscului de insucces de **3.4 ori**. Utilizarea **blastociștilor congelați de ziua 5**, în aceleași condiții de independență și comparativ cu embrionii **fresh de ziua 3**, reduc semnificativ riscul de eșec, **scăzându-l de 10 ori**.

4. Comparând pacientele care au utilizat **blastocist Z5 fresh** și pacientele cu **blastocist Z5 congelat** observăm că singurul parametru diferit cu semnificație statistică valoarea AMH. AMH a fost cu 1.53 mai mic la pacientele cu **ET Z5 fresh**, diferența fiind semnificativă statistic ( $p < 0.01$ , IC95% = -2.74 la -0.43).

**5. Vârsta pacientei** influențează rata de sarcină biochimică după **embriotransfer proaspăt de ziua 5** (creșterea vârstei cu 1 an față de 34 de ani este corelată cu o scădere cu 30% a șanselor pentru succes ( $p < 0.050$ ). – cut-off 34 ani

6. La modul general și la prima vedere, diferențele dintre rata de succes în obținerea sarcinii biochimice pentru **embrion Z3 congelat versus ET z3 fresh** și dintre **blastocistului de ziua 5 fresh sau congelat** și rata de nașteri dintre folosirea **blastocistului de ziua 5 fresh sau congelat** nu sunt semnificative statistic. Totuși, luând în considerare și celelalte studii efectuate, putem formula următoarea concluzie: atunci când analizăm diferențele dintre tipurile de embriotransfer *nestratificat pe grupe de vârstă*, diferențele nu sunt semnificative statistic, dar atunci când introducem și vârsta pacientei în ecuație observăm că utilizarea **blastociștilor congelați de ziua 5**, la pacientele de peste 34 de ani, comparativ cu embrionii fresh de ziua 3, *reduc de 10 ori riscul de eșec în obținerea unui nou-născut*. Am dorit să subliniez acest aspect în vederea propunerii de protocoale individualizate pentru paciente în viitor, pentru a obține o rată superioară de nou-născuți.



## Complicațiile în sarcină

**Diabetul gestațional** nu este un factor de risc cu semnificație statistică asupra eșecului de naștere a unui făt viu, deși calculul arată un risc de 8 ori mai mare în caz de diabet. În evaluarea rezultatelor fără semnificație statistică trebuie luat în considerare și că doar 4 pacienți au avut diabet (14.81% din cele care au avut nașteri vii).

În cercetarea pe care am efectuat-o noi, am luat în considerare și apariția **HTA** în sarcină, patologii ale **placentei**, precum placenta accreta, sarcina **gemelară** și **alte** patologii. În urma calculelor efectuate am observat însă că modelul este divergent în ceea ce privește influența complicațiilor din sarcină asupra nașterii unui nou-născut viu, datorită clasificării quasitotale a variabilei dependente de către predictor și nu ne permite să efectuăm o regresie logistică în aceste condiții și să afirmăm că aceste complicații sunt mai frecvente în funcție de un anumit tip de embriotransfer sau că sunt factori de risc. Acest lucru probabil este datorat numărului mic de pacienți cu complicații inclus: 7 pacienți au avut complicații în sarcină (adică 25.92% din numărul pacienților cu nou-născuți vii), considerând ca și complicații sarcina gemelară și internarea pentru contracții la 23 de săptămâni. Nici o pacientă nu a avut HTA sau patologii ale placentei.

### 10.2. Discuții

Ar fi două puncte nevralgice de precizat: primul este reprezentat de faptul că avem foarte puține cazuri de transfer cu embrion z3 congelat și o rată de succes biochimic de doar 30% și practic există posibilitatea ca analizele efectuate, legate de puterea testului și de sample size să fie eronate - din acest motiv nici nu am mers mai departe cu analiza pentru paciențele cu embrioni z3, ci m-am axat mai mult pe blastocisti z5.

A doua problemă este faptul că avem în studiu pacienți cu mai multe proceduri (unele pacienți au făcut mai multe proceduri de tip FIV sau de tip ICSI și au transferat mai mulți embrioni, unii fresh unii crioprezervați, unii de ziua 3 unii de ziua 5). Analizele statistice multiple efectuate au încercat să acopere și să compenseze acest aspect, în vederea obținerii de rezultate corecte. Rezultatele sunt exacte, cel puțin în ceea ce privește paciențele care au primit blastocisti Z5 (fresh sau congelat).

### **10.3. Limitele cercetărilor efectuate și perspectivele viitoare ale cercetării**

Deoarece sarcinile obținute în clinica de Reproducere Umană Asistată merg apoi la medicul curant pentru monitorizare, poate în alt oraș sau altă țară chiar, de cele mai multe ori s-a pierdut contactul cu pacienta. Am inclus în studiul final doar pacientele care au semnat consimțământul de includere în studiu, au completat apoi chestionarul online, au actualizat datele în chestionar pe parcursul sarcinii și apoi la naștere și au păstrat legătura cu investigatorii. Deoarece am dorit să investigăm mai multe variabile (rata de sarcini, evoluția sarcinii și rezultatul nașterii), multe paciente au fost excluse deoarece nu au mai răspuns ulterior (din 500 de paciente, doar 300 de paciente care au semnat consimțământul, iar dintre acestea doar 79 au păstrat legătura cu investigatorii pe toată durata studiului).

Explicațiile pacientelor pentru acest fenomen au fost reprezentate de faptul că contactarea de către investigatori pentru actualizarea datelor pe parcurs le creează un impact psihologic negativ, întrucât multe paciente nu au obținut sarcina după primul sau al doilea embriotransfer iar investigatorii le aminteau despre acest eșec prin întrebările de reactualizare.

Avem în discuție paciente sensibile emoțional care sunt supuse unui stres psihologic intens. Ar fi putut fi în acest sens o rezolvare efectuarea unui studiu retrospectiv și nu prospectiv, însă având în vedere că pacientele după procedurile de reproducere umană asistată se întorc la medicul curant din orașul de reședință, ar fi fost mult mai dificil stabilirea contactului cu acestea ulterior, având în vedere că ele nu ar fi semnat consimțământul informat care să ne dea dreptul de a le contacta. Dacă am fi analizat doar rata de sarcini biochimice și clinice, un studiu retrospectiv ar fi fost mai ușor realizabil decât un studiu prospectiv. Însă deoarece am dori să analizăm și evoluția pe tot parcursul sarcinii și nașterea, nu am fi avut acces la aceste date ale pacientelor care au născut în altă maternitate față de Spitalul Clinic de Obstetrică Ginecologie "Prof. Dr. Panait Sîrbu", București.

Acest proiectul a fost elaborat cu scopul de a urmări evoluția acestor embrioni de la stadiul de celule până în primii ani de viață, pentru a observa modul în care putem îmbunătăți șansele cuplurilor cu infertilitate în viitor de a obține sarcini cât mai repede și cât mai sănătoase, luând în considerare și ce se întâmplă după naștere, evoluția copiilor. Pacientele au semnat în consimțământ că sunt de acord să le contactăm anual și după nașterea copiilor, pentru a obține date comparative despre evoluția copiilor obținuți după embriotransfer fresh

versus embriotransfer crioprezervat. Acest studiu pe termen lung poate veni ca o completare a lucrării de doctorat prezentă.

#### **10.4. Contribuții proprii**

- Am conceput designul studiului, al chestionarului online și al formularului de consimțământ informat
- Am realizat un review de literatura pentru partea generală a lucrării, pentru a evalua rezultatele și recomandările studiilor internaționale din domeniul embriotransferului
- Am interacționat cu pacientele implicate pe tot parcursul studiului: de la semnarea consimțământului informat, la completarea chestionarului cu întrebări, apoi pe parcursul procedurilor de embriotransfer și pe toată durata sarcinilor până la naștere le-am contactat telefonic
- Am verificat datele medicale din fișele de observație ale pacientelor selectate înainte de a le introduce în programul Excel, formând baza de date
- Am evaluat rezultatele statistice, am efectuat comparații între loturile studiate, am formulat concluzii cu privire la obiectivele tezei doctorale,
- Am efectuat grafica și designul cercetării doctorale prezente.

Ca și contribuții personale, precizez ca acesta este primul studiu care analizează comparativ rata de sarcini în funcție de tipurile de embriotransfer, în România și în cadrul Departamentului de Reproducere Umană Asistată a Spitalului Clinic de OG "Panait Sîrbu", București.

Majoritatea rezultatele obținute sunt comparabile cu cele din literatura internațională – în ceea ce privește rata superioară de sarcini și nou-născuți vii după FET Z5 (însă majoritatea nu sunt semnificative statistic, la fel cum multiple meta-analize internaționale au concluzionat).

Un alt aspect original în designul studiului de față a fost stadializarea rezultatelor pe grupe de vârstă și stabilirea în funcție de caracteristicile pacientei ce factori au efect negativ asupra ratei de sarcini, în funcție de fiecare tip de embriotransfer în parte. Astfel, deși inițial când comparăm pacientele neîmpărțite pe grupe de vârstă și când comparăm

factorii de risc neîmpărțiți în funcție de tipul de embrion – rezultatele nu erau semnificative statistic, am observat că după stratificările respective am descoperit rezultate semnificative.

Am efectuat toate aceste analize suplimentare deoarece scopul final este de a putea stabili un protocol individualizat pentru fiecare pacientă și să îi recomandăm tipul de procedură cu ratele cele mai mari de sarcini în funcție de caracteristicile ei, antecedentele ei, nivelul de activitate fizică, vârsta, menarha și antecedentele heredo-colaterale. Această abordare holistică este un alt aspect original al lucrării.

S-au constatat și diferențe față de studiile internaționale în ceea ce privește: riscul de macrosomie fetală după FET z5 – în studiul nostru blastocistul proaspăt și nu cel crioprezervat a avut o greutate mai mare, deși rezultatele nu sunt semnificative statistic pentru a afirma cu certitudine acest lucru. Un alt rezultat diferit observat a fost cu privire la rata de riscuri asociate și complicații în sarcină – rezultatele cercetării de față nu arată că transferul unui anumit tip de embrion reprezintă factor de risc, însă rezultatele sunt ne semnificative statistic.

Putem considera de asemenea o contribuție personală faptul că am stabilit cut-off al vârstei pacientei la 34 de ani în urma studiului (și nu 35 așa cum se consideră în prezent). Acest lucru vine ca un semnal de alarmă, deoarece sugerează că vârsta de la care o pacientă are un risc mai crescut de infertilitate este în continuă scădere (nu demult aceasta fiind considerată 40 de ani).

Implicațiile importante pe care le aduce vârsta de menarhă și faptul că este un factor de risc independent sunt totodată aspecte originale: faptul că o pacientă care a avut menarha până la maxim 13 ani, are un risc de eșec de obținere a sarcinii biochimice de aproape 4 ori mai mare față de pacientele care au avut menarha la o vârstă la peste 13 ani are un impact important în practica clinică. Se subliniază astfel importanța întrebării în cabinet, de către medic, a acestui aspect legat de vârsta de menarhă pentru a consilia pacientele din timp asupra riscurilor pe care le au sau nu.

Nu în ultimul rând, aș putea preciza la aspecte originale și idee de design al studiului pe termen lung, pentru o posibilă continuare de cercetare post-doctorală. În consimțământul pe care l-am redactat și pe care l-au semnat pacientele este inclus și

acceptul lor de a fi contactate de către investigator și în primii ani de viață ai copilului, pentru a observa care este evoluția în viața extrauterină a acestuia. Ceea ce îmi doresc este să avem în vedere că obiectivul, indiferent de tipul de tratament sau de tipul de embriotransfer, este de a obține un nou-născut sănătos care se va dezvolta într-un adult sănătos. Consider ca având limitări importante de a trage concluzii și de a face recomandări, studiile care iau în calcul doar rata de sarcini biochimice de exemplu, fără a evalua rata de avort și rata de nou născuți la termen sau cele care iau în calcul doar rata de nașteri, fără a se întreba ce se întâmplă cu acei copii în viața reală, în copilărie, adolescența și maturitate.

Există deja bineînțeles studii internaționale pe termen lung, dar rezultatele sunt contradictorii de multe ori. Totuși, ele se arată mai mult decât încurajatoare: există date despre faptul că acești copii obținuți după transfer congelat au rate mai reduse de a dezvolta cancer pe parcursul vieții (prin inhibarea prin congelare a genelor cu potențial oncogen), că au o indice de inteligență superior și chiar o sociabilitate crescută. Un astfel de studiu este dificil de realizat, într-adevăr, dar cred că prin colaborarea între centre vom putea realiza descoperiri extrem de interesante cu privire la acești copii, născuți după Tehnici de Reproducere Umană Asistată.

## 11. Bibliografie selectivă

1. Chang JC CMGH CYYYKHCLCM. Does the "freeze-all" policy allow for a better outcome in assisted reproductive techniques than the use of fresh embryo transfers? - A retrospective study on cumulative live birth rates. 2017;; 775-780.
2. Shapiro BS,DST,GFC,AM,HC,aTS. 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;; 344-348.
3. Weinerman RaMM. Why we should transfer frozen instead of fresh embryos: the translational rationale. *Fertil Steril.* 2014;(102): 10-18.
4. Roque M,VM,GF,SM,aGS. Freeze-all policy: fresh vs. frozen-thawed embryo transfer. *Fertil Steril.* 2015;(103): 1190–1193.
5. Roque M VMKASMG(. Freeze-all cycle in reproductive medicine: current perspectives. *JBRA Assist Reprod.* 2017 Feb 1;(21): 49-53.
6. Wong K vWMMFRSMS(. Fresh versus frozen embryo transfers in assisted reproduction. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2017,Issue 3. .
7. C.B SSLJWSRL. Fresh and Frozen-Thawed Embryo Transfer Compared to Natural Conception: Differences in Perinatal Outcome. *Gynecol Obstet Invest.* 2017;(82): 538–546.
8. Aflatoonian A KMMANea. Perinatal outcome in fresh versus frozen embryo transfer in ART cycles. *International Journal of Reproductive Biomedicine.* 2016; 14(3): 167-172.
9. Ishihara O,AR,KA,IA,SH,aAGD. Impact of frozen-thawed single-blastocyst transfer on maternal and neonatal outcome: an analysis of 277,042 single-embryo transfer cycles from 2008 to 2010 in Japan. *Fertil Steril.* 2014;(101): 128-133.
10. Liu SY,TB,FJ,LX,ZY,aSXX. Obstetric and neonatal outcomes after transfer of vitrified early cleavage embryos. *Hum Reprod.* 2013; 28(2093–2100).
11. Schoolcraft WBaKJMG. Comprehensive chromosome screening of trophoctoderm with vitrification facilitates elective single-embryo transfer for infertile women with advanced maternal age. *Fertil Steril.* 2013;(100): 615–619.
12. Wennerholm UB1 HARLBCPASRFJGMNKTA. Perinatal outcomes of children born after frozen-thawed embryo transfer: a Nordic cohort study from the CoNARTaS group. *Hum Reprod.* 2013 Sep;(28): 2545-53.
13. Imudia AN,AAO,DJO,KAJ,WDL,TTLea. Peak serum estradiol level during controlled ovarian hyperstimulation is associated with increased risk of small for gestational age and preeclampsia in singleton pregnancies after in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2012;(97): 1374-1379.
14. Griesinger G,KEM,PEG,DK,VSA,DPea. Triggering of final oocyte maturation with gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin. Live birth after frozen-thawed embryo replacement cycle. *Fertil Steril.* 2007;(88): 616-621.
15. Imudia AN,AAO,KAJ,WDL,SAK,aTTL. Elective cryopreservation of all embryos with subsequent cryothaw embryo transfer in patients at risk for ovarian hyperstimulation syndrome reduces the risk of adverse obstetric outcomes: A preliminary study. *Fertil Steril.* 2013;(99): 168-173.
16. Roque M LKSSSIGSCRea. Fresh embryo transfer versus frozen embryo transfer in in vitro fertilization cycles: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2013;(99): 156–162.
17. Glujovsky D,FC,QRAM,ASCR,aBD. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016.
18. Alviggi C CACIBRdPGGS. Influence of cryopreservation on perinatal outcome after blastocyst- vs cleavage-stage embryo transfer: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018 Jan;(51(1)): 56-63.
19. Wang X DMGYWBZJLZ. Comparative neonatal outcomes in singleton births from blastocyst transfers or cleavage-stage embryo transfers: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol.* 2017 May 4;(15(1):36): 36.

20. Maheshwari A,PS,SA,HM,aBS. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from the transfer of frozen thawed versus fresh embryos generated through in vitro fertilization treatment: A systemic review and meta- analysis. *Fertil Steril.* 2012;(98): 368-377.
21. Roy TK,BCK,BMC,aMSJ. Single-embryo transfer of vitrified-warmed blastocysts yields equivalent live-birth rates and improved neonatal outcomes compared with fresh transfers. *Fertil Steril.* 2014;(101): 1294–1301.
22. Halliday JL,UOC,BHW,BS,JAM,GCea. Increased risk of blastogenesis birth defects, arising in the first 4 weeks of pregnancy, after assisted reproductive technologies. *Hum Reprod.* 2010;(25): 59–65.
23. Osamu Ishihara RAKAIHSGDA. Impact of frozen-thawed single-blastocyst transfer on maternal and neonatal outcome: an analysis of 277,042 single-embryo transfer cycles from 2008 to 2010 in Japan. .
24. Diana Mihai AVDCCCCCMAEBCMEB. THE RISK OF PLACENTA ACCRETA AFTER FROZEN EMBRYO TRANSFER. The 14th edition of the National Conferance" Vasile Dobrovici Medical Days". Organised by The Romanian Society of Obstetrics and Gynecology, The Romanian Society of Reproductive Medicine, UMF "Grigore T.Popa". 2018 April 20-21.
25. Lomax GP TA. *Nature Biotechnology.* In.; 2013.
26. Publications. UPDHUP. Embriology, column WA26. In.; 8 Jan 2013.
27. The Universal Declaration of Human Rights, 1948. art 16. .
28. The Universal Declaration of Human Rights 1a3. .
29. Ioan B. A. Ethical and legal aspects in medically assisted human reproduction in Romania. V. *Hum Reprod Genet Ethics.* 2008;(14(2)): 4-13.
30. Beauchamp T L C J F. *Principles of Biomedical Ethics.* Oxford University Press. 2001;: pp 454.
31. Medicine ECotASfR. Disposition of abandoned embryos: a committee opinion. 2013 June ; 99: 1848–1849..
32. Thomas Douglas JSDueir. Talking Point on morality and human embryo research. *EMBO Rep. Science and Society Talking Points.* 2009 Apr;(10(4):): 307–312.
33. Diana Mihai AVDCAEBMCCCCBCM. SURGERY IN INFERTILE PATIENTS WITH ENDOMETRIOSIS - WHEN IS IT REALLY NECESSARY? Proceeding at the 17th National Congress Of the Romanian Society of Obstetrics and Gynecology. 2018 Sept 20-22.

## Lista cu lucrările științifice publicate

(vezi Anexe 1-34)

### ISI, ISI publications in extenso, Pub Med, BDI, CNCSIS

**1. Diana Mihai**, Elvira Brătilă, Claudia Mehedințu, Costin Berceanu, Silviu Mirel Pițuru. The ethical aspects regarding cryopreserved embryos. Romanian Journal of Legal Medicine. ETHICS, BIOETHICS AND SOCIAL SCIENCES Vol. XXV, No 3(2017). pag. 317-321. DOI: 10.4323/rjlm.2017.317, articol publicat in revista cu factor de impact 0.320, AIS 0.050. <http://www.rjlm.ro/index.php/arhiv/587>

**2. MIHAI Diana**, VELIȘCU Andreea, COMANDAȘU Diana, BORDEA Alina Elena, COSMA Mihaela, COROLEUCĂ Ciprian, BRATU Ovidiu, MEHEDINȚU Claudia, BERCEANU Costin. Surgery in infertile patients with endometriosis - when is it really necessary? The 17th National Congress Of the Romanian Society of Obstetrics and Gynaecology, 20-22 Sept 2018, Iasi, Romania. Pag 445-451. [https://www.filodiritto.com/proceedings?field\\_cat\\_proceedings\\_target\\_id=All&page=6](https://www.filodiritto.com/proceedings?field_cat_proceedings_target_id=All&page=6)

**3. Diana Mihai**, Andreea Velișcu, Claudia Mehedințu, Costin Berceanu, Diana Comandașu, Ciprian Coroleucă, Mihaela Cosma, Bordea Alina, Elvira Brătilă. Endometriosis and infertility - the need for social freezing. Revista Ginecologia.ro. REVISTĂ DE EDUCAȚIE MEDICALĂ CONTINUĂ Anul VI • Nr. 20 (2) 2018, Supl. 2 • Pag. 35 DOI: 10.26416/Gine.20.2.2018 ISSN 2457-5666, articol publicat in revista indexate BDI.

<http://revistaginecologia.ro/system/revista/38/1-36.pdf>

**4. Mihai, D.**, Velișcu, A., Comandașu, D., Coroleucă, C., Mehedințu, C., Berceanu, C. and Brătilă, E.. "Female Fertility Preservation in Patients with Musculoskeletal Cancer" Romanian Journal of Orthopaedic Surgery and Traumatology, vol.1, no.Supplement, 2018,



pp.2-2. Published Online: 22 May 2018 <https://doi.org/10.2478/rojost-2018-0013> articol in extenso publicat in reviste cotate ISI fara factor de impact.

<https://sciendo.com/article/10.2478/rojost-2018-0013>

**5.Diana Mihai**, Andreea Velişcu, Diana Comandaşu, Cătălin Coroleucă, Ciprian Coroleucă, Claudia Mehedinţu, Alina Elena Bordea, Mihaela Braga, Elvira Brătilă. FREEZE-ALL STRATEGY: PREGNANCY RATE, OBSTETRICAL PROGNOSIS AND ETHICAL CONSIDERATIONS – REVIEW EVALUATING 278.000 NEWBORNS AFTER ART. In extenso in Research and Science Today Journal. Supplement 2/2019. Pag 102-119. ISSN-E: 2344-0007, articol publicat in revista in revista indexata BDI si CNCSIS.

<https://www.rstjournal.com/wp-content/uploads/2019/07/RST-Supplement-2-2019.pdf>

**6.Diana Mihai**, Andreea Velişcu, Diana Comandaşu, Cătălin Coroleucă, Ciprian Coroleucă, Claudia Mehedinţu, Marilena Baluta, Elvira Brătilă. ENDOMETRIOSIS: WHAT ARE THE MECHANISMS RESPONSIBLE FOR INFERTILITY? In extenso in Research and Science Today Journal. Supplement 2/2019, ISSN-E: 2344-0007, articol publicat in revista indexata BDI si CNCSIS.

<https://www.rstjournal.com/wp-content/uploads/2019/07/RST-Supplement-2-2019.pdf>

7. Lavinia IFTENE, Claudia MEHEDINTU, Elvira BRATILA, Francesca FRINCU, **Diana MIHAI**, Gabriela IONESCU, Ovidiu Gabriel BRATU, Bogdan SOCEA, Ana-Maria-Emanuela CAZACHEVICI. "RESHAPING PURPOSE-USE OF METFORMIN IN ENDOMETRIOSIS AN APPROACH TO RECENT LITERATURE." Research and Science Today (2019) pg 158-171. ISSN-E: 2344-0007, articol publicat in revista in revista indexata BDI si CNCSIS, toţi autorii au contribuţie egală.

<https://www.rstjournal.com/wp-content/uploads/2019/07/RST-Supplement-2-2019.pdf>

8. Elena Silvia Nadă, Ovidiu Gabriel Bratu, **Diana Mihai**, Elvira Brătilă. Alternative treatment in endometriosis. Research and Science Today (2019) pg 192-204 . ISSN-E: 2344-0007, articol publicat in revista in revista indexata BDI si CNCSIS, toți autorii au contribuție egală.

<https://www.rstjournal.com/wp-content/uploads/2019/07/RST-Supplement-2-2019.pdf>

**9.Diana Mihai**, Andreea Velișcu, Diana Comandașu, Cătălin Coroleucă, Ciprian Coroleucă, Claudia Mehedințu, Marilena Băluță, Elvira Brătila. Endometrioza: care sunt mecanismele prin care afectează fertilitatea. Al II-lea Congres Național al Societății de Endometrioza și Infertilitate Est-Europeană. Revista Societății Române de Obstetrică și Ginecologie • Vol. LXVII • Nr. 2 • martie-mai 2019. pagina 88. ISSN 1220-5532. DOI: 10.26416/OBSGIN.67.2.2019, articol publicat in revista indexata BDI category B+ ( CNCSIS)

<https://www.medichub.ro/reviste-de-specialitate/obstetrica-si-ginecologia-mid-306-cmsid->

103

**10. Diana Mihai**, Andreea Velișcu, Diana Comandașu, Cătălin Coroleucă, Ciprian Coroleucă, Claudia Mehedințu, Alina Elena Bordea, Mihaela Braga, Elvira Brătilă. Strategia „freeze-all”: rata de sarcini și prognosticul obstetrical comparativ cu metoda clasică. Al II-lea Congres Național al Societății de Endometrioza și Infertilitate Est-Europeană. Revista Societății Române de Obstetrică și Ginecologie • Vol. LXVII • Nr. 2 • martie-mai 2019. pagina 75. ISSN 1220-5532. DOI: 10.26416/OBSGIN.67.2.2019, articol publicat in revista indexată BDI category B+ ( CNCSIS)

<https://www.medichub.ro/reviste-de-specialitate/obstetrica-si-ginecologia-mid-306-cmsid->

103

**11.Diana Mihai**, Andreea Velișcu, Diana Comandașu, Cătălin Coroleucă, Ciprian Coroleucă, Claudia Mehedințu, Alina Elena Bordea, Braga Mihaela, Elvira Brătilă. Embriotransferul proaspat versus crioconservat: avantaje si dezavantaje. Revista Ginecologia.ro. Summaries of the “Vasile Dobrovici” Conference, 26-28 November 2020.

Year VIII • No. 30 (4) 2020, Supl. 2 e-ISSN 2457-3566, pag.16, articol in extenso publicat in reviste cotate ISI fara factor de impact.

<https://www.medichub.ro/reviste-de-specialitate/ginecologia-ro-mid-453-cmsid-65>

**12. DIANA MIHAI**, Elvira BRĂȚILĂ, Claudia Mehedințu, Cristina Diana Pomană, Alina Elena Bordea. Influence of the clinical and paraclinical variables of the patient in the failure to achieve a pregnancy after embryo transfer: statistical analysis evaluation. Revista Societății Române de Obstetrică și Ginecologie • Vol. LXIX • Nr. 1 • ianuarie-martie 2021 . pag 16-22. • DOI: 10.26416/OBSGIN.69.1.2021 . ISSN 1220-5532 articol publicat in revista indexată BDI category B+( CNCSIS).

<https://www.medichub.ro/reviste-de-specialitate/obstetrica-si-ginecologia>

13. Alina-Elena Bordea, Andreea Carp-Velișcu, Elvira Brătilă, **Diana Mihai**. How does pathology influence cumulative pregnancy rate in poor responder patients? Revista Societății Române de Obstetrică și Ginecologie • Vol. LXIX • Nr. 1 • ianuarie-martie 2021 . pag 23-28. • DOI: 10.26416/OBSGIN. 69.1.2021. ISSN 1220-5532, articol publicat in revista indexată BDI category B+( CNCSIS).

<https://www.medichub.ro/reviste-de-specialitate/obstetrica-si-ginecologia>

14. Prabhu Chandra Mishra, Jyoti Bandi, Nidhi Khurana, **Diana Mihai**, Nidhi Jha, Poonam Mishra, Sheryl Palad, Adrienne E. Lara, Saurabh Kumar Jha, Puja Sharma, Didem Kurban, Vishwa Chavda and Manar Jabbar . **PLATELET RICH PLASMA (PRP) THERAPY: A PERSPECTIVE INTO TREATING GYNAECOLOGICAL DISORDERS** . International Journal Of Current Medical And Pharmaceutical Research . ISSN: 2395-6429, **Impact Factor: 4.656** . Available Online at [www.journalcmpr.com](http://www.journalcmpr.com) Volume 7; Issue 02(A); February 2021; Page No.5579-5585 DOI:

<http://dx.doi.org/10.24327/23956429.ijcmpr202102968>

15.Elena Alina Bordea, Andreea Carp-Velişcu, Cristiana Odukoya, **Diana Mihai**, Bogdan Marinescu, Elvira Brătilă . Actual considerations concerning the contribution of hysteroscopy to diagnosis and treatment of adenomyosis in infertile patients. Revista Ginecologia.ro. Year VII • No. 25 (3/2019) . pag 36-40. DOI: 10.26416/Gine.25.3.2019 ISSN 2344-2301 – articol publicat in revista indexate BDI , IBI factor 3.43

<https://www.medichub.ro/reviste-de-specialitate/ginecologia-ro-mid-341-cmsid-65>

### **Lucrări științifice prezentate în cadrul congreselor**

**16. Mihai D**, Comandasu D, Bratila E, Veliscu Carp A. **What to do with the surplus cryopreserved embryos? The view in accordance with the principles of bioethics.** The 18<sup>th</sup>World Congress of Gynecological Endocrinology, International Society of Gynecological Endocrinology. 7-10 March 2018. Firenze, Italy .

**17.Mihai D**, Comandasu D, Veliscu A, Berceanu C, Mehedintu C, Coroleuca C, Bratila E . **Has the ‘freeze-all’ strategy a better pregnancy outcome?.** The 18<sup>th</sup>World Congress of Gynecological Endocrinology, International Society of Gynecological Endocrinology. 7-10 March 2018. Firenze, Italy

**18.Diana Mihai**, Andreea Velişcu, Diana Comandaşu, Cătălin Coroleucă, Ciprian Coroleucă, Claudia Mehedinţu, Alina Elena Bordea, Cosma Mihaela, Elvira Brătilă . **The risk of monozygotic monochorionic twin pregnancy after fresh or cryopreserved single embryo transfer.** · The 14th edition of the National Conference ”Vasile Dobrovici Medical Days”, 20-21 April 2018, Iasi, Romania. Organised by The Romanian Society of Obstetrics and Gynecology, The Romanian Society of Reproductive Medicine, UMF “Grigore T. Popa” Iasi, Romania.

**19.Diana Mihai**, Andreea Velişcu, Diana Comandaşu, Cătălin Coroleucă, Ciprian Coroleucă, Claudia Mehedinţu, Alina Elena Bordea, Cosma Mihaela, Elvira Brătilă. **The**

**risk of placenta accreta after frozen embryo transfer.** The 14th edition of the National Conference "Vasile Dobrovici Medical Days", 20-21 April 2018, Iasi, Romania. Organised by **The Romanian Society of Obstetrics and Gynecology, The Romanian Society of Reproductive Medicine, UMF "Grigore T. Popa" Iasi, Romania.**

20.E. A. Bordea, M. Cosma, **D. Mihai**, Prof. B. Marinescu, Prof. E. Brătilă, A. Carp-Velişcu **Inositol treatment in the management of poor responder patients.** The 14th edition of the National Conference "Vasile Dobrovici Medical Days", 20-21 April 2018, Iasi, Romania. Organised by The Romanian Society of Obstetrics and Gynecology, The Romanian Society of Reproductive Medicine, UMF "Grigore T. Popa" Iasi, Romania.

**21.Diana Mihai**, Andreea Velişcu, Claudia Mehedinţu, Costin Berceanu, Diana Comandaşu, Ciprian Coroleucă, Mihaela Cosma, Bordea Alina, Elvira Brătilă. **Endometriosis and infertility - the need for social freezing.** First National Romanian Conference of Endometriosis, organised by The Est European Society of Endometriosis and Infertility. 14-16th June 2018. Sinaia, Romania.

**22.Diana Mihai**, Andreea Velişcu, Diana Comandaşu, Alina Elena Bordea, Mihaela Cosma, Ciprian Coroleucă, Costin Berceanu, Claudia Mehedinţu. **Surgery in infertile patients with endometriosis - when is it really necessary?** The 17th National Congress Of the Romanian Society of Obstetrics and Gynaecology, 20-22 Sept 2018, Iasi, Romania.

**23.Diana Mihai**, Andreea Velişcu, Diana Comandaşu, Alina Elena Bordea, Ciprian Coroleucă, Mihaela Cosma, Claudia Mehedinţu, Costin Berceanu, Elvira Brătilă. **Prezervarea fertilităţii: o abordare sigură ce ar trebui să devină standard la pacientele cu cancer.** Al 17-lea Congres national al Societatii de Obstetrică si Ginecologie din Romania 20-22 sept 2018 Iaşi. Romania

**24.Diana Mihai**, Andreea Velişcu, Diana Comandaşu, Cătălin Coroleucă, Ciprian Coroleucă, Claudia Mehedinţu, Alina Elena Bordea, Mihaela Braga, Elvira Brătilă. **Strategia „freeze-all”: rata de sarcini și prognosticul obstetrical comparativ cu metoda clasică.** The second National Congress of EESEI. 21 June 2019. Sinaia. Romania

**25.Diana Mihai**, Andreea Velişcu, Diana Comandaşu, Cătălin Coroleucă, Ciprian Coroleucă, Claudia Mehedinţu, Marilena Baluta, Elvira Brătilă. **Endometrioza: care sunt mecanismele prin care afectează fertilitatea?** The second National Congress of EESEI. 21 June 2019. Sinaia. Romania

26.Alina Elena Bordea, Andreea Carp-Velişcu, Mihaela Cosma, **Diana Mihai**, Bogdan Marinescu, Elvira Brătilă. Rolul histeroscopiei în diagnosticul și tratamentul adenomiozei la pacientele infertile. The second National Congress of EESEI. 21 June 2019. Sinaia. Romania

27.Diana-Elena Comandaşu, Ciprian Coroleucă, Cătălin Coroleucă , **Diana Mihai**, Claudia Mehedinţu, Costin Berceanu, Elvira Brătilă. Este ultrasonografia superioară IRM-ului în identificarea leziunilor specifice de endometrioză profundă?. The second National Congress of EESEI. 21 June 2019. Sinaia. Romania

28.Diana-Elena Comandaşu, Ciprian Coroleucă, Cătălin Coroleucă, **Diana Mihai**, Claudia Mehedinţu, Costin Berceanu, Elvira Brătilă. Implicarea celulelor stem în fiziopatologia endometriozei. The second National Congress of EESEI. 21 June 2019. Sinaia. Romania

**29.Diana Mihai**, Andreea Velişcu, Diana Comandaşu, Cătălin Coroleucă, Ciprian Coroleucă, Claudia Mehedinţu, Costin Berceanu, Elvira Brătilă. **Female fertility preservation in patients with musculoskeletal cancer.** The 5<sup>th</sup> International Conference - New Trends on Sensing- Monitoring- Telediagnosis for Life Sciences, NT SMT-LS 2020 –

July 3-4, 2020, Romania. Transilvania University Publishing House . pag. 50. ISBN 978-606-19-1266-7

30.Cristina-Diana Pomana, **Diana Mihai**. **The fate of unused frozen embryos: to destroy, adopt or donate?** Global Virtual Summit on Gynaecology, Obstetrics and womens health. 15-16 April 2021.

31.Cristina-Diana Pomană, Prabhu Chandra Mishra, Elvira Brătilă, **Diana Mihai**. **Soarta embrionilor înghețați: distrugerea, adopția sau donarea lor?** Al III-lea Congres Național al Societății de Endometrioză și Infertilitate Est-Europeană“. Brașov. Romania. 1-3 iulie 2021

**32.Diana Mihai**, Prabhu Chandra Mishra, Cristina Diana Pomană, Elvira Brătilă. **Utilizarea celulelor Stem autologe din Maduva Osoasa Hematopoetica pentru îmbunătățirea fertilității**. Al III-lea Congres Național al Societății de Endometrioză și Infertilitate Est-Europeană“. Brașov. Romania. 1-3 iulie 2021

**33.Diana Mihai**, Andreea Velișcu, Diana Comandașu, Cătălin Coroleucă, Ciprian Coroleucă, Claudia Mehedințu, Costin Berceanu, Elvira Brătilă. **Pregnancy rate after fresh an cryopreserved embriotransfer in patients with AMH<1.1 ng/mL**. Vth edition of The Congress Forum Ginecologia.ro, 23-24 March 2018, Bucharest, România, publicat in revista Ginecologia.ro Anul VI • Nr. 19 (1/2018), pagina 53. DOI: 10.26416/Gine.19.1.2018. ISSN 2344-2301.

<https://www.medichub.ro/reviste-de-specialitate/ginecologia-ro-mid-190-cmsid-65>

### Cărți

**34.Diana Mihai**, Prabhu Mishra Chandra. **Stemcell and Regenerative Medicine in Infertility. A practical guide to training in regenerative medicine**. Bluerose publishers. First published August 2021. ISBN: 978-93-5472-318-6