

12 april 2019

## Frozen Embryo Transfer (FET)

**Forfattere:** Sacha Stormlund, Maria Assens, Christian Frandsen, Lotte Colmorn, Kristine Løssl, Birgit Alsbjerg, Anne-Dorthe Feldthusen, Anja Pinborg (tovholder)

Korrespondance: Anja Pinborg - anja.bisgaard.pinborg@regionh.dk

### Status

Første udkast: Dec. 18

Diskuteret på DFS:

9.3.19

Endelig guideline:

12.4.19

Guideline skal revideres seneste: April 2022

### Indholdsfortegnelse

Indledning	side 2
Definitioner	side 2
Litteratursøgningsmetode	side 3
Resumé af kliniske rekommandationer	side 3
<b>Spørgsmål 1:</b> <i>Hvornår skal man anvende hhv. AC-FET, tNC-FET og mNC-FET til ovulatoriske kvinder?</i>	side 4
<b>Spørgsmål 2:</b> <i>Skal vi foretage tNC-FET eller mNC-FET til kvinder med regelmæssig cyklus?</i>	side 6
<b>Spørgsmål 3:</b> <i>Skal vi give lutealfase-support (progesteron supplement) i tNC-FET og i mNC-FET, og hvor ligger det optimale progesteron niveau i lutealfasen?</i>	side 8
<b>Spørgsmål 4:</b> <i>Hvornår skal vi optø/transferere embryoner i hhv. AC-FET, mNC-FET, tNC-FET? (Timing)</i>	side 11
<b>Spørgsmål 5:</b> <i>Skal vi fryse embryoner på Dag 2/3 (cleavage stadiet) eller Dag 5/6 (blastocyststadiet)?</i>	side 15
<b>Spørgsmål 6:</b> <i>Skal vi foretage embryo vitrifikation eller slow-freeze?</i>	side 16
<b>Andre relevante aspekter:</b> Perinatalt udkomme efter FET	side 18

Konklusion	side 19
Referencer	side 20
Appendiks	side 25

## Indledning

### Hvorfor er denne guideline vigtig?

I dag udgør behandlinger med nedfrosne og optøede embryoner omkring 40% af alle ART behandlinger i Danmark, og andelen af frysebehandlinger har været støt stigende gennem de sidste 5-10 år. Dette skyldes, at tilbagelægning af ét embryon ad gangen er blevet standard samt udvikling af nye ART teknikker som blastocystdyrkning og vitrifikation. Disse to teknikker har betydet en næsten fordobling af overlevelsen på de embryoner, som nedfryses og optøs. Tidligere anvendtes frysebehandlinger primært til kvinder/par med overskydende embryoner af høj kvalitet, som var til overs efter det bedste friske embryon var lagt tilbage i den hormonstimulerede cyklus. I dag anvendes frysebehandling også i ”Freeze-All” cykli kaldet elektiv frozen embryo transfer (eFET), hvor oplægning af embryonet udskydes til en senere cyklus. eFET udføres på flere indikationer, dog primært for at forebygge ovarie overstimulations syndrom (OHSS), men eFET kan f.x. også anvendes ved patologiske tilstande i endometriet, hydrosalpinges, forsinket udvikling af blastocyster (dag 6). eFET anvendes også ved preimplantations genetisk testning for aneuploidi (PGT-A), kromosomal re-arrangering (PGT-SR) og enkelt gen sygdomme (PGT-M), hvor der tages trophektoderm biopsier på Dag 5/6.

### Denne guideline omhandler

Denne guideline omhandler optimal behandling med nedfrosne og optøede embryoner beskrevet i seks PICO spørgsmål, herunder den rette behandlingsprotokol til kvinder med regelmæssig cyklus samt timing af nedfrysning og optøning. Guideline omhandler også effekten af lutealfase support i naturlig FET og en sammenligning af slow-freeze og vitrifikation samt cleavage stadie versus blastocyst nedfrysning.

### Denne guideline omhandler ikke

Guideline omhandler ikke indikationer for freeze-all/eFET

### Definitioner og forkortelser

AC-FET:	Artificial cycle frozen embryo transfer (substitueret frozen embryo transfer)
CPR:	Clinical pregnancy rate (klinisk graviditetsrate)
FET:	Frozen Embryo transfer – FET (behandling med optøede embryoner)
LBR:	Live birth rate
LPS:	Luteal phase support (luteal fase støtte)
mNC-FET:	Modified natural cycle FET (modificeret naturlig cyklus FET)
OPR:	Ongoing pregnancy rate – hjerteblik i uge 8-12 ved ultralydsskanning
tNC-FET:	True natural cycle FET (sandt naturlig cyklus FET)
PICO:	Population, Intervention, Control and Outcome
GRADE:	Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation

## Litteratursøgningsmetode

Litteratursøgning afsluttet d. 01.12.2018.

Vi har søgt i Pubmed og EMBASE fra 1980 til december 2018.

Søgeord/Mesh terms: blastocyst, cleavage stage cryopreservation, embryo transfer, endometrial receptivity, FET, freeze, frozen embryo transfer, implantation, natural cycle, phase transition, progesterone, slow freeze, timing, vitrification, modified natural cycle FET, mNC-FET, AC-FET.

Der er søgt på forskellige kombinationer af ovenstående. Der er ligeledes søgt direkte på relevante artikler, der er henvist til i de læste artikler.

For detaljeret litteratursøgning se venligst appendiks, bilag VII

## Resumé af kliniske rekommandationer

1	Såvel AC-FET, mNC-FET og tNC-FET kan benyttes til kvinder med regelmæssig cyklus.	↑ (svag/betinget anbefaling for)
2	GnRH analog anbefales ikke rutinemæssigt som suppression ved AC-FET.	↑ (svag/betinget anbefaling for)
3	Luteal fase støtte anbefales ikke rutinemæssigt ved hverken mNC-FET eller tNC-FET, men der kan suppleres efter individuel vurdering.	↑ (svag/betinget anbefaling for)
4	Såvel mNC-FET og tNC-FET kan benyttes til kvinder med regelmæssig cyklus.	↑ (svag/betinget anbefaling for)
5	Luteal fase støtte anbefales ikke rutinemæssigt ved tNC-FET, men der kan suppleres efter individuel vurdering.	↑ Svag/betinget anbefaling for
6	Luteal fase støtte anbefales ikke rutinemæssigt ved mNC-FET, men der kan suppleres efter individuel vurdering.	↑ Svag/betinget anbefaling for
7	Progesteron supplement bør ikke startes før tidligst 2 dage efter LH-stigning eller hCG-trigger.	↑ Svag/betinget anbefaling for
8	I FET er der en vis fleksibilitet i timingen	↑↑ Stærk anbefaling for
9	I AC-FET anbefales, at blastocyster (som tøs samme dag som transfereringen) transfereres på 6. progesterondag +/- 1 dag.	↑ Svag/betinget anbefaling for

12 april 2019

10	I AC-FET anbefales, at cleavage stadie embryoner transfereres på den progesterondag, der svarer til embryonets alder + 1 dag, dvs. Dag3 embryoner transfereres på 4. progesterondag etc. <b>Dag2 embryoner tøet dagen før transferering betragtes i denne sammenhæng som Dag3 embryoner, Dag3 embryoner tøet dagen før transferering som Dag4 embryoner.</b>	↑ Svag/betinget anbefaling for
11	I mNC-FET anbefales at transferere embryonet på dagen sv.t. hCG-trigger+2+embryonets alder. (evt. en dag tidligere). <b>I praksis betragtes cleavage stadie embryonets alder oftest som kronologisk alder på nedfrysningsdagen, mens blastocyster betragtes som Dag5 embryoner (uanset om de er frosset Dag5 eller Dag6).</b>	↑ Svag/betinget anbefaling for
12	I tNC-FET anbefales at transferere embryonet på dagen sv.t. positiv LH+1+embryonets alder (evt. en dag tidligere). <b>I praksis betragtes cleavage stadie embryonets alder oftest som alderen på nedfrysningsdagen, mens blastocyster betragtes som Dag5 embryoner (uanset om de er frosset Dag5 eller Dag6).</b>	↑ Svag/betinget anbefaling for
13	Transferering af optøede vitrificerede blastocyster medfører højere fødselsrate end transferering af optøede vitrificerede cleavage stadie embryoner.	↑ Svag eller betinget anbefaling for
14	På blastocyst-stadiet bør vitrifikation foretages på dag 5 fremfor dag 6, hvis blastocyst udviklingsstadiet på dag 5 tillader vitrifikation.	↑↑ Stærk anbefaling for
15	Ved nedfrysning af embryoner anbefales vitrifikation fremfor slow-freeze.	↑↑ Stærk anbefaling for
16	Transferering af friske eller nedfrosne embryoner har forskellige risikoprofiler i forhold til perinatalt udkomme og den ene teknik kan derfor indtil videre ikke foretrækkes fremfor den anden	√ God praksis

### Bemærkninger:

\*Der foreligger ikke evidens for, hvor det optimale progesteron niveau ligger i lutealfasen. – GOD praksis

\*\*I AC-FET bør østrogen behandling max. fortsættes i 28 dage indtil transferering (der henvises til DFS's oocytdonation guideline).

### PICO-spørgsmål 1

**Hvornår skal man anvende hhv. AC-FET, mNC-FET og tNC-FET til ovulatoriske kvinder?**

#### Problemstilling

For at optimere chancen for at opnå graviditet ved oplægning af et nedfrosset, optøet embryon skal endometriets receptivitet optimeres og embryon-endometrie udviklingen synkroniseres bedst muligt. Til kvinder med regelmæssig cyklus på 23-35 dage, som skal have oplagt nedfrosne/optøede embryoner har man tre FET behandlingsregimer. I AC-FET forsøges den endokrine profil fra den naturlige cyklus efterlignet. Alternativt kan anvendes naturlig cyklus (tNC-FET) eller modificeret

12 april 2019

NC-FET (mNC-FET), hvor forberedelse af endometriet forud for implantationen opnås ved den endogene hormon produktion. Timing af ægoplægningen i tNC-FET bestemmes ved regelmæssig undersøgelse af LH niveauet i enten urin eller serum (‘sand’ naturlig cyklus, tNC-FET), hvorfor rettidig timing kan være vanskelig og logistisk udfordrende. For at forbigå denne udfordring kan hCG benyttes som ovulations trigger i mNC-FET), hvilket forudsætter regelmæssig ultralydsvurdering af den dominante follikel for at sikre rettidig timing af hCG administration.

Det er omdiskuteret, om den substituerede cyklus (AC-FET) har negativ indvirkning på endometriets implantationsevne og hvorvidt tNC-FET eller mNC-FET er bedst i forhold til primære effektmål herunder live birth rate, ongoing pregnancy rate og kliniske graviditetsrate.

### Kliniske rekommandationer

		Styrke
1	Såvel AC-FET, mNC-FET og tNC-FET kan benyttes til kvinder med regelmæssig cyklus.	↑ (svag/betinget anbefaling for)
2	GnRH analog anbefales ikke rutinemæssigt som suppression ved AC-FET.	↑ (svag/betinget anbefaling for)
3	Luteal fase støtte anbefales ikke rutinemæssigt ved hverken mNC-FET eller tNC-FET, men der kan suppleres efter individuel vurdering.	↑ (svag/betinget anbefaling for)

### Resumé af evidens

		Evidensgrad
1	Hos ovulatoriske kvinder findes AC-FET, mNC-FET og tNC-FET ligeværdige i forhold til de primære effektmål LBR, OPR og klinisk graviditets rate.	Lav (⊕⊕⊕⊕)
2	Der findes ikke evidens for at anbefale enten AC-FET over mNC-FET eller tNC-FET	Lav (⊕⊕⊕⊕)
3	Der findes ikke evidens for at anbefale suppression med GnRH ved AC-FET	Lav (⊕⊕⊕⊕)
4	Der findes ikke evidens for at anbefale LPS i hverken NC-FET eller tNC-FET	Meget lav (⊕⊕⊕⊕)

### Gennemgang af evidens

De kliniske rekommandationer er baseret på gennemgang af tre metaanalyser (Yarali et., al 2016; Ghobara et al. 2016; Groenewoued et al., 2013), samt et nyere RCT (Agha-Hosseini et al. 2018). Metanalysen fra Yarali et al. inkluderer 8 retrospektive studier vedrørende tNC-FET versus AC-FET samt fem retrospektive studier og et randomiseret klinisk studie (RCT) vedrørende mNC-FET

12 april 2019

versus AC-FET. Meta-analysen fra Groenewoud et al inkluderer 8 retrospektive (Chang et al., 2011; Givens et al., 2009; Hancke et al., 2012; Kawamura et al., 2007; Loh et al., 1999; Morozov et al., 2007; Tomas et al., 2012; Xiao et al., 2011) samt et RCT (Cattoli et al., 1994). En nylig Cochrane analyse inkluderer kun ét RCT af Groenewoud et al. fra 2016. Yarali et al. finder i de poolede analyser af 8762 cykli af tNC-FET versus AC-FET en signifikant forskel i klinisk graviditetsrate med fordel til tNC (OR 1,46, 95% CI 1,07-1,99), men ingen signifikant forskel i levende fødselsrate (OR 1,80, 95% CI 0,92-3,49). For mNC-FET versus AC-FET findes ingen forskel i klinisk graviditetsrate eller levende fødselsrate (hhv. OR 1,11, 95% CI 0,88-1,41 og OR 1,14, 95% CI 0,96-1,37). Groenewoud et al. finder i deres poolede analyser af i alt 8263 cykli ingen forskel i klinisk graviditetsrate (OR 1,2, 95% CI 0,86-1,6) eller i levende fødselsrate (OR 1,2, 95% CI 0,95-1,5). Subgruppe analyse af tNC-FET versus AC-FET og mNC-FET og AC-FET viste ingen signifikant forskel i klinisk eller ongoing graviditetsrate eller levende fødselsrate mellem de to grupper. Lutealfase support (LPS) er anvendt i varierende grad i de inkluderede studier, men ved sub-gruppe analyse fandtes der ingen signifikant forskel i CPR med eller uden LPS (OR 1,1, 95% CI 0,80-1,5 og OR 1,5, 95% CI 1,0-2,3). Dette understøttes af et nyligt RCT, som heller ikke finder nogen forskel i OPR (37,6% vs. 34,1%,  $p > 0,05$ ) eller i LBR (35,3% vs. 31,8%,  $p > 0,05$ ) (Agha-Hosseini et al., 2018). I dette studie benyttes dog en protokol med GnRH suppression i AC-FET gruppen.

De gennemgåede studier er meget heterogene mht. behandlingsprotokoller, herunder brug/ikke brug af luteal fase støtte, timing af transferering samt embryon-stadie ved transferering (cleavage stadie eller blastocyst). Ligeledes er langt hovedparten af studierne af ældre dato og baseret på slow-freeze protokoller frem for vitrifikation, hvor sidstnævnte for nuværende betragtes som den bedste fryse teknik. Alle inkluderede studier er opsummeret i Evidenstabel, appendiks, Bilag I. Under bilag findes ligeledes en gennemgang af studier af særlig interesse, da disse er vurderet som værende bedste evidens til dato. Studier med GnRH suppression vil blive berørt, men ikke gennemgået systematisk, da behandlingen sjældent benyttes i Danmark. GnRH analog benyttes dog i AC-FET hos præ- og perimenopausale kvinder til oocytdonation samt til ældre kvinder med kort cyklus og cystedannelse.

## PICO-spørgsmål 2

**Skal vi foretage tNC-FET eller mNC-FET til kvinder med regelmæssig cyklus?**

### Problemstilling

FET i sand naturlig cyklus (tNC-FET) og modificeret naturlig cyklus (mNC-FET) kan udføres, hvis kvinden har regelmæssig cyklus med interval på 23-35 dage. tNC-FET indebærer monitorering af follikelvækst og ovulation ved UL og daglig måling af LH i perioden op til forventet ovulation. I NC-FET times embryon oplægning efter registrering af LH-stigning; enten ved måling af s-LH angivet som en stigning i  $LH \geq 18$  iu/L eller en 180% stigning i forhold til tidligere måling eller ved positiv u-LH ved ægløsningstest. I modificeret naturlig cyklus (mNC-FET) følges kvinden også i spontan cyklus, men monitorering består oftest udelukkende af UL for follikelvækst fra 2-3 dage før forventet ovulationstidspunkt iht. cykluslængde. Ved præovulatorisk follikelstørrelse på ca. 17 mm induceres ovulation med hCG og embryon oplægning times ud fra dette. Opbygning af det optimale receptive endometrium anses for at være en af de afgørende faktorer for graviditetschancen efter FET og det er diskuteret om administration af hCG i mNC-FET har negativ indvirkning på receptiviteten af endometriet resulterende i reduceret chance for graviditet og fødsel. mNC-FET er ofte beskrevet som et mere patientvenligt samt administrativt lettere og billigere alternativ til tNC-FET, da den er vurderet at medføre færre undersøgelser (blodprøver, urintest, UL) og besøg i klinikken.

12 april 2019

**Kliniske rekommandationer**

		Styrke
1	Såvel mNC-FET og tNC-FET kan benyttes til kvinder med regelmæssig cyklus.	↑ (svag/betinget anbefaling for)

**Resumé af evidens**

		Evidensgrad
1	Der findes ikke evidens for at anbefale enten tNC-FET eller mNC-FET.	Lav ⊕⊕⊖⊖
2	Brug af mNC-FET reducerer omkostninger og antal besøg i den enkelte cyklus sammenlignet med tNC-FET	Meget lav ⊕⊖⊖⊖

**Gennemgang af evidens**

De kliniske rekommandationer er baseret på gennemgang af artikler fra to metaanalyser (Ghobara et al, Cochrane 2016, og Groenewoud et al 2013 inkl corrigendum 2017), samt et nyere retrospektivt kohortestudie (Montagut et al 2016). Meta-analysen af Groenewoud et al. inkluderer tre retrospektive kohortestudier (Weissman et al 2009, Chang et al 2011, og Tomas et al 2011) og to randomiserede studier (Fatemi et al 2010 og Weissman et al 2011), og de samme to randomiserede studier gennemgås i metaanalysen fra Cochrane. Groenewoud et al. finder i poolede analyser af

1965 cykli ingen forskel i ongoing pregnancy rate eller live birth rate ved sammenligning af tNC-FET og mNC-FET (OR 1,02, 95% CI 0,66-1,60 og OR 0,82, 95% CI 0,66-1,08). Lutealfase støtte anvendes i varierende grad i de forskellige studier i meta-analysen, men der findes i en subgruppeanalyse ingen forskel i OPR med/uden lutealfase støtte (OR 0,8, 95% CI 0,61-1,0 og OR 1,1, 95% CI 0,79-1,5). Modsat Cochrane meta-analyserne og Groenewoud finder Montagut i deres retrospektive kohortestudie med 2353 cykli en signifikant højere ongoing pregnancy rate efter tNC-FET både med og uden lutealfase-support (OR 1,67, 95% CI 1,31-2,12 og OR 2,18, 95% CI 1,64-2,90) end ved mNC-FET+ lutealfase støtte, men vurderer at der er en potentielt negativ effekt på OPR ved brug af lutealfase støtte i NC-FET. Alle inkluderede studier er opsummeret i Evidenstabel, appendiks, Bilag II. Under bilag findes ligeledes en gennemgang af studier af særlig interesse, da disse er vurderet som værende bedste evidens til dato.

Guideline omfatter ikke anvendelse af progesteron tilskud i goandotropin stimuleret mNC-FET, da evidensen er yderst begrænset. Det samme gælder supplement med hCG eller GnRH-agonist supplement i lutealfasen.

12 april 2019

### PICO-spørgsmål 3

**Skal vi give lutealfase-support (progesteron supplement) i tNC-FET og i mNC-FET, og hvor ligger det optimale progesteron niveau i lutealfasen?**

#### Problemstilling

I den naturlige cyklus secernerer progesteron fra corpus luteum, dannet enten efter hCG-trigger eller naturlig LH-stigning. Det er alene det endogene progesteron, som er ansvarlig for, at endometriet bliver receptivt, og at progesteron niveauet er højt nok til at supporte graviditeten. Hvis denne progesteronproduktion ikke er høj nok, vil et supplement af eksogent progesteron måske kunne optimere cyklus.

#### Kliniske rekommandationer

		Styrke
1	Luteal fase støtte anbefales ikke rutinemæssigt ved tNC-FET, men der kan suppleres efter individuel vurdering.	↑ Svag/betinget anbefaling for
2	Luteal fase støtte anbefales ikke rutinemæssigt ved mNC-FET, men der kan suppleres efter individuel vurdering.	↑ Svag/betinget anbefaling for
3	Progesteron supplement bør ikke startes før tidligst 2 dage efter LH- stigning eller hCG-trigger.	↑ Svag/betinget anbefaling for
4	Der foreligger ikke evidens for, hvor det optimale progesteron niveau ligger i lutealfasen.	
5	I AC-FET bør østrogen behandling max. fortsættes i 28 dage indtil transferering (der henvises til DFS's oocytdonation guideline).	



**Progesteron supplement i tNC-FET**

Certainty assessment							N <sub>o</sub> of patients		Effect		Certainty	Importance
N <sub>o</sub> of studies	Study design	Risk of bias	Inconsistency	Indirectness	Imprecision	Other considerations	luteal phase progesterone supplementation	no luteal phase support	Relative (95% CI)	Absolute (95% CI)		
Live birth. Bjuresten et al. 2011. (assessed with: RCT)												
1	randomised trials	not serious	not serious	not serious	not serious	strong association all plausible residual confounding would reduce the demonstrated effect	65/219 (29.7%)	44/216 (20.4%)	not estimable		⊕⊕⊕⊕ HIGH	
Clinical pregnancy. Montagut et al. 2016. (assessed with: Retrospective study)												
1	observational studies	serious <sup>a</sup>	not serious	not serious	not serious	strong association all plausible residual confounding would reduce the demonstrated effect	330/828 (39.9%)	235/501 (46.9%)	not estimable		⊕⊕⊕⊖ MODERATE	

CI: Confidence interval

**Explanations**

a. Patients decided their treatment them self.

**Progesteron supplement i mNC-FET**

Certainty assessment							N <sub>o</sub> of patients		Effect		Certainty	Importance
N <sub>o</sub> of studies	Study design	Risk of bias	Inconsistency	Indirectness	Imprecision	Other considerations	luteal phase progesterone supplementation	no luteal phase support	Relative (95% CI)	Absolute (95% CI)		
Ongoing pregnancy. Eftekhari et al. 2012 (assessed with: RCT)												
1	randomised trials	serious <sup>a</sup>	not serious	not serious	very serious	all plausible residual confounding would reduce the demonstrated effect	15/51 (29.4%)	12/51 (23.5%)	not estimable		⊕⊕⊖⊖ LOW	
Ongoing pregnancy. Kyrou et al. 2010 (assessed with: Retrospective study)												
1	observational studies	not serious	not serious	not serious	serious <sup>a</sup>	all plausible residual confounding would reduce the demonstrated effect	51/243 (21.0%)	46/209 (22.0%)	not estimable		⊕⊕⊖⊖ LOW	
Live birth. Kim et al. 2014. (assessed with: Retrospective study)												
1	observational studies	serious <sup>a</sup>	not serious	not serious	serious <sup>a</sup>	strong association all plausible residual confounding would reduce the demonstrated effect	54/145 (37.2%)	20/83 (24.1%)	not estimable		⊕⊕⊖⊖ LOW	
Clinical pregnancy. Schwartz et al. 2018 (assessed with: Retrospective study)												
1	observational studies	very serious <sup>a</sup>	not serious	not serious	very serious <sup>a</sup>	strong association all plausible residual confounding would reduce the demonstrated effect	48/123 (39.0%)	26/108 (24.1%)	not estimable		⊕⊖⊖⊖ VERY LOW	

CI: Confidence interval

**Explanations**

a. Small study.

12 april 2019

### **Gennemgang af evidens for progesteron supplement i tNC-FET**

Kun to studier har undersøgt effekten af progesteron supplement i luteal fasen i tNC-FET. Det ene er et randomiseret studie (Bjuresten *et al.*, 2011), som inkluderer 435 dag-2 transfereringer. Luteal fase regimet var 400 mg vaginal progesteron 2 gange dagligt startende på ET dagen. LBR var 30 % i progesteron-gruppen modsat 20 % i gruppen som ikke fik progesteron tilskud. Det modsatte resultat fandt (Montagut *et al.*, 2016) i en retrospektiv opgørelse af 1329 naturlige cykli, hvoraf 828 blev suppleret med 200 mg vaginal progesteron tre gange dagligt. En af forskellene mellem de to studier er, at Bjuresten *et al.* startede progesteron-behandlingen senere end i studiet fra Montagut *et al.* som behandlede allerede fra dagen efter LH-stigning. Denne forskel kan være af betydning for udkommet, og hvis der suppleres med progesteron, bør behandlingen tidligst indsættes 2-3 dage efter LH-stigning. Der forelægger ingen evidens for valg af progesteron administrationsform eller dosis.

### **Gennemgang af evidens for progesteron supplement i mNC-FET**

Kun fire studier har undersøgt effekten af progesteron supplement i mNC-FET, heraf er kun ét randomiseret (Eftekar *et al.*, 2012), og det inkluderer kun 102 patienter. De finder en ikke signifikant forskel i OPR på 29,4 % efter supplement med progesteron mod 23,5 % ved ingen progesteron supplement. Progesteronbehandlingen bestod i 100 mg IM progesteron startende 36 timer efter hCG trigger og frem til gestationsuge 10.

De tre andre studier er retrospektive (Kim *et al.*, 2014, Kyrou *et al.*, 2010, Schwartz *et al.*, 2018) og resultaterne er divergerende fra ingen til stor effekt. Studierne er desuden heterogene både hvad angår hCG-trigger dosis, frysem metode, embryo udviklingsstadium på ET-dagen og vaginal progesteron dosis. Anbefalingen er, at der kan suppleres med progesteron, startende tidligst 36 timer efter hCG-trigger, da progesteron først stiger 34-48 timer efter ovulationsinduktionen (Andersen *et al.* 1995)

### **Gennemgang af evidens for om serum-progesteron niveauer i lutealfasen har betydning for graviditetsudkomme i AC-FET**

I de seneste år er der kommet flere studier, som viser at et lavt serum-progesteron niveau påvirker graviditetsudkommet negativt under substitueret cyklus med vaginalt adm. progesteron (Alsbjerg *et al.*, 2018, Basnayake *et al.*, 2017, Labarta *et al.*, 2017, Yovich *et al.*, 2015). Studierne målte serum progesteron på forskellige tidspunkter i luteal fasen, men alle efter der er opnået steady-state. To af studierne finder, at det optimale cut-off niveau ligger omkring 35 nmol/l (Alsbjerg *et al.*, 2018, Labarta *et al.*, 2017). Et tredje studie så på live birth rate over og under 50 nmol/l og fandt en signifikant højere live birth rate på 27%, når niveauet var over 50 nmol/l versus 11% ved lavere værdier (Basnayake *et al.*, 2017). Et australsk studie fandt, at det optimale progesteron niveau lå imellem 70-99 nmol/l (Yovich *et al.*, 2015). I dette studie anvendtes et specialfremstillet vaginalt progesteron præparat, som ikke er tilgængeligt i Danmark, og ved anvendelse af standard vaginale præparater i standard dosis er det kun en brøkdel af kvinderne (5% (Labarta *et al.*, 2017)), som vil opnå disse niveauer. På en vaginal standard behandling opnår kun ca. 50% af alle kvinder et serum- niveau over 35 nmol/l (Labarta *et al.* 2018, Alsbjerg *et al.*, 2018).

Hvor det optimale serum progesteron niveau ligger, når der anvendes IM progesteron er uvist. Resultaterne er divergerende (Brady *et al.*, 2014, Kofinas *et al.*, 2015). Der foreligger et dobbeltblindet studie, hvor man har randomiseret mellem 3 forskellige progesteron behandlinger 1) vaginal, 2) vaginal + IM injektion hver 3. dag, og 3) IM dagligt (Devine *et al.*, 2018). Der var signifikant lavere ongoing pregnancy rate i gruppen med vaginal progesteron behandling sammenlignet med de to grupper, hvor der blev givet IM progesteron. Studiet opgiver ingen serumprogesteronværdier, men andre studier viser at man opnår højere værdier ved IM behandling.

12 april 2019

Der er stor intra-individuel variation på, hvor godt progesteron absorberes fra vagina målt på serum niveauer, men der foreligger ingen undersøgelser, som måler niveauer i endometriet. Ydermere har

vaginale progesteron præparater forskellig farmakokinetik mht. både steady-state og halveringstid. Under substitueret cyklus foreligger der ikke evidens for, at et vaginalt præparat er bedre end et andet, ej heller for hvilket behandlingsregime, der bør anvendes. Et enkelt dansk retrospektivt studie fandt dog, at fordobling af vaginalt adm. progesteron (90 mg) fra én til to gange dagligt øgede LBR fra 8,7% til 20,5% (Alsbjerg *et al.*, 2013).

Et nyt studie (Cédrin-Durnerin *et al.* 2019) rapporterede at en vaginal dosisændring fra 600 mg dagligt til 1200 mg dagligt ikke øgede serumprogesteronniveauet. Tydende på at vagina har et maksimalt absorptionspotentiale og nås dette plateau stiger serumniveauet ikke trods dosis øgning.

Der foreligger ikke konsensus for, på hvilken behandlingsdag serum progesteron skal måles ej heller i forhold til administrationstidspunktet for progesteron.

Der henvises til Evidenstabel, appendiks, Bilag III

#### **PICO-spørgsmål 4**

**Hvornår skal vi optø/transferere embryoner i AC-FET, mNC-FET og tNC-FET?**

#### **Problemstilling**

Optimal timing skal sikre, at embryoet bedst muligt kan interagere med et receptivt endometrium, når implantationsprocessen er forestående. En forudsætning er en sekventiel endometriepåvirkning med østradiol (follikulærfase) og efterfølgende progesteron (lutealfase). Rimelig 'synkron' udvikling og interaktion mellem embryo og endometrium formodes at give optimal forudsætning for implantation og videreudvikling af den tidlige graviditet, men der er en vis fleksibilitet, hvilket fremgår af litteraturen nedenfor. Især embryoets kronologiske alder, dvs. tiden fra ægudtagning til nedfrysning samt fra optøning til transferering, embryoets udviklingsmæssige alder (er det hurtigere eller langsommere 'end gennemsnittet'), og varigheden af progesteronvirkning af endometriet på transfereringstidspunktet menes at have betydning. Men i overraskende mange publikationer fremgår et eller flere af disse punkter ikke specifikt eller inkluderer et bredere interval. Og kun ganske få randomiserede studier omfatter timing i FET cykli. Rekommandationerne i dette PICO-spørgsmål er i overensstemmelse med anbefalinger i et nyligt publiceret review (Mackens *et al.* 2017, jf. appendiks, bilag IV), da bedre evidens endnu ikke findes. Der er bestemt fortsat behov for studier vedrørende timing i FET, og et sådant multicenterstudium vedrørende optimal timing i mNC er startet i Danmark primo 2019. Endvidere mangler vi viden om, hvorvidt tøj dagen før transferering skulle medføre transferering en dag senere i forhold til progesteronpåvirkning af endometriet end sammenlignet med tøj-trans samme dag. Hensyntagen til (cleavage stadie) embryoets udviklingsmæssige alder frem for kronologiske alder vil i fremtiden muligvis vise sig at være en fordel, men evidensen mangler. Blastocyster vitrificeres i dag på Dag5 eller Dag6 netop på baggrund af udviklingsstadie, så de langsomme fryses en dag senere, og da de alle times på samme måde i FET cykli, korrigeres der på den måde indirekte for udviklingstempo.

### Kliniske rekommandationer

		Styrke
1	I FET er der en vis fleksibilitet i timingen	↑↑ Stærk anbefaling for
2	I AC-FET anbefales, at blastocyster (som tøs samme dag som transfereringen) transfereres på 6. progesterondag +/- 1 dag.	↑ Svag/betinget anbefaling for
3	I AC-FET anbefales, at cleavage stadie embryoner transfereres på den progesterondag, der svarer til embryonets alder + 1 dag, dvs. Dag3 embryoner transfereres på 4. progesterondag etc. <b>Dag2 embryoner tøet dagen før transferering betragtes i denne sammenhæng som Dag3 embryoner, Dag3 embryoner tøet dagen før transferering som Dag4 embryoner.</b>	↑ Svag/betinget anbefaling for
4	I mNC-FET anbefales at transferere embryoet på dagen sv.t. hCG-trigger+2+embryonets alder. (evt. en dag tidligere). <b>I praksis betragtes cleavage stadie embryonets alder oftest som kronologisk alder på nedfrysningdagen, mens blastocyster betragtes som Dag5 embryoner (uanset om de er frosset Dag5 eller Dag6).</b>	↑ Svag/betinget anbefaling for
5	I tNC-FET anbefales at transferere embryoet på dagen sv.t. positiv LH+1+embryonets alder (evt. en dag tidligere). <b>I praksis betragtes cleavage stadie embryonets alder oftest som alderen på nedfrysningdagen, mens blastocyster betragtes som Dag5 embryoner (uanset om de er frosset Dag5 eller Dag6).</b>	↑ Svag/betinget anbefaling for

### Resumé af evidens

		Evidensgrad
1	I AC-FET er der en vis fleksibilitet i timingen	Moderat (⊕⊕⊕⊖)
2	I AC-FET anbefales, at blastocyster (som tøs samme dag som transfereringen) transfereres på 6. progesterondag (evt. +/- 1 dag)	Moderat (⊕⊕⊕⊖)
3	I AC-FET anbefales, at cleavage stadie embryoner transfereres på den progesterondag, der svarer til embryonets alder + 1 dag, dvs. Dag3 embryoner transfereres på 4. progesterondag etc. <b>Dag2 embryoner tøet dagen før transferering betragtes i denne sammenhæng som Dag3 embryoner, Dag3 embryoner tøet dagen før transferering som Dag4 embryoner.</b>	Moderat (⊕⊕⊕⊖)

12 april 2019

4	<p>I mNC FET (med hCG trigger) anbefales at transferere embryoet på dagen sv.t. hCG trigger+2+embryonets alder (evt. en dag tidligere).</p> <p><b>I praksis betragtes cleavage stadie embryoets alder oftest som kronologisk alder på nedfrysningsdagen, mens blastocyster betragtes som Dag5 embryoer (uanset om de er frosset Dag5 eller Dag6).</b></p>	Lav (⊕⊕⊖⊖)
5	<p>I tNC FET anbefales at transferere embryoet på dagen sv.t. posLH+1+embryonets alder (evt. en dag tidligere).</p> <p><b>I praksis betragtes cleavage stadie embryoets alder oftest som kronologisk alder på nedfrysningsdagen, mens blastocyster betragtes som Dag5 embryoer (uanset om de er frosset Dag5 eller Dag6).</b></p>	Lav (⊕⊕⊖⊖)

Der henvises til appendiks, bilag V.

## Gennemgang af evidens

### Timing i AC-FET

De kliniske rekommandationer er baseret på følgende artikler:

**De Vijver et al. 2017** (RCT, n=288) sammenligner samme dags t0+transferering af vitrificerede blastocyster på 5. vs 7. progesterondag (Utrogestan vaginalt 200 mg x 3 dgl). Der fandtes ikke signifikant forskel i live birth rate (33,1% vs 26,7%) eller levedygtig graviditetsrate GA 7 (34,5% vs 28,8%), og man fandt samme rate af tidlige graviditetstab (40,2% vs. 40,0%). Studiet havde ikke styrke til at detektere små forskelle i graviditetsrater.

**De Vijver et al. 2016** (RCT, n=275) sammenligner transferering af Dag4 embryoer (embryoner vitrificeret Dag3 og t0et *dagen før* transferering) på henholdsvis 3. og 5. progesterondag (Utrogestan vaginalt 200 mg x 3 dgl). Live birth rate (17,4% vs 21,9%) og levedygtig graviditetsrate GA 7 (18,8% vs 27,0%) var ikke signifikant forskellig ved transferering på 3. vs 5. progesterondag, men der var signifikant flere tidlige graviditetstab efter transferering på 3. vs. 5. progesterondag (55,2% vs 36,2%). Studiet havde ikke styrke til at detektere små forskelle i graviditetsrater.

**Ding et al. 2007** (RCT, n=49) sammenligner samme dags t0+transferering af blastocyster på 6. vs 7. progesterondag uden signifikante forskelle i følgende rapporterede outcome: Graviditetsrate 60,9% vs 53,8%, Ongoing pregnancy rate 56,5% vs 50,0%. Studiet havde ikke styrke til at detektere små forskelle i graviditetsrater. NB! Studiet kan ikke fremsøges i PubMed, men indgår sammen med studiet af **Escribá et al. 2006** (nedenfor) som de eneste to studier i relation til timing i Cochrane review **Glujovsky et al. 2010**, hvorfor det findes relevant at referere det her.

*Da der kun findes få studier vedrørende timing i AC-FET, nævnes her yderligere to studier med oplægning af friske embryoer efter ægdonation i AC, da de underbygger en vis fleksibilitet i timingen.*

**Escribá et al. 2006** (RCT, n=263): Recipienter til ægdonation blev randomiseret til transferering af friske Dag3 embryoer på 3., 4. eller 5. progesterondag (800 mg/dag vaginalt). Transferering på 3. progesterondag gav samme levedygtige graviditetsrater (GA > 20 uger) som ved transferering på 4. eller 5. progesterondag hhv. 46,6%, 43,3% og 36,6%. Der var færre biokemiske graviditeter, når transferering på 3. progesterondag blev sammenlignet med transferering på 5. progesterondag (2,3% vs 12,9%).

12 april 2019

**Prapas et al. 1998** (retrospektivt studium, n=192): Transferering af friske ægdonerede Dag2 embryoner (4-8 celler) til recipienter på 2., 3., 4., 5. eller 6. progesterondag (100 mg x 3 dgl. vaginalt eller 100 mg intramuskulært), hvor der fandtes højest klinisk graviditetsrate ved transferering på 4. og 5. progesterondag, lavere rater ved transferering på 3. og 6. progesterondag og 0 graviditeter ved transferering på 2. progesterondag (dog kun i alt 18 transfereringer på 2. progesterondag)

Da evidensen er yderst sparsom, er det ikke muligt at se på subgruppeanalyser vedr. progesteron og administrationsvej.

### **Timing i tNC-FET og mNC-FET**

Der foreligger ikke randomiserede studier vedrørende timing af FET i tNC og mNC. Praksis er udsprunget fra viden om endokrinologi/fysiologi i naturlig cyklus samt delvist ekstrapoleret fra data vedrørende intrauterin insemination og gennemgås udmærket i et nyligt publiceret review (Mackens et al. 2017), hvortil der henvises. Mackens et al. anbefaler i) Tilbagelægning af Dag2 embryoner 2 dage efter forventet ovulation, dvs. 3. dag efter spontan LH peak og 4. dag efter hCG trigger; ii) Tilbagelægning af Dag3 embryoner 3. dag efter forventet ovulation, dvs. 4. dag efter spontan LH peak og 5. dag efter hCG trigger; og iii) Tilbagelægning af blastocyster 5 dage efter forventet ovulation (6. dag efter spontan LH peak og 7. dag efter hCG trigger). Irani et al. (2017) har i en retrospektiv undersøgelse defineret LH peak på 2 måder, som henholdsvis første målte serum LH-koncentration > 17 IU/L eller et døgn senere, og fandt i subgruppeanalyse en signifikant højere live birth rate (og implantationsrate) ved blastocyst transferering 5 dage efter den tidlige sammenlignet med sene definition (anføres ikke om blastocysterne blev tøet samme dag som transfereringen). Dette kunne indikere, at man måske hellere skal transferere til den tidlige end til den sene side, hvis man er i tvivl. Det vides ikke, om embryoner, som er tøet dagen før transfereringen times bedre, hvis man lægger 1 dag til embryonets kronologiske alder, dvs. timer et Dag2 embryon som et Dag3 embryon, hvis det tøs dagen før transferering etc. Imod dette kan tale en formodet (om end ukendt) forsinkelse i embryonudviklingen ved fryse-tø teknikken.

I naturlig cyklus stiger progesteron lidt (3,2-9,5 nmol/L) 12 timer til 3 døgn forud for ovulationen, hvorefter der ses en kraftig stigning umiddelbart efter ovulation med dannelse af det gule legeme (9,5-31,8 nmol/L). Den fysiologiske og kliniske betydning af den tidlige progesteronstigning er usikker og skyldes LH stimuleret granulosaacelle produktion. Litwicka et al. har i mNC-FET fundet, at den kliniske graviditetsrate efter euploid blastocyst tøm-trans på 7. dag efter 'hCG triggerdag' var signifikant lavere, hvis LH  $\geq$  13 IU/L på hCG trigger dagen. Dette kunne være et udtryk for, at den endogene progesteronproduktion fra LH peak kan påvirke endometriet, der kunne tænkes at være mere fremskredent end ved lavere LH værdier på triggerdagen. Omvendt finder Groenewoud et al. ikke, at LH  $\geq$  10 IU/L på triggerdag påvirker graviditetsraten i et studium, hvor Dag5 embryoner (Dag4 embryoner tøet dagen før transferering) transfereres på 6. dag efter hCG trigger (Groenewoud et al 2012). Der transfereres altså en dag tidligere end i studiet fra Litwicka et al., hvilket kunne forklare de modstridende fund. Endnu et studium fra Groenewoud et al. finder ikke negativ indflydelse af LH  $\geq$  10 IU/L eller progesteron  $\geq$  4,6 nmol/l på triggerdag (Groenewoud et al. 2017), men her foretages hCG-trigger og transferering på flere forskellige dage uden at der tages højde for det i analyserne, hvilket gør konklusionerne mindre brugbare.

12 april 2019

**PICO-spørgsmål 5****Embyoner nedfrosset Dag 2/3 (cleavage stadie) eller Dag 5/6 (Blastocyst stadiet) og graviditetschance i FET****Problemstilling**

Hvornår er det i forhold til chancen for graviditet og fødsel bedst af nedfryse embryoner på Dag 2/3 (cleavage stadie) eller på Dag 5/6 (blastocyststadiet)?

**Kliniske rekommandationer**

		Styrke
1	Transferering af optøede vitrificerede blastocyster medfører højere fødselsrate end transferering af optøede vitrificerede cleavage stadie embryoner.	↑ Svag eller betinget anbefaling for
2	På blastocyst-stadiet bør vitrifikation foretages på dag 5 fremfor dag 6, hvis blastocyst udviklingsstadiet på dag 5 tillader vitrifikation.	↑↑ Stærk anbefaling for

**Resumé af evidens**

		Evidensgrad
1	Evidens for at vitrification på blastocyst-stadiet kan medføre højere fødselsrate end vitrification på cleavage-stadiet	Lav (⊕⊕⊖⊖)
2	Evidens for at vitrification på blastocyst-stadiet kan medføre lavere rate af ektopiske graviditeter end vitrification på cleavage-stadiet	Meget lav (⊕⊖⊖⊖)
3	Evidens for at vitrification på blastocyst-stadiet optimalt bør foretages på 5. dagen frem for på 6. dagen, hvis blastocystens udviklingsstadium gør den egent til nedfrysning på 5.dagen	Moderat (⊕⊕⊕⊖)

**Gennemgang af evidens**

I få og meget heterogene studier undersøges forskellen i fødselsrate og risikoen for ektopisk graviditet efter vitrifikation på dag 2/3 (cleavage stadie) vs. dag 5/6 (blastocyst-stadie). De inkluderede studier finder signifikant højere fødselsrater ved vitrification dag 5/6 i forhold til dag 2/3 (Chen et al., 2015; Zacà et al., 2018). Begge studier baseres på heterogene grupper, som inkluderer både IVF/ICSI og transferering i både naturlig og stimuleret FET. Det specificeres i Zaca et al. desuden ikke hvilken dag, der vitrificeres på. Studier, der undersøger risikoen for ektopisk graviditet, er få og for små til, at der statistisk kan konkluderes sikkert på baggrund af disse (Du et al., 2017; Fang et al., 2015). Begge studier finder dog en trend mod, at den største risiko for ektopisk graviditet ses efter vitrification på dag 3 sammenlignet med hhv. dag 5 og 6. Formentlig fordi embryonet ved tidlig transferering opholder sig længere tid i uterin-kaviteten og dermed har

12 april 2019

større risiko for at transporteres ud i salpinges.

Fire studier undersøger specifikt vitrification på dag 5 vs. dag 6 (Haas et al., 2016; Kaye et al., 2017; Tubbing et al., 2018; Wang et al., 2016). Tubbing et al. og Haas et al. finder, at vitrification på dag 5 medfører signifikant højere fødselsrate end efter vitrification på dag 6 efter justerede regressionsanalyser og stratificering på blastocyst kvalitet. Kaye et al. har lav styrke og finder ingen signifikant forskel i fødselsraten efter vitrification på dag 5 og 6. Wang *et al.*, 2016 undersøger neonatale udfald, ligeledes i meget små grupper, og finder ingen signifikant forskel mellem vitrifikation dag 5 vs. 6.

Flere studier evidensgraderes lavt, blandt andet på grund af heterogenitet indenfor nedfrysning og transferering, hvilket medfører meget små grupper og i flere studier risiko for confounding. Studier er ikke medtaget i denne gennemgang, hvis resultater for vitrification og slow freeze ikke kan adskilles, eller studiet alene undersøger resultater efter slow-freeze, hvilket hovedsageligt inkludere ældre studier fra før 2010.

### PICO-spørgsmål 6

Skal vi foretage embryo vitrifikation eller slow-freeze?

#### Problemstilling

Ved FET kan embryonerne fryses enten med den nye ”lyn-hurtige” nedfrysningsteknik ”vitrifikation” eller med den traditionelle metode ”slow-freeze”. Hvilken en af de to metoder giver højest graviditets- og fødselsrate?

#### Kliniske rekommandationer

	Styrke
Ved nedfrysning af embryoner anbefales vitrifikation fremfor slow-freeze.	↑↑ Stærk anbefaling for

#### Resuméafvidens

	Evidensgrad
Højere OPR ved transferering af vitrificeret sammenlignet med slow-freeze blastocyst	Moderat ⊕⊕⊕⊖
Højere fødselsrate ved transferering af vitrificeret sammenlignet med slow-freeze blastocyst	Moderat ⊕⊕⊕⊖



12 april 2019

## Gennemgang af evidens

Rienzi et al, 2016 (Rienzi et al. 2017) (systematisk review og metaanalyse): Vitrifikation er den foretrukne cryopreservation af alle udviklingsstadier fra modne oocytter til embryoner og blastocyster. Ved at anvende denne teknik øges overlevelsesraten sammenlignet med slow freeze, hvilket har medført en betydelig forbedring i klinisk outcome i FET cykli. Ved meta-analyse af RCT studier var der signifikant højere klinisk graviditetsrate per transfereret embryon ved vitrifikation (RR 1.51 95% CI 1.03-2.23)

Debrock et al, 2015 (Debrock et al. 2015) (RCT, 307 patienter, 480 slow freeze embryoner og 495 vitrificerede embryoner): Fødselsrate per optøet embryon var signifikant højere efter vitrifikation (16.1% (35/217)) sammenlignet med slow freeze (5.0% (10/200));  $p < 0.0022$ ; RR 3.23; 95% CI 1.64-6.35) på Dag 3 embryoner. Desuden var implantationsraten per optøet embryon højere ved vitrifikation (20.7% (45/217)) end ved slow freeze (7.5% (15/200))  $p < 0.0012$ ; RR 2.76; 95% CI 1.59-4.81).

Li et al, 2014 (Li et al. 2014), (populationsbaseret kohorte studie; 31 622 cykli): Retrospektiv gennemgang af friske og FET cykli ved henholdsvis slow freeze og vitrifikation af blastocyster. Ved sammenligning af vitrificerede blastocyst transfereringer med slow freeze blastocyst transfereringer var der signifikant højere rate af kliniske graviditeter (henholdsvis 32.7 og 23.8%; adjusted relative risk (ARR): 1.38, 95% CI:1.32-1.45) og højere fødselsrate (ARR: 1.41, 95% CI 1.34-1.49) blandt vitificerede blastocyst transfereringer. I gruppen af vitrificerede blastocyster var der også signifikant højere rate af kliniske graviditeter pr tøj-cyklus sammenlignet med slow freeze blastocyster (henholdsvis 31.3% og 21.5%; ARR: 1.43, 95% CI: 1.37-1.50). Sandsynligheden for fødsel af levende barn per tøj-cyklus var 47% højere for vitrificerede blastocyster sammenlignet med slow freeze blastocyster (ARR 1.47, 95% CI: 1.39-1.55). Blandt vitrificerede blastocyst cykli resulterede 24.8% i fødsel af levende barn, signifikant højere end 17.7% efter slow freeze transfereringer.

Kaye et al, 2017 (Kaye et al. 2017) (retrospektiv kohortestudie, 468 cykli): Ved sammenligning af dag 5/6 blastocyster ved henholdsvis slow freeze og vitrifikation var der ingen forskel i ultralydsverificeret graviditet og ongoing pregnancy rater. Dog var der signifikant højere ongoing pregnancy rate ved dag 6 blastocyster ved vitrifikation vs. slow freeze (62.7% vs 39.1%;  $p = 0.004$ ) men ingen signifikant forskel ved dag 5 blastocyster.

Kaartinen et al, 2015 (Kaartinen et al. 2016) (retrospektiv kohortestudie, 871 cykli): Ved gennemgang af dag 3 embryoner henholdsvis ved slow freeze og vitrifikation var der ingen signifikant forskel i kliniske graviditeter eller fødselsrater. Dog var der blandt single embryo transfers højere rate af spontan abort ved slow freeze transfereringer sammenlignet med de vitrificerede embryoner (29% vs 15.7%,  $p = 0.021$ ). For at opnå fødsel af et levende barn skulle 7.4 vitrificerede embryoner warmes sammenlignet med 11.9 slow freeze-embryoner.

Richter et al, 2016 (Richter et al. 2016) (retrospektiv kohortestudie, 4862 cykli): Fødselsraten per transferering var højere for vitrificerede blastocyster sammenlignet med slow-freeze blastocyster (dag 5 cryopreserveret: 47% vs. 35%; dag 6 cryopreserveret: 46% vs. 24%).

12 april 2019

## Andre relevante aspekter Perinatalt udkomme efter FET

### Problemstilling

Under FET sker der en manipulation af embryonerne i form af nedfrysning og optøning, som udover selve fryseprocedurerne bl.a. omfatter, at embryonerne udsættes for kryoprotektanter i høje doser samt for andre dyrkningsmedier. Kan disse procedurer have betydning for implantationen, embryonudviklingen og placentadannelsen og i sidste ende for det perinatale udkomme hos børnene?

### Kliniske rekommandationer

	Styrke
Transferering af friske eller nedfrosne embryoner har forskellige risikoprofiler i forhold til perinatalt udkomme og den ene teknik kan derfor indtil videre ikke foretrækkes fremfor den anden	√ God praksis

### Resumé af evidens

		Evidensgrad
1	Singletons født efter FET har større risiko for at være large-for-gestational age (LGA) sammenlignet med singletons født efter frisk embryon transferering og singletons født efter naturlig konception	Høj ⊕⊕⊕⊕
2	Singletons født efter FET har højere risiko for makrosomi sammenlignet med singletons født efter frisk embryon transferering og singletons født efter naturlig konception	Høj ⊕⊕⊕⊕
3	Singletons født efter FET har mindre risiko for præterm fødsel sammenlignet med singletons født efter frisk embryon transferering	Moderat ⊕⊕⊕⊖
4	I singleton graviditeter efter FET er der højere risiko for præeklampsi sammenlignet med efter frisk embryon transferering og efter naturlig konception	Høj ⊕⊕⊕⊕

12 april 2019

## Gennemgang af evidens

Hvor singletons født efter transferering af et friskt embryo har større risiko for præterm fødsel, lav fødselsvægt og for at være small-for-gestational age, har singletons født efter FET større risiko for at være large-for-gestational age (LGA) og for macrosomia og fødselsvægt over 4500 gram (Pinborg et al. 2014, Wennerholm et al., 2016). En stor nordisk registerundersøgelse baseret på CoNARTaS (Committee of Nordic ART and Safety) har endvidere vist en større risiko for præeklampsi og perinatal mortalitet (Wennerholm et al., 2016), men også en stor kinesisk randomiseret undersøgelse med 1500 patienter med PCOS viste højere risiko for præeklampsi og højere fødselsvægt i eFET gruppen (Chen et al., 2016). I en meta-analyse fandt man, at risikoen for LGA i FET var 1,5 gange øget (adjusted odds ratio (AOR) 1,50 (95% CI 1,44–1,57  $p < 0.001$ )) sammenlignet med oplægning med friske embryoner og 1,3 gange øget (AOR 1,31 (95% CI 1,20–1,43)) sammenlignet med naturlig konception (NC) (Berntsen and Pinborg, 2018). Endvidere fandt man en 1,7 gange øget risiko for makrosomi i FET sammenlignet med frisk transferering (AOR 1,71 (95% CI 1,59–1,83)) og 1,4 gang øget risiko sammenlignet med naturlig konception (AOR 1,42 (95% CI 1,17–1,71)) (Berntsen and Pinborg, 2018).

Meget få undersøgelser har set på langtidsfølger af konception efter nedfrysning og optøning af embryoner, men en dansk national registerundersøgelse har vist samme karaktergennemsnit efter 9.klasses afgangseksamen hos singletons født efter hhv. nedfrosne/optøede embryoner og frisk embryo transferering (Spangmose et al., 2018). Ingen undersøgelser har indtil nu set på kardio-vaskulære effektmål eller risiko for diabetes hos børn født efter FET.

## Konklusion

Baseret på den eksisterende litteratur er de tre FET-protokoller (AC-FET, mNC-FET og tNC-FET) ligeværdige mht. graviditets- og fødselsrater til ovulatoriske kvinder. Timing af optøning og transferering er vigtig i FET-protokoller, omend der synes at være en vis grad af fleksibilitet. Lutealfase støtte i mNC-FET og tNC-FET kan anvendes, men der er endnu utilstrækkelig evidens for om at lutealfase støtte forbedrer graviditets- og fødselsrater. Nedfrysning og efterfølgende transferering af blastocyster giver bedre outcome per transferering (ikke vist i kumulerede rater). Vitrifikation er at foretrække fremfor slow-freeze. Især på området omkring FET-protokoller er litteraturen meget sparsom og forskning på området er ønskværdig.

## Referencer

- Agha-Hosseini M, Hashemi L, Aleyasin A, Ghasemi M, Sarvi F, Shabani Nashtaei M, Khodarahmian M. Natural cycle versus artificial cycle in frozen-thawed embryo transfer: A randomized prospective trial. 2018 Mar;15(1):12-17
- Alsbjerg B, Polyzos NP, Elbaek HO, Povlsen BB, Andersen CY, Humaidan P. Increasing vaginal progesterone gel supplementation after frozen-thawed embryo transfer significantly increases the delivery rate. *Reprod Biomed Online* 2013;26:133-137.
- Alsbjerg B, Thomsen L, Elbaek HO, Laursen R, Povlsen BB, Haahr T, Humaidan P. Progesterone levels on pregnancy test day after hormone replacement therapy-cryopreserved embryo transfer cycles and related reproductive outcomes. *Reprod Biomed Online* 2018;.
- Andersen AG, Als-Nielsen B, Hornnes PJ, Franch Andersen L. Time interval from human chorionic gonadotrophin (HCG) injection to follicular rupture. *Hum Reprod.* 1995 Dec;10(12):3202-5.
- Basnayake SK, Volovsky M, Rombauts L, Osianlis T, Vollenhoven B, Healey M. Progesterone concentrations and dosage with frozen embryo transfers - What's best? *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2017.
- Berntsen S, Pinborg A. Large for gestational age and macrosomia in singletons born after frozen/thawed embryo transfer (FET) in assisted reproductive technology (ART). *Birth Defects Res.* 2018 May 1;110(8):630-643. doi: 10.1002/bdr2.1219. Review
- Bjuresten K, Landgren BM, Hovatta O, Stavreus-Evers A. Luteal phase progesterone increases live birth rate after frozen embryo transfer. *Fertil Steril* 2011;95:534-537.
- Brady PC, Kaser DJ, Ginsburg ES, Ashby RK, Missmer SA, Correia KF, Racowsky C. Serum progesterone concentration on day of embryo transfer in donor oocyte cycles. *J Assist Reprod Genet* 2014;31:569-575.
- Cattoli M. A randomized prospective study on cryopreserved-thawed embryo transfer: natural versus hormone replacement cycles. Abstracts of the 10th Annual Meeting of the ESHRE Brussels 1994;356:139. NB! Aldrig publiceret  
Cédric-Durnerin, I., Isnard, T., Mahdjoub, S., Sonigo, C., Seroka, A., Comtet, M., Herbemont, C., Sifer, C., Grynberg, M., Serum progesterone concentration and live birth rate in frozen-thawed embryo transfers with hormonally prepared endometrium. *Reprod. Biomed. Online.* 2019
- Chang EM, Han JE, Kim YS, Lyu SW, Lee WS, Yoon TK. Use of the natural cycle and vitrification thawed blastocyst transfer results in better in-vitro fertilization outcomes : cycle regimens of vitrification thawed blastocyst transfer. *J Assist Reprod Genet.* 2011 Apr;28(4):369-74.
- Chen, H., Lv, J.Q., Wu, X.M., Xiao, Y., Xi, H.T., Zhu, C.F., Huang, J.Y., Zhang, F., Ge, H.S., 2015. Blastocyst-stage versus cleavage-stage embryo transfer in the first frozen cycles of OHSS-risk patients who deferred from fresh embryo transfer. *Gynecol. Endocrinol.* 31, 698–701.
- Chen ZJ, Shi Y, Sun Y, Zhang B, Liang X, Cao Y, Yang J, Liu J, Wei D, Weng N, Tian L, Hao C, Yang D, Zhou F, Shi J, Xu Y, Li J, Yan J, Qin Y, Zhao H, Zhang H, Legro RS. Fresh versus Frozen Embryos for Infertility in the Polycystic Ovary Syndrome. *N Engl J Med.* 2016 Aug 11;375(6):523-33.

12 april 2019

- Debrock, S, K Peeraer, E Fernandez Gallardo, D De Neubourg, C Spiessens, and T M D’Hooghe. 2015. “Vitrification of Cleavage Stage Day 3 Embryos Results in Higher Live Birth Rates than Conventional Slow Freezing: A RCT.” *Human Reproduction (Oxford, England)* 30 (8): 1820–30.
- Devine, K., Richter, K.S., Widra, E.A., McKeeby, J.L., 2018. Vitrified blastocyst transfer cycles with the use of only vaginal progesterone replacement with Endometrin have inferior ongoing pregnancy rates: results from the planned interim analysis of a three-arm randomized controlled noninferiority trial. *Fertility and sterility* 109, 266–275.
- Du, T., Chen, H., Fu, R., Chen, Q., Wang, Y., Mol, B.W., Kuang, Y., Lyu, Q., 2017. Comparison of ectopic pregnancy risk among transfers of embryos vitrified on day 3, day 5, and day 6. *Fertil. Steril.* 108, 108–116.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.05.027>
- Eftekhari M, Rahmani E, Eftekhari T. Effect of adding human chorionic gonadotropin to the endometrial preparation protocol in frozen embryo transfer cycles. *Int J Fertil Steril* 2012;**6**:175-178.
- Escribá M-J, Bellver J, Bosch E, Sánchez M, Pellicer A, Remohí J. Delaying the initiation of progesterone supplementation until the day of fertilization does not compromise cycle outcome in patients receiving donated oocytes: a randomized study. *Fertil Steril* 2006;**86**:92–97.
- Fang, C., Huang, R., Wei, L.-N., Jia, L., 2015. Frozen-thawed day 5 blastocyst transfer is associated with a lower risk of ectopic pregnancy than day 3 transfer and fresh transfer. *Fertil. Steril.* 103, 655–61.e3.
- Fatemi et al. Cryopreserved-thawed human embryo transfer: spontaneous natural cycle is superior to human chorionic gonadotropin-induced natural cycle. *Fertil Steril.* 2010 Nov;**94**(6):2054-8.
- Ghobara T, Gelbaya TA, Ayeleke RO. Cycle regimens for frozen-thawed embryo transfer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;**7**:CD003414.
- Givens CR, Markun LC, Ryan IP, Chenette PE, Herbert CM, Schriock ED. Outcomes of natural cycles versus programmed cycles for 1677 frozen–thawed embryo transfers. *Reprod Biomed Online* 2009;**19**:380–384
- Glujovsky D, Pesce R, Fiszbañ G, Sueldo C, Hart RJ, Ciapponi A. Endometrial preparation for women undergoing embryo transfer with frozen embryos or embryos derived from donor oocytes. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010 Jan 20;**(1)**:CD006359. doi: 10.1002/14651858
- Groenewoud ER, Kollen BJ, Macklon NS, Cohlen BJ. Spontaneous LH surges prior to HCG administration in unstimulated-cycle frozen-thawed embryo transfer do not influence pregnancy rates. *Reprod Biomed Online.* 2012;**24**:191-6
- Groenewoud ER, Cantineau AE, Kollen BJ, Macklon NS, Cohlen BJ. What is the optimal means of preparing the endometrium in frozen-thawed embryo transfer cycles? A systematic review and meta-analysis. *Human reproduction update.* 2013;**19**(5):458-70.
- Groenewoud ER, Cohlen BJ, Al-Oraiby A, Brinkhuis EA, Broekmans FJ, de Bruin JP, et al. A randomized controlled, non-inferiority trial of modified natural versus artificial cycle for cryo-thawed embryo transfer. *Human reproduction (Oxford, England).* 2016;**31**(7):1483-92
- Groenewoud ER, Macklon NS, Cohlen BJ; ANTARCTICA Study Group. The effect of elevated progesterone levels before HCG triggering in modified natural cycle frozen-thawed embryo transfer cycles. *Reprod Biomed Online.* 2017;**34**:546-554
- Haas, J., Meriano, J., Laskin, C., Bentov, Y., Barzilay, E., Casper, R.F., Cadesky, K., 2016. Clinical pregnancy rate following frozen embryo transfer is higher with blastocysts vitrified on day 5 than on day 6. *J. Assist. Reprod. Genet.* 33, 1553–1557.
- Hancke K, More S, Kreienberg R, Weiss JM. Patients undergoing frozen–thawed embryo transfer have similar live birth rates in spontaneous and artificial cycles. *J Assist Reprod*

12 april 2019

Genet 2012;29:403–407

- Irani M, Robles A, Gunnala V, Reichman D, and Rosenwaks Z. Optimal parameters for determining the LH surge in natural cycle frozen-thawed embryo transfers. *J Ovarian Res.* 2017 Oct 16;10(1):70
- Kaartinen, N., K. Kananen, H. Huhtala, S. Keränen, and H. Tinkanen. 2016. “The Freezing Method of Cleavage Stage Embryos Has No Impact on the Weight of the Newborns.” *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 33 (3): 393–99.
- Kaye, Leah, Erica Anspach Will, Alison Bartolucci, John Nulsen, Claudio Benadiva, and Lawrence Engmann. 2017. “Pregnancy Rates for Single Embryo Transfer (SET) of Day 5 and Day 6 Blastocysts after Cryopreservation by Vitrification and Slow Freeze.” *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 34 (7): 913–19.
- Kawamura T. Clinical outcomes of two different endometrial preparation methods for cryopreserved embryo transfer in patients with a normal menstrual cycle. *Reproductive medicine and Biology* 2007;6:53–57
- Kim CH, Lee YJ, Lee KH, Kwon SK, Kim SH, Chae HD, Kang BM. The effect of luteal phase progesterone supplementation on natural frozen-thawed embryo transfer cycles. *Obstet Gynecol Sci* 2014;57:291-296.
- Kofinas JD, Blakemore J, McCulloh DH, Grifo J. Serum progesterone levels greater than 20 ng/dl on day of embryo transfer are associated with lower live birth and higher pregnancy loss rates. *J Assist Reprod Genet* 2015;32:1395-1399.
- Kyrou D, Fatemi HM, Popovic-Todorovic B, Van den Abbeel E, Camus M, Devroey P. Vaginal progesterone supplementation has no effect on ongoing pregnancy rate in hCG-induced natural frozen-thawed embryo transfer cycles. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010;150:175-179.
- Labarta E, Mariani G, Holtmann N, Celada P, Remohi J, Bosch E. Low serum progesterone on the day of embryo transfer is associated with a diminished ongoing pregnancy rate in oocyte donation cycles after artificial endometrial preparation: a prospective study. *Hum Reprod* 2017;32:2437-2442.
- Labarta E, Mariani G, Paoletti S et al. Impact of serum Progesterone levels on the day of embryo transfer in artificial endometrial preparation cycles on the ongoing pregnancy rate. An interim analysis. Poster, ASRM 2018.
- Levron J, Yerushalmi GM, Brengauz M, Gat I, Katorza E. Comparison between two protocols for thawed embryo transfer: natural cycle versus exogenous hormone replacement. *Gynecol Endocrinol.* 2014 Jul;30(7):494-7.
- Li, Z, Y A Wang, W Ledger, D H Edgar, and E A Sullivan. 2014. “Clinical Outcomes Following Cryopreservation of Blastocysts by Vitrification or Slow Freezing: A Population-Based Cohort Study.” *Human Reproduction (Oxford, England)* 29 (12): 2794–2801.
- Litwicka K, Mencacci C, Arrivi C, Varricchio MT, Caragia A, Minasi MG, Greco E. HCG administration after endogenous LH rise negatively influences pregnancy rate in modified natural cycle for frozen-thawed euploid blastocyst transfer: a pilot study. *J Assist Reprod Genet.* 2018;35:449-455
- Loh SK, Leong NK. Factors affecting success in an embryo cryopreservation programme. *Ann Acad Med Singapore* 1999;28:260–265.
- Mackens S, Santos-Ribeiro S, van de Vijver A, Racca A, Van Landuyt L, Tournaye H, Blockeel C. Frozen embryo transfer: a review on the optimal endometrial preparation and timing. *Hum Reprod.* 2017;32:2234-2242
- Montagut M, Santos-Ribeiro S, De Vos M, Polyzos NP, Drakopoulos P, Mackens S, et al. Frozen-thawed embryo transfers in natural cycles with spontaneous or induced ovulation: the search for the best protocol continues. *Human reproduction (Oxford, England).* 2016;31(12):2803-10.

12 april 2019

- Morozov V, Ruman J, Kenigsberg D, Moodie G, Brenner S. Natural cycle cryo-thaw transfer may improve pregnancy outcome. *J Assist Reprod Genet* 2007;24:119–123.
- Mounce G, McVeigh E, Turner K, Child TJ. Randomized, controlled pilot trial of natural versus hormone replacement therapy cycles in frozen embryo replacement in vitro fertilization. *Fertility and sterility*. 2015;104(4):915-20.e1.
- Orvieto R, Feldman N, Lantsberg D, Manela D, Zilberberg E, Haas J. Natural cycle frozen-thawed embryo transfer-can we improve cycle outcome? *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2016;33(5):611-5.
- Pinborg A, Henningsen AA, Loft A, Malchau SS, Forman J, Andersen AN. Large baby syndrome in singletons born after frozen embryo transfer (FET): is it due to maternal factors or the cryotechnique? *Hum Reprod*. 2014 Mar;29(3):618-27.
- Prapas Y, Prapas N, Jones EE, Duleba AJ, Olive DL, Chatziparasidou A, Vlassis G. The window for embryo transfer in oocyte donation cycles depends on the duration of progesterone therapy. *Hum Reprod*. 1998;13:720-3.
- Richter, Kevin S., Daniella K. Ginsburg, Sharon K. Shipley, Josh Lim, Michael J. Tucker, James R. Graham, and Michael J. Levy. 2016. “Factors Associated with Birth Outcomes from Cryopreserved Blastocysts: Experience from 4,597 Autologous Transfers of 7,597 Cryopreserved Blastocysts.” *Fertility and Sterility* 106 (2): 354–362.e2.
- Rienzi, Laura, Clarisa Gracia, Roberta Maggiulli, Andrew R. LaBarbera, Daniel J. Kaser, Filippo M. Ubaldi, Sheryl Vanderpoel, and Catherine Racowsky. 2017. “Oocyte, Embryo and Blastocyst Cryopreservation in ART: Systematic Review and Meta-Analysis Comparing Slow-Freezing versus Vitrification to Produce Evidence for the Development of Global Guidance.” *Human Reproduction Update* 23 (2): 139–55.
- Schwartz E, Bernard L, Ohl J, Bettahar K, Rongieres C, Lichtblau I, Pirrello O. Luteal phase progesterone supplementation following induced natural cycle frozen embryo transfer: A retrospective cohort study. *J Gynecol Obstet Hum Reprod* 2018.
- Spangmose AL, Malchau SS, Henningsen AA, Forman JL, Rasmussen S, Loft A, Schmidt L, Pinborg A. Academic performance in adolescents aged 15-16 years born after Frozen Embryo Transfer compared with fresh embryo transfer: a nationwide registry-based cohort study. *BJOG*. 2018 Oct 1
- Tomax C, Alsbjerg B, Martikainen H, Humaidan P. Pregnancy loss after frozen-embryo transfer—a comparison of three protocols. *Fertil Steril* 2012;98:1165–1169
- Tubbing, A., Shaw-Jackson, C., Ameye, L., Colin, J., Rozenberg, S., Autin, C., 2018. Increased live births after day 5 versus day 6 transfers of vitrified-warmed blastocysts. *J. Assist. Reprod. Genet.* 35, 417–424. <https://doi.org/10.1007/s10815-017-1097-x>
- Van de Vijver A, Polyzos NP, Van Landuyt L, Mackens S, Stoop D, Camus M, De Vos M, Tournaye H, Blockeel C. What is the optimal duration of progesterone administration before transferring a vitrified-warmed cleavage stage embryo? A randomized controlled trial. *Hum Reprod*. 2016;31:1097-104
- Van de Vijver A, Drakopoulos P, Polyzos NP, Van Landuyt L, Mackens S, Santos-Ribeiro S, Vloeberghs V, Tournaye H, Blockeel C. Vitrified-warmed blastocyst transfer on the 5th or 7th day of progesterone supplementation in an artificial cycle: a randomised controlled trial. *Gynecol Endocrinol*. 2017;33:783-786
- Wang, X., Zhen, J., Sun, Z., Yu, Q., Deng, C., Zhou, Y., Wang, H., He, F., 2016. Effects of fifth day (D5) or sixth day (D6) frozen-thawed blastocysts on neonatal outcomes. *Zygote* 24, 684–691.
- Xiao Z, Zhou X, Xu W, Yang J, Xie Q. Natural cycle is superior to hormone replacement therapy cycle for vitrified-preserved frozen–thawed embryo transfer. *Syst Biol Reprod Med* 2011;58:107–112

12 april 2019

- Yarali H, Polat M, Mumusoglu S, Yarali I, Bozdog G. Preparation of endometrium for frozen embryo replacement cycles: a systematic review and metaanalysis. *J Assist Reprod Genet* 2016;33:1287–304.
- Yovich JL, Conceicao JL, Stanger JD, Hinchliffe PM, Keane KN. Mid-luteal serum progesterone concentrations govern implantation rates for cryopreserved embryo transfers conducted under hormone replacement. *Reprod Biomed Online* 2015;31:180-191.
- Zacà, C., Bazzocchi, A., Pennetta, F., Bonu, M.A., Coticchio, G., Borini, A., 2018. Cumulative live birth rate in freeze-all cycles is comparable to that of a conventional embryo transfer policy at the cleavage stage but superior at the blastocyst stage. *Fertil. Steril.* 110, 703–709. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.05.012>



12 april 2019

**APPENDIX**

**Bilag 1. PICO 1 - Evidenstabel**

Forfattere	Materiale	Sammenligning	Effekt mål
Groenewoud et al., 2016 RCT (ANTARCTICA)	959 ovulatoriske kvinder	mNC-FET (n=495) vs. AC wo-s FET + LPS (n=464)	LBR 14,5% vs. 12,1%* OR 0,8 (0,53-1,25) OPR 14,5% vs. 13,2%* OR 0,8 (0,52-1,22)
Groenewoud et al., Review 2013 + Corrigendum 2017	1 RCT + 8 retrospektive kohortestudier 11.080cykli (ws og wos)	AC vs. NC/mNC-FET	OPR: (OR 1,02: 0,66- 1,60) LBR: (OR 0,82: 0,66- 1,08)
Chang et al., 2011 Retrospektiv kohorte	Ovulatoriske kvinder	NC-FET+LPS (n=310) mNC-FET+LPS (n=134) AC-FET+LPS (n=204)	
Loh et al., 1999 Retrospektiv kohorte	Ovulatoriske kvinder	tNC (n=51)/ AC wo-s (n=161)	LBR: tNC>AC wo-s, p=0.073
Morozov et al., 2007 Retrospektiv kohorte	Ovulatoriske kvinder	tNC (n=68)+ LPS/ AC wo-s (174) + LPS	CP: tNC > AC wo-s, p=0.0298
Xiao et al., 2011 Retrospektiv kohorte	Ovulatoriske og anovulatoriske kvinder	tNC (n= 1168) + LPS/ AC wo-s (n=2858) + LPS	Ingen forskel i klinisk graviditetsrate
Tomas et al., 2012 Retrospektiv kohorte	Ovulatoriske og anovulatoriske kvinder	tNC (n = 1168) + LPS mNC (n = 444) AC wo-s (n=2858) + LPS	Ingen forskel i klinisk graviditetsrate eller levende fødselsrate
Veleva et al., 2013 Retrospektiv kohorte	Ovulatoriske og anovulatoriske kvinder	tNC (n=1276)/AC- wo-s (n =312)	LBR: tNC >AC wo-s, P < 0.0001
Levron et al., 2014 Retrospektiv kohorte	Ikke anført	tNC (n= 798)/AC wo-s (n=437)	CP: tNC > AC wo-s, p < 0.02
Agha-Hosseini et al., 2018 RCT	Ovulatoriske kvinder	mNC-FET (w=85) AC-FET ws (w=82)	LBR: 35,5% vs 31,8%* OPR: 37,6% vs 34,1%*
Mounce et al, 2015 Randomiseret	Ovulatoriske kvinder	NC- FET (n=80) AC-FET (n=79)	LBR: 26,3% (NC) vs 31,7% (AC)* OPR: 30%(NC) vs 32,9% (AC)*
Orvieto et al., 2016 Retrospektiv kohorte	Ovulatoriske og anovulatoriske kvinder	NC-early(N=59)+ LPS NC-late (+hCG og GnRHα) (n=74)+LPS AC	NC late vs. early: OPR 46 vs. 20%, p<0.01 AC (early vs. late) No differences

12 april 2019

		early(n=113)+LPS AC late (n=54)+LPS	NC vs. AC: OPR: 46(NC) vs. 17 %(AC) (p<0.01)
Ghobara et al., 2017 Cochrane review	tNC-FET vs. AC-FET: 1 RCT mNC-FET vs. AC-FET: 1 RCT	tNC-FET vs. AC-FET (n=21) mNC-FET vs. AC- FET (n=959)	<i>NC FET vs. AC-FET</i> No studies on OPR or LBR <i>mNC-FET vs. AC-FET</i> OPR: (OR 1,21, 95% CI 0,80 to 1,83) LBR: (OR 1,34, 95% CI 0,88 to 2,05)
Kawamura et al., 2007 Retrospektivt	Ovulatoriske kvinder	mNC (n=720) + LPS vs. AC wo-s (n=136) + LPS	Ingen forskel i klinisk graviditetsrate
Givens et al., 2009 Retrospektivt	Ovulatoriske og anovulatoriske kvinder	mNC (n=862) + LPS vs. AC wo-s (n=205) + LPS	Klinisk graviditetsrate: AC wo-s-> mNC, p=0.011
Cattoli et al., 1994 RCT – data fra abstract. Aldrig publiseret.	Ovulatoriske kvinder	-	-
Hancke et al., 2012 Retrospektiv kohorte	Ovulatoriske og anovulatoriske kvinder	mNC-FET (n=148) + LPS/ AC wo-s (n=55) + LPS	Ingen forskel i klinisk graviditetsrate eller levende fødselsrate
Yarali et al, 2016 Systematisk review and meta- analyse	tNC-FET vs. AC-FET: 8 retrospektive studier mNC-FET vs. AC-FET: 1 RCT/5 retrospektive	tNC-FET vs. AC-FET ws (n=8762 cykli)  tNC-FET vs. AC-FET ws (n=2933 cykli)  mNC-FET vs. AC- FET ws (n=6074 cykli)  mNC-FET vs. AC- FET ws (n=1174 cykli)	klinisk graviditetsrate ( OR 1,46; 95 % CI 1,07-1,99) LBR (OR 1,80; 95 % CI 0,92-3,49)  klinisk graviditetsrate ( OR 0,83; 95 % CI 0,69-1,00) LBR (OR 0,73; 95 % CI 0,56-0,98 til fordel for AC)  klinisk graviditetsrate ( OR 1,11; 95 % CI 0,88-1,41) LBR (OR 1,14; 95 % CI 0,96-1,37 til fordel for AC)  klinisk graviditetsrate ( OR 1,50; 95 % CI 1,12-2,00) LBR (OR 1,24; 95 % CI 0,76-2,03 til fordel for AC)

**BILAG 2.PICO 2- Evidenstabel**

Forfattere	Materiale	Sammenligning	Effektmål
Groenewoud et al Review 2013 + corrigendum 2017	2 RCTs + 3 retrospektive kohortestudier, 1965 cykli	mNC FET (602) vs NC-FET (1479) +/- lutealfasesupport	Live birth rate: OR 1,02(95%CI 0,66-1,60) Ongoing pregnancy rate: OR 0,82(95%CI 0,66-1,08)
Ghobara et al., 2017 Cochrane review	2 RCTS, 184 kvinder	mNC-FET (93) vs. NC FET (91)	Live Bith Rate: 0,55 (95%CI 0,16-1,93) Ongoing pregnancy rate: OR 2,44(95%CI 1,03-5,76)
Tomas et al., 2012 retrospektivt	4470 cykli	NC with LPS (n=1168) NC with hCG (n=444) Substituted (n=2858)	Live Birth Rate: 23,5 % (NC+hCG) and 20,7 % (NC +LPS), 20,1% (Subst.),
Montagut et al., 2016 Observational	2353 cykli, 1642 kvinder	mNC-FET +LPS (1024c, 788w) vs. NC-FET +LPS (828c, 665w) NC-FET (501c, 397w)	Ongoing pregnancy rate: OR 1,67(95%CI 1,31-2,12) OR 2,18 (95%CI 1,64-2,90)
Fatemi et al., 2010, RCT	124 kvinder	mNC-FET (63) vs NC- FET (61)	Ongoing Pregnancy Rate: 31% vs 14% (study was stopped)
Chang et al., Korea 2011 retrospective	611 kvinder, 648 cykli	NC-FET+LPS (310w) vs. mNC-FET+LPS (134w) AC-FET+LPS (204)	Ongoing Pregnancy Rate: 38% (OR 0,7 (95%CI 0,44- 1,1)) 27% (OR 0,6 (95%CI 0,4-0,9))
Weissman et al 2011 RCT	60 kvinder	NC-FET (n=30) mNC-FET (n=30)	Live birth Rate 33,3% vs 18,5% (non-significant)

**Bilag 3. PICO 3**

**TABLE 3 OVERVIEW OF STUDIES DESCRIBING THE OPTIMAL SERUM PROGESTERONE LEVELS IN ARTIFICIAL FROZEN-THAWED EMBRYO TRANSFER CYCLES**

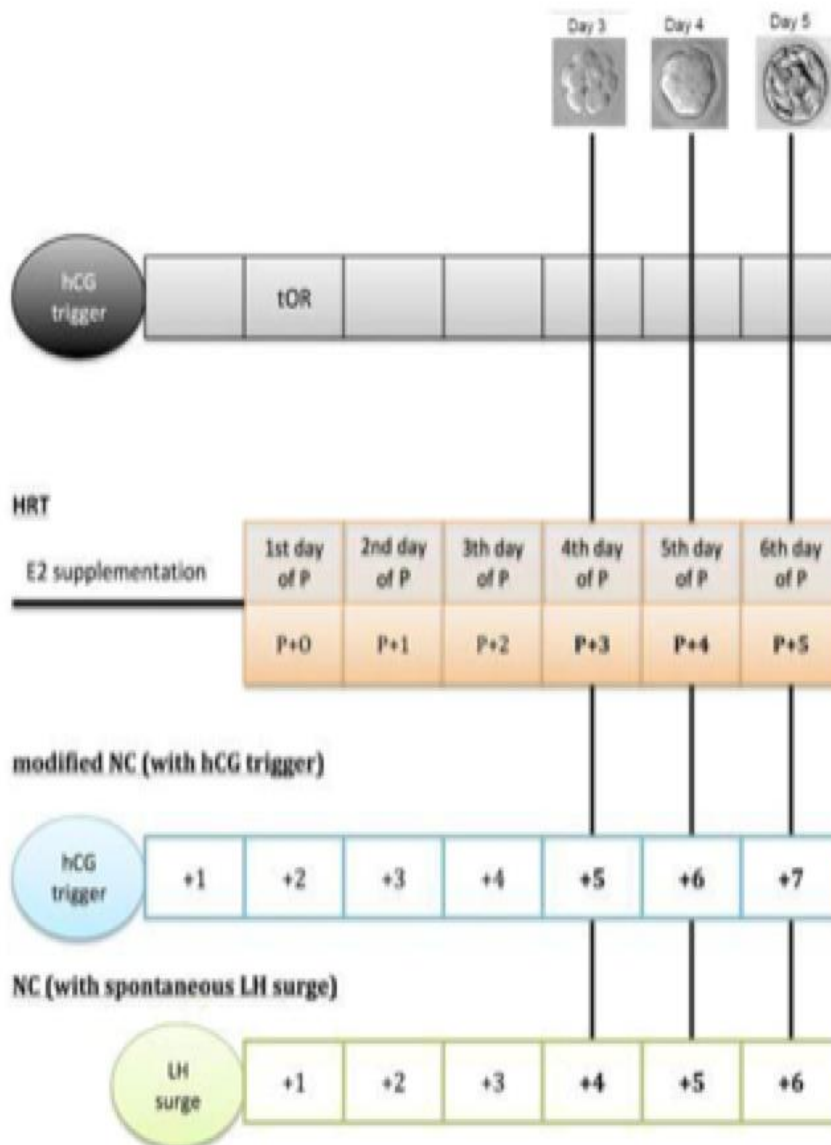
Reference	n	Administration of progesterone	Progesterone dose	Optimal progesterone level/progesterone test day	Site/no. for transfer/embryos	Outcome, % (high progesterone group vs low progesterone group)	Study design
<i>Brady et al. (2014)</i> J Assist Reprod Genet	229	IM	50–100 mg × 1	>20 ng/ml (64 nmol/l*)/ 5th progesterone day	Single centre/1 to > 3 fresh donor embryos transferred day 3	LBR (65 vs 51)	Retrospective
<i>Kofinas et al. (2015)</i> J Assist Reprod Genet	213	IM	50–75 mg × 1	<20 ng/ml (64 nmol/l*)/ 2nd progesterone day	Single centre/SET/ vitrification, blastocyst, euploid, autologous	LBR (49 vs 65)	Retrospective
<i>Yovich et al. (2015)</i> RBM Online	529	Vaginal	400 mg × 3 (in-house produced pessaries)	70–99 nmol/l/6th progesterone day	Single centre/SET/ vitrification, blastocyst, autologous + donor	LBR (50 vs < 41)	Retrospective
<i>Labarta et al. (2017)</i> Hum Reprod	211	Vaginal	400 mg × 2 (Utrogestan)	>11 ng/ml (> 35 nmol/l*)/ 6th progesterone day	Single centre/SET or DET/vitrification, blastocyst, donor	OPR (53 vs 43)	Prospective
<i>Basnayake et al. (2017)</i> Aust N Z J Obstet Gynaecol	1580	Vaginal	Various	>50 nmol/l/16th progesterone day	Multicentre/SET/cleavage or blastocyst, slow freeze or vitrification, donor + autologous	LBR (27 vs 11)	Retrospective
<i>Alsbjerg et al. (2018)</i>	244	Vaginal	90 mg × 3 (Crinone)	≥35 nmol/l /9th–11th progesterone day	Single centre/SET or DET/blastocyst, vitrification, autologous	OPR (51 vs 38)	Retrospective

DET = double embryo transfer; IM = intramuscular; LBR = live birth rate; OPR = ongoing pregnancy rate; SET = single embryo transfer.

\* Progesterone SI conversion factor: nmol/l = 3.18 ng/ml.

(Alsbjerg et al., RBMOnline 2018)

### Bilag IV PICO 4



Clinical practice proposal for embryo transfer timing in the different preparation methods. tOR, theoretical oocyte retrieval, E2, estradiol, P, progesterone, NC, natural cycle. Ref.: [Mackens et al. Hum Reprod 2017](#)

April 12 2019

Forfattere	Materiale	Sammenligning	Effekt mål
Zaca et al., 2018 Retrospective cohort study	564 IVF cycles, 129 of these freeze-all.	Cleavage-stage vs. blastocyst-stage. Day of vitrification not specified. Heterogeneity in selection for freeze-all, IVF/ICSI and FET in natural or supplemented cycle	Cumulative live birth rate (95 CI) – freeze-all only: Cleavage stage: 84 cycles 46.4 (35.7–57.1) p=0.89 Blastocyst stage: 45 cycles 66.7 (52.9–80.5) p<.05
Chen et al., 2015. Prospective cohort study	70 cleavage stage, 92 blastocysts. First IVF/ICSI cycle, fresh cancelled due to OHSS risk. Endometrial preparation homogeneous.	Blastocyst-stage vs. cleavage-stage. First frozen cycles of OHSS-risk patients.	Blastocyst transfer results in significant higher clinical pregnancy rates (US 4 weeks after positive pregnancy test), % (47.83 versus 31.43), implantation rates, % (31.44 versus 18.67), and live birth rates, % (40.21 versus 27.14). P-values not specified. Differences in multiple pregnancy rates, % (34.09 versus 36.36) and abortion rates, % (22.73 versus 13.64) were non-significant.
Fang et al., 2015. Retrospective cohort study	3183 patients: 3340 embryo transfers (1994 fresh, 1346 vitrified).	Intrauterine and ectopic pregnancy rates among vitrification day 3, 5 and 6. Fresh day 3 and day 5 were also included in the study.	Intrauterine and ectopic pregnancy rates by day of vitrification, n (%): Vitrification day 3: 254 (98.1), 5 (1.9). Day 5:710 (99.7), 2 (0.3). Day 6: 373 (99.5), 2 (0.5). 3vs 5 and 3 vs 6: p=0.45.
Du et al., 2017. Retrospective cohort study	10736 pregnancies after 23730 FET cycles. Large heterogeneity in treatment regimens. Study spans 2003-2015. Slow freeze cycles excluded.	Ectopic pregnancy rates by treatment characteristics – here solely day of vitrification included.	Risk of ectopic pregnancy (pregnancy as denominator), adjusted OR (95 CI): Vitrification day 6: ref. Day 5: 2.88 (1.05-7.87). Day 3: 5.31 (2.36-11.95). Number of ectopic pregnancies by day of vitrification, n: Day 3: 286. Day 5: 11. Day 6:6.
<b>Day 5 vs 6</b>			
Wang et al., 2016. Cohorte study	1109 patients (in treatment) + 515 patients (already delivered). Very heterogenic cohort of patients. Small numbers.	Neonatal outcomes (gestational age, BW, length, defects) after vitrification day 5 vs day 6.	The D5 group had 210 newborns, the gestational age, birth weight and birth length were 266.5 ± 14.5 days, 3387.4 ± 584.8 g and 50.1 ± 2.7 cm, exhibiting no significant difference from the D6 group (268.5 ± 12.6 days, 3379.7 ± 540.8 g and 50.1 ± 2.1 cm).
Tubbing et al., 2018 Retrospective cohort study	178 day 5, 149 day 6. 88% natural cycles.	Clinical pregnancy and live birth rates after vitrification day 5 vs day 6. Numbers for ectopic pregnancy and risk of miscarriage very small.	Clinical pregnancy rates: Day 5, 43% vs day 6, 23%. P<0.001. Live birth rates: Day 5, 34% vs day 6, 16%. P<0.001.
Haas et al., 2016 Retrospective cohort study	791 vitrification cycles: 537 day 5, 254 day 6.	Implantation rate, ongoing pregnancy and clinical pregnancy rate after vitrification day 5 vs Day 6.	Clinical pregnancy rate (45 vs. 33 %, p = 0.002) and ongoing pregnancy rate (41 vs. 28 %, p < 0.001) were higher after vitrification day 5. And continued to be so when only good quality blastocysts were compared: clinical pregnancy rate (50 vs. 34 %, p = <0.001) and ongoing pregnancy rate (47 vs. 29 %, p < 0.001).
Kaye et al., 2017. Retrospective cohort study	468 SET transfer cycles for 392 women younger than age 38: 261 day 5 (91 after vitrification) and 207 day 6 (51 after vitrification)		No significant differences were found. Small statistical groups. Clinical pregnancy rates: Day 5, 69.2% vs day 6 72.5%. P=0.68. Live birth rates: Day 5, 62.6% v day 6, 62.7%. P=0.99. Clinical pregnancy loss: Day 5, 11.1% vs day 6, 16.2%. P=0.55.

**BILAG V -**

April 12 2019

## Bilag VI. Artikel gennemgang for PICO 1 og 2

### PICO 1

#### Groenewoud et al. 2016 (ANTARTICA)

(RCT, non-inferiority, n = 959): Randomisering til mNC-FET eller AC-FET med LPS (Lutinus eller Utrogestan 200 mg x 3). Både cleavage stage og blastocyst transfering. Udelukkende slow-freeze teknik. Meget lave levende fødselsrater efter mNC-FET var 11.5% versus 8.8% i AC-FET med en forskel på 2.7% til fordel for mNC-FET (95% CI -0.065 til 0.012; P =0.171). Ingen signifikante forskelle i klinisk og ongoing graviditetsrate fundet. I AC-FET blev signifikant flere cykli aflyst sammenlignet med mNC-FET. Relativt høj spontan abort rate på 41,3 %.

#### Agha-Hosseini et al. 2018

(RCT, n=167): Randomisering til enten mNC-FET eller AC-FET (Buserelin, Progynova og Cyclogest). Man fandt ingen signifikant forskel mellem de to grupper i ongoing graviditetsrate (37.6% vs. 34.1%, p>0.05), ej heller i levende fødselsrate eller abortrate per cyklus (35.3% vs. 31.8%, p>0.05; and 1.2% vs. 1.2%, p>0.05, respektivt).

#### Ghobara et al. 2017

Cochrane review (Kun prospektive studier inddraget)

*Naturlig cyklus FET versus substitueret cyklus:* Ingen studier på levende fødselsrate, abort eller ongoing graviditetsrate. Ingen forskel i multiple graviditets rate.

*mNC-FET (hCG trigger) versus substitueret FET:* Ingen forskel i levende fødselsrate (OR 1.34, 95% CI 0.88 til 2.05) eller ongoing graviditets rate (OR 1.21, 95% CI 0.80 til 1.83). Ingen data om abort risiko eller flerfoldsgraviditeter.

*mNC-FET (hCG trigger) versus substitueret cyklus + GnRHa suppression:* Ingen forskel mellem de to grupper på levende fødselsrate (OR 1.11, 95% CI 0.66 til 1.87) samt abort risiko (0.74, 95% CI 0.25 til 2.19). Ingen data på ongoing graviditets rater eller flerfoldsgraviditeter

#### Yarali et al. 2016

(Systematisk review and meta-analysis)

*NC versus substitueret cyklus uden suppression:* 8 retrospektive studier med 8762 cykli var inkluderet og man fandt en signifikant forskel i klinisk graviditetsrate til fordel for naturlig cyklus (OR 1.46, 95% CI 1.07-1.99; syv studier), hvilket ikke kunne findes for levende fødselsrate (OR 1.80, 95 % CI 0.92-3.49; tre studier).

*Naturlig cyklus versus substitueret cyklus med suppression:* 6 studier, 1 RCT, 1 quasi-RCT og 4 retrospektive studier med i alt 2933 cykli; Man fandt en signifikant forskel med højeste levende fødselsrate i substitueret cyklus med suppression (OR 0.73, 95% CI 0.56-0.95); fire studier), men ingen signifikant forskel i klinisk graviditetsrate.

*Modificeret naturlig cyklus FET (mNC-FET) versus substitueret cyklus uden suppression:* 6 studier, et RCT og 5 retrospektive studier med i alt 6074 cykli viste ingen signifikant forskel mellem disse protokoller i forhold til klinisk graviditetsrate (OR 1.11, 95% CI 0.88-1.41) og levende fødselsrate (OR 1.14, 95% CI 0.96-1.37).

*Modificeret naturlig cyklus FET (mNC-FET) versus substitueret cyklus med suppression:* 2 retrospektive studier med i alt 1174 ET med luteal fase support i mNC-FET grupperne. Klinisk graviditetsrate (OR 1.50, 95 % CI 1.12-2.00) og levende fødselsrate (OR 1.24, 95% CI 0.76-2.03).

April 12 2019

### **Groenewould et al. 2013**

(Systematisk review and meta-analyse)

Naturlig cyklus versus substitueret cyklus (+/- GnRH): 12 retrospektive studier: 10.637 cykli og 2 RCT: 415 cykli. I syv af studierne anvendtes LPS. Der fandtes ingen signifikant forskel i klinisk graviditets rate (OR 1.2, 95 % CI 0.86-1.6), ongoing graviditetsrate (OR 1.2, 95% CI 0.95-1.5) eller levende fødselsrate (OR 1.2, 95 % CI 0.93-1.6). Subgruppe analyse af naturlig cyklus FET ("true" NC-FET) versus substitueret cyklus og modificeret naturlig cyklus FET (mNC-FET) og substitueret cyklus viste ingen signifikant forskel i klinisk/ongoing graviditetsrate og levende fødselsrate. Stratificering på tillæg/fravalg af GnRH i AC-FET vs. NC-FET havde ingen betydning for effektmål.

### **PICO 2**

#### **Montagut et al. 2016**

(observationelt studie; 2353 cykli hos 1642 kvinder): Transferering af dag 3 embryoner eller blastocyster efter naturlig cyklus (NC-FET), naturlig cyklus med lutealfase support (NC-FET + LPS) eller modificeret naturlig cyklus med LPS (mNC-FET + LPS) efter hCG trigger. LPS blev administreret som 200mg vaginal progesteron enten dagen efter LH stigning i NC-FET (LH≈18IU/L og 180% stigning ift forudgående måling) eller 2 dage efter hCG-administration (ved ledende follikel 17mm) ved mNC-FET. I NC-FET blev dag 3 embryoner optøet dag 4 efter LH stigning og transfereret dag 5, mens blastocyster blev tørt og transfereret dag 6 efter LH stigning. I mNC-FET blev dag 3 embryoner tørt dag 5 efter hCG trigger og transfereret dag 6, mens blastocyster blev optøet og transfereret dag 7 efter hCG trigger. Man fandt en *signifikant højere ongoing pregnancy rate* (UL verificeret GS ved GA 7 uger) efter NC-FET+ LPS: OR1.67 (1.31-2.12) og NC-FET: OR 2.18 (1.64-2.90) end ved mNC-FET+ LPS.

#### **Chang et al. 2011**

(retrospektivt follow up, 648 cykli hos 611 kvinder): Kun blastocyster optøet dagen før transferering (18-24t). NC-FET: tæt kontrol af serum LH stigning og ovulation ved TvUL. Transferering dag 4 eller 5 efter ovulation. mNC-FET: hCG ved ledende follikel >20mm og endometrium ≥ 8mm, transfereringstidspunkt ukendt. Begge grupper fik LPS i form af vaginal progesteron (600mg/dag). Der fandtes *ingen forskel* i ongoing pregnancy rate (UL-verificeret efter GA 14) mellem NC- og mNC-FET (38.1%).

#### **Tomás et al. 2012**

(retrospektivt follow up, 4470 cykli): NC-FET: UL fra CD 10-12, samt dgl urin LH. ET planlagt 3-5 dage efter LH surge. Dag 2 embryoner tørt dagen før trans. LPS fra ET med vaginal progesteron enten 200mgx3, 400mgx2 eller Crinone 90mgx2 dgl i 2 uger. mNC-FET: TvUL Cd 10. hCG v ledende follikel 16-17mm. ET tørt og transfereret dag 5 efter hCG. Ingen LPS. Der fandtes *ingen forskel* mellem NC-FET og mNC-FET i ongoing pregnancy rate (UL veriferet v GA 6): 24.3% vs 29,1% eller live birth rate 20,7% vs 23.5% (total) og 18.1% og 17.3% (per påbegyndt cyklus).



April 12 2019

### **Fatemi et al. 2010**

(RCT, n=124 kvinder  $\leq 36$ år): Transferering af dag 3 embryoner efter FET. LH måling på alle kvinder. I NC- FET daglig LH måling fra CD 8, LH surge ved stigning på 180% ift forudgående måling. Ovulation bekræftet med fald i  $\text{Ø}2$  og  $P < 1.5 \text{ nmol/L}$  dagen efter LH surge. Ved mNC-FET blev hCG administreret ved endometrium  $\geq 7 \text{ mm}$  og ledende follikel på 17mm ved TV UL. Tø/trans hhv. dag 4 og 5 både efter hCG administration og LH surge. Interim-analyse viste *signifikant forskel* i ongoing pregnancy rate med 31% efter NC-FET og 14% efter mNC-FET ( $p=0.025$ ), hvorfor studiet blev afbrudt før planlagt.

### **Weissmann et al. 2011**

(RCT, 60 kvinder): Der  *fandtes ingen forskel* i OPR eller LBR mellem NC-FET (n=30) og mNC-FET (n=30) men antallet af besøg i klinikken var signifikant mindre blandt kvinder i mNC-FET gruppen. hCG trigger blev givet ved ledende follikel  $\geq 17 \text{ mm}$ , s- $\text{Ø}2 > 150 \text{ pg/ml}$  og s-P  $> 1.5 \text{ ng/ml}$ . Ovulation blev vurderet ved ændret udseende af ledende follikel, fald i s- $\text{Ø}$ stradiol og s-Progesteron  $> 1.5$ . Embryoner blev transfereret på dag for vitrification ved endometrietykkelse  $\geq 7 \text{ mm}$ . Begge grupper fik lutealfasesupport med 100mg vaginal progesteron fra transferering til hCG test.

### **Ghobara et al. Cochrane review, 2017**

Baseret på to RCT, rated som very-low quality evidence fandtes *ingen forskel* i live birth rate (OR 0,55, 95% CI 0,16-1,93, 1 RCT, n=60) mellem NC-FET og mNC-FET. Dog fandtes en tendens mod højere ongoing pregnancy rate (OR 2,44, 95% CI 1,03-5,76, 1 RCT, n=168) hos kvinder efter NC-FET.

### **Groenewoud et al. review, 2013 (corrigendum 2017)**

Baseret på to randomiserede studier og 3 retrospektive kohortestudier fandt man ingen forskel i chancen for ongoing pregnancy eller livebirth ved sammenligning af NC-FET og mNC FET (OR 1,02: 0,66-1,60 og OR 0,82: 0,66-1,08). Pga. varierende brug af lutealfase support i de inkluderede studier foretog de en subgruppe analyse for studier med/uden brug af LPS, der dog fortsat ikke viste nogen forskel i OPR eller LBR i relation til anvendelse af LPS.

April 12 2019

## Bilag VII. Detaljeret litteratursøgning

### PICO 1 og 2:

AC-FET versus mNC-FET

Pubmed: modified natural cycle fet OR mNC-FET + AC-FET OR artificial cycle FET Pubmed

MESH: (modified[All Fields] AND natural[All Fields] AND cycle[All Fields] AND fet[All Fields]) OR (mNC-FET[All Fields] AND AC-FET[All Fields]) OR (artificial[All Fields] AND cycle[All Fields] AND FET[All Fields]) (modified natural cycle (AND FET) OR mNC-FET) AND (AC-FET[All Fields]) OR (artificial[All Fields] AND cycle[All Fields] AND FET[All Fields]). I alt 41 hits.

NC-FET versus mNC-FET

Pubmed: natural cycle FET OR NC-FET + modified natural cycle FET OR mNC-FET Pubmed

MESH: (natural[All Fields] AND cycle[All Fields] AND FET[All Fields]) OR (NC- FET[All Fields] AND modified[All Fields] AND natural[All Fields] AND cycle[All Fields] AND FET[All Fields]) OR mNC-FET[All Fields]. I alt hits 78.

Endvidere søgt på artikler, der er henvist til i de udvalgte artikler.

### PICO 3:

Søgeord i Pubmed: Progesterone, embryo transfer, natural cycle (4/11 2018; 117 hits)

### PICO 4 (Kristine Løssl)

Søgeord I PubMed: FET, frozen embryo transfer, progesterone, vitrification, endometrial receptivity, timing, blastocyst. Forskellige kombinationer som 1) FET progesterone timing, 2) frozen embryo transfer progesterone endometrial receptivity, 3) blastocyst frozen embryo transfer implantation endometrial receptivity, 4) Blastocyst, frozen embryo transfer, implantation, progesterone, vitrification

Endvidere søgt på artikler, der er henvist til i de udvalgte artikler

### 5:

PubMed: cleavage stage + blastocyst + freeze (+developmental stage, vitrification)

English + human: 68 titles

Abstracts: 11

PubMed MESH: (vitrification OR phase transition OR cryopreservation) AND (embryo transfer OR embryo implantation OR blastocyst)

English + human: 2110 titles. Abstract not overlapping with search1: 6

### PICO 6:

Litteratursøgningsmetode: (ADF)

Søgeord i Pubmed: Blastocyst, vitrification, slow freeze (12.11.2018, 108 hits)