Human Reproduction, 2025, **40(6)**, 989–1035
https://doi.org/10.1093/humrep/deaf021
Çevrimiçi Erken Erişim Tarihi: 28 Nisan 2025
ESHRE Pages

İstanbul konsensüsü güncellemesi: oosit ve embriyonun statik ve dinamik morfolojik değerlendirmesine ilişkin gözden geçirilmiş ESHRE/ALPHA konsensüsü[†,‡]

Bu belge, ESHRE tarafından yayımlanan *"The Istanbul consensus update: a revised ESHRE/ALPHA consensus on oocyte and embryo static and dynamic morphological assessment"* başlıklı belgenin Türkçe çevirisidir.

The Working Group on the update of the ESHRE/ALPHA Istanbul Consensus, Giovanni Coticchio[1,*], Aisling Ahlström[2], Gemma Arroyo[3], Basak Balaban[4], Alison Campbell[5,6], Maria José De Los Santos[7,8], Thomas Ebner[9], David K. Gardner[10,11], Borut Kovačič[12], Kersti Lundin[13], M. Cristina Magli[14], Saria Mcheik[15], Dean E. Morbeck[16,17], Laura Rienzi[18], Ioannis Sfontouris[19], Nathalie Vermeulen[15] ve Mina Alikani[20,*]

[1]IVIRMA Global Research Alliance, IVIRMA Italia, Roma, İtalya
[2]IVIRMA Global Research Alliance, LIVIO, Göteborg, İsveç
[3]Obstetrik ve Jinekoloji Bölümü, Institut Universitari Dexeus, Barselona, İspanya
[4]Yardımcı Üreme Ünitesi, VKF Amerikan Hastanesi, İstanbul, Türkiye
[5]CARE Fertility Group, Nottingham, Birleşik Krallık
[6]University of Kent, Kent, Birleşik Krallık
[7]IVIRMA Valencia Global Research Alliance, IVF Laboratuvarı, Valensiya, İspanya
[8]Fundación IVI Instituto de Investigaciones Sanitarias, Valensiya, İspanya
[9]Jinekoloji, Obstetrik ve Jinekolojik Endokrinoloji, Kepler Universitätsklinikum GmbH, Linz, Avusturya
[10]Melbourne IVF, East Melbourne, VIC, Avustralya
[11]School of BioSciences, University of Melbourne, Parkville, VIC, Avustralya
[12]Üreme Tıbbı ve Jinekolojik Endokrinoloji Bölümü, University Medical Centre Maribor, Maribor, Slovenya
[13]Obstetrik ve Jinekoloji Bölümü, The Institute of Clinical Sciences, Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Göteborg, İsveç
[14]SISMER Üreme Tıbbı Ünitesi, Bologna, İtalya
[15]ESHRE, Strombeek-Bever, Belçika
[16]Genea Fertility, Sidney, NSW, Avustralya
[17]Obstetrik ve Jinekoloji Bölümü, Monash University, Melbourne, VIC, Avustralya
[18]IVIRMA Global Research Alliance, Roma, İtalya
[19]Hygeia IVF Embryogenesis, Atina, Yunanistan
[20]Alpha Scientists in Reproductive Medicine, Londra, Birleşik Krallık

[*]Yazışma adresi. IVIRMA Global Research Alliance, IVIRMA ITALIA, Via dei Monti Parioli 6, 00197 Roma, İtalya. E-posta: giovanni.coticchio@gmail.com http://orcid.org/0000-0003-1635-9205 (G.C.); Alpha Scientists in Reproductive Medicine, Suite 213 Boundary House, Boston Road, Londra, W7 2QE, Birleşik Krallık. E-posta: mina.alikani@embryos.net guidelines@eshre.eu http://orcid.org/0000-0001-6140-0321 (M.A.)

[†]ESHRE Pages içeriği dış hakem değerlendirmesinden geçmez. Metin, ESHRE Yürütme Kurulu tarafından onaylanmıştır.
[‡]Bu makale, izin alınarak, *Human Reproduction* ve *Reproductive Biomedicine Online* dergilerinde eş zamanlı olarak ortak yayımlanmıştır.

Copyright © European Society of Human Reproduction and Embryology ('ESHRE'®) – All rights reserved.
Özgün ESHRE® belgesinin tam künyesi: The Working Group on the update of the ESHRE/ALPHA Istanbul Consensus, Coticchio G, Ahlström A, Arroyo G, Balaban B, Campbell A, De Los Santos MJ, Ebner T, Gardner DK, Kovačič B, Lundin K, Magli MC, Mcheik S, Morbeck DE, Rienzi L, Sfontouris I, Vermeulen N, Alikani M. The Istanbul consensus update: a revised ESHRE/ALPHA consensus on oocyte and embryo static and dynamic morphological assessment. *Hum Reprod* 2025;40(6):989–1035. doi: https://doi.org/10.1093/humrep/deaf021. Eş zamanlı ortak yayın: *Reprod Biomed Online* 2025;50(6):104955. doi: https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2025.104955. ESHRE® internet sitesindeki yayın sayfası: https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Oocyte-and-embryo-morphology-assessment
Çeviri: Bu belge, yukarıda künyesi verilen ESHRE® belgesinin Klinik Embriyoloji Derneği (KED) tarafından hazırlanan Türkçe çevirisidir. Çeviri, ESHRE®'nin yazılı izni ve Oxford University Press'in RightsLink üzerinden verdiği izin (Lisans No. 6343610649909, 7 Eylül 2026) ile, ESHRE® Belgelerinin Çevirisine İlişkin Politika'ya uygun olarak yapılmıştır. Özgün metindeki iki yazım hatası (s. 999: "5 mm" yerine "5 µm"; Tablo 3 dipnotu: "NBP" yerine "NPB") ESHRE®'nin yazılı onayıyla düzeltilmiştir; bunun dışında özgün metne hiçbir ekleme veya değişiklik yapılmamıştır.
Oxford University Press izni: Oxford University Press'in European Society of Human Reproduction and Embryology ('ESHRE'®) adına verdiği izinle çevrilmiş ve çoğaltılmıştır. Çeviri sorumluluk reddi: Oxford University Press ve ESHRE®, çevirinin doğruluğundan sorumlu değildir ve hiçbir biçimde yükümlü tutulamaz. Bu yayındaki çeviriden yalnızca lisans sahibi sorumludur.
Çeviri kurulu: Enver Kerem Dirican, İpek Keleş, Cihan Çakır, Sevil Ünal, Zafer Nihat Candan, Tuba Varlı Yelke, İbrahim Pala. Adı geçen kişiler yalnızca bu ESHRE® belgesinin Türkçeye çevrilmesinde görev almış olup özgün ESHRE® belgesinin hazırlanmasında ve yayımlanmasında hiçbir rol üstlenmemiştir.

ÖZET

ÇALIŞMA SORUSU: Oositlerin, zigotların ve embriyoların morfolojik değerlendirmesi için hâlihazırda önerilen ölçütler nelerdir?

ÖZET YANIT: Bu ESHRE/Alpha Scientists in Reproductive Medicine konsensüs belgesi, oosit ve embriyo morfolojisinin değerlendirilmesine ve embriyoların transfer için sıralanmasına yönelik çeşitli yeni öneriler sunmaktadır.

HÂLİHAZIRDA BİLİNENLER: Oosit ve embriyo morfolojik değerlendirmesine ilişkin önceki Alpha Scientists in Reproductive Medicine/ESHRE konsensüsü 2011 yılında yayımlanmıştır. Aradan on yılı aşkın bir sürenin geçmesi ve time-lapse teknolojisinin embriyo kültürü ile değerlendirmesine entegre edilmesi sonrasında, kapsamlı bir gözden geçirme ve güncelleme gereksinimi doğmuştur.

ÇALIŞMA TASARIMI, BÜYÜKLÜĞÜ, SÜRESİ: Alpha Scientists in Reproductive Medicine yönetim kurulu üyeleri ile ESHRE Embriyoloji Özel İlgi Grubu üyelerinden oluşan bir çalışma grubu, oosit ve embriyo değerlendirmesine ilişkin önerileri oluşturmuştur.

KATILIMCILAR/MATERYALLER, ORTAM, YÖNTEMLER: Çalışma grubu, klinik embriyoloji alanında geniş deneyime sahip, uluslararası düzeyde tanınan 17 uzmandan oluşmuştur. Üyelerin yedisi Alpha Scientists in Reproductive Medicine'ı, sekizi ESHRE'yi temsil etmiş; buna ek olarak ESHRE merkez ofisinden iki metodoloji uzmanı görev almıştır. Sistematik bir literatür taraması ve mevcut kanıtların tartışılması temelinde, İstanbul Konsensüsü'nün (2011) önerileri yeniden değerlendirilmiş ve uygun görülen noktalarda çalışma grubu içindeki uzlaşıya dayanılarak güncellenmiştir. Güncellenmiş taslak tamamlandıktan sonra bir paydaş değerlendirmesi düzenlenmiştir. Nihai sürüm; çalışma grubu, Alpha yönetim kurulu ve ESHRE Yürütme Kurulu tarafından onaylanmıştır.

TEMEL BULGULAR VE RASTLANTININ ROLÜ: Bu güncellenmiş konsensüs belgesi, preimplantasyon gelişim olaylarının zaman çizelgesi ile oosit, zigot ve embriyo değerlendirmesine yönelik morfolojik ölçütlere odaklanan 20 öneri sunmaktadır. Embriyo kültürünün süresi temel alınarak, tutarlılık ve etkinliğin sağlanması amacıyla değerlendirmelerin sıklığı ve zamanlaması konusunda öneriler verilmiştir.

KISITLILIKLAR VE YORUMDA DİKKAT EDİLMESİ GEREKEN NOKTALAR: Oosit ve embriyo morfolojisiyle ilgili çeşitli ölçütler yeterince araştırılmamıştır; bu durum, söz konusu ölçütlerin derecelendirme (grading) amacıyla kullanılmamasının ya da derecelendirme yerine sıralama (ranking) amacıyla kullanılmasının önerilmesine yol açmıştır. Gelecekteki güncellemeler bu önerilerin yeniden gözden geçirilmesini gerektirebilir.

BULGULARIN DAHA GENİŞ KAPSAMLI YANSIMALARI: Bu belge, embriyologlara oosit ve embriyo kalitesini değerlendirirken en güncel kanıtlara dayalı en iyi uygulamalar konusunda yol göstermektedir.

ÇALIŞMA FİNANSMANI/ÇIKAR ÇATIŞMALARI: Konsensüs toplantısı ve makalenin yazımı, ESHRE ve Alpha Scientists in Reproductive Medicine tarafından sağlanan fonlarla desteklenmiştir. Çalışma grubu üyeleri herhangi bir ödeme almamıştır. G.C., Gedeon Richter ve Cooper Surgical'dan konuşmacı ücretleri veya honorarium ödemeleri beyan etmiştir. A.C.; ders kitabı telif geliri (Mastering Clinical Embryology, yayımlanma yılı 2024), Cooper Surgical, Gedeon Richter ve TMRW Life Sciences'tan danışmanlık ücretleri, Merck, Ferring ve Gedeon Richter'den konuşmacı honorarium ödemeleri ve HFEA Bilimsel Gelişmeler Komitesi'ne katılım beyan etmiştir; ayrıca Alpha Scientists in Reproductive Medicine'ın saymanı ve başkan yardımcısı olduğunu, Care Fertility Limited ve Fertile Mind Limited'de hissedar olduğunu, TMRW Life Sciences ve U-Ploid Biotechnology Ltd'de hisse opsiyonları bulunduğunu açıklamıştır. L.R.; Organon'dan danışmanlık ücretleri, Merck, Organon, IBSA, Finox, Gedeon Richter, Origio, Organon, Ferring ve Fundación IVI'den konuşmacı ücretleri veya honorarium ödemeleri beyan etmiştir; ayrıca IVIRMA Bilimsel Danışma Kurulu üyesi (ücretli) ve Nterilizer Bilimsel Danışma Kurulu üyesi (ücretsiz) olduğunu açıklamıştır. I.S.; Vitrolife ve Cooper Surgical'dan konuşmacı ücretleri veya honorarium ödemeleri ile Alife Health'ten hisse opsiyonları beyan etmiştir. M.A.; Vitrolife'tan konuşmacı ücretleri veya honorarium ödemeleri ile Vitrolife ve Cooper Surgical'dan toplantı katılım desteği beyan etmiştir (her ikisi de bu makaleyle ilgili değildir). Diğer yazarların beyan edeceği çıkar çatışması bulunmamaktadır.

SORUMLULUK REDDİ: *Bu İyi Uygulama Önerileri (Good Practice Recommendations, GPR) belgesi, çalışma grubu üyelerinin toplantı sırasında mevcut olan bilimsel kanıtlara dayanan uzlaşı görüşlerini yansıtmaktadır. GPR belgeleri bilgilendirme ve eğitim amacıyla kullanılmalıdır. Bir bakım standardı belirlediği biçiminde yorumlanmamalı; tüm uygun bakım yöntemlerini kapsadığı ya da aynı sonuçlara ulaşmayı makul biçimde amaçlayan diğer bakım yöntemlerini dışladığı şeklinde değerlendirilmemelidir. Her bir olguya özgü klinik muhakemenin uygulanması gerekliliğinin ya da yerel koşullar ve kurum tipine göre ortaya çıkan farklılıkların yerini almazlar.*

Anahtar kelimeler: embriyo / oosit / klivaj evresi embriyosu / morula / blastokist / morfoloji / morfokinetik / time-lapse

ESHRE® sorumluluk reddi beyanı. "Bu yayın, bu belgenin başlık sayfasında tam künyesi verilen özgün bir ESHRE® belgesinin çevirisidir; çeviri, ESHRE® internet sitesinde (www.eshre.eu) erişilebilen 'ESHRE® Belgelerinin Çevirisine İlişkin Politika' (Policy for the translation of ESHRE® Documents) hükümlerine uygun olarak yapılmıştır. Özgün ESHRE® belgesinin çevirisi, bu çevirinin içeriğinden tek başına sorumlu olan Klinik Embriyoloji Derneği (KED) tarafından ve onun gözetiminde yapılmıştır. ESHRE®'nin bu çeviriyi önceden onaylamış (valide etmiş) olması bu sorumluluğu etkilemez.
Çeviride yer alan bilgilerin doğruluğu ve/veya bilimsel değeri konusunda herhangi bir soru doğarsa lütfen özgün ESHRE® belgesine başvurun. Çeviride oluşan tutarsızlıklar veya farklılıklar ESHRE® için bağlayıcı değildir ve uyum ya da yaptırım amaçları bakımından hukuki bir etki doğurmaz. Özgün ESHRE® belgesinin yayımlandığı dil olan İngilizce sürüm her zaman esas alınır."

ESHRE® disclaimer (original wording). "This publication entails a translation of an original ESHRE® document – as fully referred to on the title page of this document – whereby such translation was performed in line with the provisions of the 'Policy for the translation of ESHRE® Documents', as consultable on the ESHRE® website (www.eshre.eu).
The translation of the original ESHRE® document is made by and under supervision of Klinik Embriyoloji Derneği (KED – Turkish Society of Clinical Embryology), which is solely responsible for the content of this translation. Prior validation of ESHRE® of this translation does not affect such responsibility.
If any questions arise related to the accuracy of the information contained in the translation and/or its scientific value, please refer to the original ESHRE® document. Any discrepancies or differences created in the translation are not binding to ESHRE® and shall have no legal effect for compliance or enforcement purposes. The English version, being the language in which the original ESHRE® document is published, shall always prevail."

Geliş tarihi: 13 Aralık 2024. Editoryal karar: 17 Ocak 2025.
© The Author(s) 2025. Oxford University Press tarafından European Society of Human Reproduction and Embryology adına yayımlanmıştır.
Bu makale, özgün çalışmaya usulüne uygun atıf yapılması kaydıyla ticari olmayan yeniden kullanıma, dağıtıma ve çoğaltmaya her ortamda izin veren Creative Commons Attribution-NonCommercial License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) koşulları altında dağıtılan bir Açık Erişim makalesidir. Ticari yeniden kullanım için, baskılar ve baskı çeviri hakları konusunda lütfen reprints@oup.com adresine başvurun. Diğer tüm izinler, sitemizdeki makale sayfasında yer alan Permissions bağlantısı aracılığıyla RightsLink hizmetimizden alınabilir; ayrıntılı bilgi için lütfen journals.permissions@oup.com adresiyle iletişime geçin.

Giriş

İnsan embriyosunun gelişiminin değerlendirilmesi, IVF laboratuvarında vazgeçilmez ancak zorlu bir görevdir. Embriyolar; intrauterin transfer, kriyoprezervasyon ya da preimplantasyon genetik test (PGT) amaçlı biyopsi için canlılık olasılığı en yüksek olanın seçilmesi amacıyla embriyologlarca değerlendirilir. IVF'in 1980'lerdeki ilk yıllarında embriyoların iyimser bir bakışla "güzel, çok güzel ya da çok çok güzel" (Jacques Cohen, kişisel iletişim) olarak nitelendirildiği dönemden bu yana, erken dönem embriyosuna ait görece çok sayıda morfolojik özellik tanımlanmış ve bunların canlılık, implantasyon, canlı doğum ve kromozomal durumla ilişkisi araştırılmıştır. Yine de morfolojik değerlendirme büyük ölçüde öznel olmayı sürdürmekte; gözlemciler arası, gözlemci içi ve laboratuvarlar arası değişkenliğe açık kalmaktadır (Arce ve ark., 2006; Baxter Bendus ve ark., 2006; Martínez-Granados ve ark., 2017; Storr ve ark., 2017).

Son on yılda embriyo değerlendirmesindeki en önemli ilerleme, time-lapse mikroskopi teknolojilerinin (TLT) kullanıma girmesi olmuştur. Bu da "morfokinetik" kavramının doğmasına yol açmıştır. Terimin de ima ettiği gibi morfokinetik, morfolojinin (embriyoların biçim ve yapısı) kinetikle (gelişimlerinin dinamiği) bütünleştirilmesini ifade eder ve in vitro embriyo gelişimini anlamak ve değerlendirmek için kapsamlı bir çerçeve sunar. Bu teknolojiler, kültüre en az düzeyde müdahale ederek ya da kültürü en az düzeyde bozarak embriyo

gelişiminin sürekli gözlenmesine olanak tanır (ESHRE Working group on Time-lapse technology ve ark., 2020).

Embriyo değerlendirmesi üzerine yüzlerce makale yayımlanmıştır. Bu çalışmalar çoğunlukla retrospektiftir ve hasta popülasyonu, sonlanım ölçütleri, karıştırıcı değişkenlerin kontrolü, laboratuvar işlemleri ve embriyo kültür koşulları gibi bazı temel parametreler bakımından heterojendir. Ayrıca morfokinetik çalışmalar da, klasik morfoloji çalışmaları gibi, anne yaşı, sigara kullanımı, ovaryan stimülasyon protokolleri ve inseminasyon yöntemleri gibi etkenlerden etkilenebilir (Braga ve ark., 2015; Ubaldi ve ark., 2016; Grøndahl ve ark., 2017; Barrie ve ark., 2021a; Bamford ve ark., 2022). Bununla birlikte TLT gözlemleri, gelişim olaylarına ilişkin anlayışımıza önemli katkı sağlamış ve morfoloji değerlendirmeleri artık morfokinetikle desteklenir hâle gelmiştir.

On yılı aşkın bir süre önce, Alpha Scientists in Reproductive Medicine (ALPHA) ile ESHRE Embriyoloji Özel İlgi Grubu iş birliği yaparak oositlerin, zigotların ve embriyoların değerlendirilmesine ilişkin İstanbul Konsensüsü'nü hazırlamıştır (Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group Embryology, 2011).

İstanbul Konsensüsü (2011), oositlerin, zigotların ve embriyoların derecelendirilmesinde ortak ölçütler ve terminoloji oluşturmuştur; bunlar, aradan geçen yıllarda yayımlanan verilerin yakından incelenmesi, derlenmesi, çözümlenmesi ve yorumlanması yoluyla bu makalede güncellenmektedir. En önemlisi, yeni öneriler, TLT'nin kullanıma girmesiyle aydınlatılan ve statik gözlem yaklaşımına katkı sağlayabilen ve bu yaklaşımı tamamlayabilen bazı embriyo morfokinetik özelliklerini de içermektedir. Bu belgenin amacı, laboratuvarlar arasında standart terminoloji ve değerlendirme ölçütlerinin yeniden oluşturulmasına katkıda bulunmaktır.

Terminoloji

Embriyologlar, oosit ve embriyolarla ne yapılacağına ilişkin kararları rutin olarak verirler; yani bunların klinik olarak kullanılabilir olup olmadığına ya da atılması gerekip gerekmediğine karar verirler. Oosit ve embriyoların klinik kullanımı; IVF/ICSI tedavisinde kullanım, biyopsi/PGT, kriyoprezervasyon, transfer ve bağış olarak tanımlanır.

Bu makalede sunulan güncellenmiş öneriler kapsamında çalışma grubu, embriyo derecelendirme (grading), sıralama (ranking) ve seçim (selection) terimlerini kullanmıştır. *Embriyo derecelendirme*, embriyoların belirli bir ölçütler dizisi kullanılarak bir kalite skoru atanacak biçimde değerlendirilmesidir: blastomerlerin sayısı, büyüklüğü ve şekli, fragmantasyon derecesi, iç hücre kitlesi (ICM) ve trofektoderm (TE) morfolojisi ile ekspansiyon vb. *Embriyo sıralama*, klinik olarak kullanılabilir embriyoların derecelendirme ve diğer değerlendirme ölçütleri temelinde, transfer için en uygundan en az uygun olana doğru önceliklendirilmesi işlemidir. Embriyolar, morfolojik ve—mevcutsa—genetik etkenlerce belirlenen tahmini implantasyon ve gelişim potansiyellerine göre sıralanır. Bu, hangi embriyonun/embriyoların önce transfer edileceğinin önceliklendirilmesidir. *Transfer için embriyo seçimi* ise sıralama ve diğer etkenler birlikte değerlendirilerek uterusa transfer edilecek embriyoların belirlenmesini içerir. Amaç, başarılı gebelik ve canlı doğumla sonuçlanma olasılığı en yüksek embriyonun/embriyoların seçilmesidir.

Materyal ve yöntemler

Bu iyi uygulama önerileri belgesi, ALPHA ve ESHRE'yi temsil eden uzman profesyonellerden oluşan bir çalışma grubunun (ÇG) bir yıllık süre boyunca gerçekleştirdiği çok sayıda sanal toplantı ve iki günlük bir konsensüs toplantısının ürünüdür. Güncelleme sürecinin başlangıç noktası olarak, ART merkezlerinde İstanbul Konsensüsü (2011) önerilerinin uygulanmasına ilişkin güncel uygulamayı belirlemek üzere bir anket oluşturulmuştur. Anket, çoğunluğu çoktan seçmeli yanıtlardan oluşan üç bölümden meydana gelmiş; uygulama yapılan ülke, kullanılan sınıflandırma sistemi, İstanbul Konsensüsü (2011) önerilerinin benimsenme durumu ile TLT, yapay zekâ (AI) ve PGT dâhil olmak üzere diğer teknolojilerin kullanımına ilişkin görüşleri sorgulamıştır (Ek Veri SI). Kimlik bilgisi istenmediğinden katılımcıların anonimliği sağlanmıştır. Bununla birlikte, aynı cihazdan birden çok kez ankete katılıma izin verilmemiştir. Anket, ALPHA ve ESHRE üyeleri arasında dağıtılmış ve iki derneğin internet siteleri ile sosyal medya sayfalarında yayımlanmıştır. Anketin merkezdeki bir kıdemli temsilci tarafından doldurulması istenmiştir. 21 Kasım 2022 ile 2 Ocak 2023 tarihleri arasında toplam 833 yanıt toplanmıştır. Anket sonuçları Ek Veri SII'de sunulmuştur.

Ayrıca, oosit ve embriyonun statik ve dinamik değerlendirmesine ilişkin olarak Mayıs 2024'e kadar yayımlanan veriler PubMed/MEDLINE üzerinden derlenmiştir. Tüm başlıklar ve özetler taranmıştır. Yalnızca ilgili kabul edilen makaleler seçilmiş ve metne dâhil edilmiştir. Bu tarihten sonra yayımlanan makaleler, bu metin açısından ilgili görülmeleri hâlinde elle eklenmiştir. Literatürden elde edilen kaynaklar, ÇG üyelerinin belirlediği diğer temel kaynaklarla tamamlanmıştır. Makale kalitesi GRADE Pro yazılımı (McMaster University, ABD) kullanılarak değerlendirilmiştir. Klinik uygulamaya yönelik öneriler, mevcut kanıtlar ve anket sonuçları dikkate alınarak ÇG'nin uzman görüşü temelinde oluşturulmuştur.

Konsensüs toplantısı sırasında anket sonuçları, bilimsel kanıtlar ve kişisel klinik deneyim, uzmanların belirli konulardaki sunumlarında bütünleştirilmiştir. Konunun sunulmasının ardından, değerlendirmeye ilişkin önerilen her madde, grup içinde uzlaşı sağlanana dek tartışılmıştır. En ilgili makaleleri içeren güncellenmiş bir metin hazırlanmış ve uzlaşı noktaları metne eklenmiştir. Metnin toplantı katılımcılarınca onaylanmasından sonra, nihai taslak paydaş değerlendirmesi için 17 Mayıs 2024–17 Haziran 2024 tarihleri arasında ALPHA ve ESHRE internet sitelerinde yayımlanmıştır. Toplam 157 yorum alınmış ve ilgili görülenler dikkate alınmıştır. *Değerlendirme raporuna www.eshre.eu/guidelines ve https://alphascientists.org/ adreslerinden ulaşılabilir.*

Bu metnin nihai taslağı, her iki derneğin yönetim kurulu üyelerince onaylanmıştır. Makale boyunca kullanılan kısaltmalar Ek Veri SIII'te listelenmiştir.

Oosit ve embriyo değerlendirme ölçütlerine ilişkin güncel veriler

1. Embriyo gelişiminin beklenen zaman çizelgesi

İnsan embriyosunun gelişimi fertilizasyonla başlar ve embriyo tek hücreden çok hücreli blastokiste doğru ilerlerken her biri hücre sayısını iki katına çıkaran bir dizi kısıtlayıcı mitotik olayla (klivaj) sürer (Ciray ve ark., 2014). Fertilizasyonda, iki pronükleus yıkıma uğradığında, ilk klivajda kardeş kromatidler düzenli biçimde ilk iki blastomere ayrılmadan önce baba ve anne kaynaklı kromozomlar bipolar bir mitotik iğ üzerinde bir araya getirilir. Ortaya çıkan farklılaşmamış oğul hücrelerin genetik olarak özdeş olması beklenir. Gelişimin ilk evrelerinde blastomer işlevi, maternal etkenlerce yönlendirilen karmaşık bir düzenleyici mekanizmanın birincil denetimi altındadır (Sha ve ark., 2020). Bununla birlikte son çalışmalar, insan embriyosunda ilk kromozom ayrılması olayının ince ayrıntılarını incelemiş ve bu mekanizmanın yüksek oranda hataya açık olduğunu

ortaya koymuştur (Currie ve ark., 2022). Kesin zamanlaması henüz aydınlatılmamış olsa da, embriyonik genom aktivasyonu 8 hücreli evreye gelindiğinde büyük ölçüde ilerlemiş olup buna maternal transkriptlerin yıkımı eşlik eder (Braude ve ark., 1988; Vassena ve ark., 2011; Asami ve ark., 2022; Yuan ve ark., 2023).

İnsan embriyosunun yetkinliği gelişim zaman çizelgesine de yansıdığından, morfoloji değerlendirmesi önceden tanımlanmış zamanlara uygun olarak yapılmalıdır.

Embriyo değerlendirmesine ilişkin özgün İstanbul Konsensüsü (2011), fertilize oositlerin ve embriyoların gözlenmesi için belirli zamanlar ve bu zaman noktalarında beklenen gelişim evreleri önermiştir. Bu zamanlamalar inseminasyon zamanına göre belirlenmiş olup, ilgili olayların genel olarak ne zaman gerçekleştiğini yansıtmayı amaçlamıştır (Tablo 1). Gözlem zamanları şu evreler için verilmiştir: fertilizasyon, singami, erken klivaj, 2. gün, 3. gün, 4. gün ve 5. gün embriyo değerlendirmesi. İstanbul Konsensüsü (2011), IVF ve ICSI kaynaklı embriyolar arasında yalnızca bir gelişim evresi için ayrım yapmıştır: erken klivaj. Özel olarak, 2 hücreli evrenin ICSI sonrasında (inseminasyon sonrası 26 ± 1 saat, hpi), IVF'e (28 ± 1 hpi) kıyasla 2 saat daha erken kontrol edilmesi önerilmiştir (Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group Embryology, 2011). Bu önerinin gerekçesi, IVF sonrasında pronükleus oluşumunun ICSI sonrasına göre yaklaşık 1 saat daha geç gözlenmesidir (Nagy ve ark., 1998); ICSI'de kumulus-korona kompleksi, zona pellusida (ZP) ve oolemma atlanarak spermatozoonun bu yolu kat etmesi için gereken süre kazanılmaktadır (Payne ve ark., 1997).

Çalışmalar, erken klivajın embriyo kalitesinin (daha geç klivaj evrelerindeki hücre sayısı ve morfoloji açısından), blastokist oluşumunun, gebeliğin ve doğumun bağımsız bir öngördürücüsü olduğunu göstermiştir; ancak IVF ve ICSI kaynaklı embriyolar arasında belirgin farklılıklar bulunmuştur (Shoukir ve ark., 1997; Lundin ve ark., 2001; Van Montfoort ve ark., 2004).

IVF ve ICSI kaynaklı embriyoların göreli morfokinetik zamanlamalarına ilişkin sonraki çeşitli raporlar literatürde tanımlanmış ve İstanbul Konsensüsü'nün bu gözden geçirilmiş sürümünde dikkate alınmıştır. Örneğin, çeşitli çalışmalar yalnızca ilk klivaj zamanlamasının fertilizasyon yönteminden etkilendiğini, IVF embriyolarının 2 hücreli evreye ICSI embriyolarına göre anlamlı biçimde daha geç ulaştığını bildirmiştir (Dal Canto ve ark., 2012b; Kirkegaard ve ark., 2016). Başka bir çalışmada, IVF embriyolarının gelişiminde 2 hücreli evrenin ötesinde 1,5 ± 1,1 saatlik göreli gecikmeler saptanmıştır (Bodri ve ark., 2015). Yakın tarihli randomize kontrollü bir çalışmada, aynı kohorttan 373 IVF ve ICSI embriyosunun morfokinetiği karşılaştırılmış ve yalnızca 2 hücreye ulaşma süresinin (t2) IVF embriyolarında anlamlı biçimde geciktiği bildirilmiştir (De Munck ve ark., 2022). 2376 embriyoyu kapsayan geniş bir TLT çalışmasında, t2'nin ICSI kaynaklı embriyolarda (donör spermden elde edilenler hariç) 0,98 saat daha erken olduğu; buna karşılık blastülasyonun başlama zamanı (tSB) ile tam blastokist zamanının (tB) IVF kaynaklı embriyolara kıyasla sırasıyla 1,157 ve 1,510 saat daha geç olduğu bildirilmiştir (Barrie ve ark., 2021a).

Ayrıca, morfokinetik temelli çok sayıda çalışma, diğer içsel ve dışsal etkenlerin (ör. BKİ, yaş, kültür medyumu ve oksijen konsantrasyonu) embriyo gelişiminin zamanlaması üzerindeki olası etkisini araştırmıştır (ESHRE Working group on Time-lapse technology ve ark., 2020). En çok incelenen hasta değişkenlerinden ikisi, gamet sağlayıcılarının yaşı ve BKİ'dir; ancak bulgular değişkenlik göstermekte olup henüz bir meta-analiz ya da belirleyici çalışma bulunmamaktadır (Lebovitz ve ark., 2021; Setti ve ark., 2021; Bellver, 2022; Boucret ve ark., 2022; Hoek ve ark., 2022).

Ovaryan stimülasyon protokolünün embriyo gelişim zamanlamasını etkileyip etkilemediği de morfokinetik analizlerle araştırılmış; erken klivaj evrelerinde bazı belirgin farklılıklar saptanmış, ancak genel embriyo kalitesi üzerinde bir etki gözlenmemiştir (Barrie ve ark., 2017a; Mumusoglu ve ark., 2017; Dietrich ve ark., 2020).

Embriyo gelişimini etkilediği bilinen sıcaklık ve pH gibi diğer etkenler de embriyo morfokinetiğini etkileyebilir; düşük sıcaklık ve kültür medyumu pH kayması (tipik olarak alkali yönde) daha yavaş embriyo gelişimiyle ilişkilendirilmiştir (Swain, 2015; Wale ve Gardner, 2016). Embriyo gelişimini önemli ölçüde etkileyen bir unsur olan kültür sırasındaki oksijen düzeyinin etkisi kapsamlı biçimde incelenmemiştir. Bununla birlikte, atmosferik oksijen düzeyi kullanıldığında, daha düşük ve daha fizyolojik düzeylere kıyasla gelişim ve implantasyon oranları azalmaktadır (Quinn ve Harlow, 1978; Gardner ve Kelley, 2017). TLT görüntüleme kullanılan ve faredeki verilerle (Wale ve Gardner, 2010) benzeşen prospektif bir çalışmada, embriyoların gelişim zamanlamaları oksijen basınçlarına göre karşılaştırılmış ve %20 oksijen içinde kültüre edilen embriyolarda gelişimin %5'e kıyasla anlamlı biçimde daha yavaş olduğu bildirilmiştir (Kirkegaard ve ark., 2013).

Daha hızlı gelişen embriyoların seçiminde bilinçdışı bir yanlılık oluşabileceği ve bunun cinsiyet oranını etkileyebileceği tartışılmıştır. Ancak yakın tarihli geniş bir çalışma, algoritmik morfokinetik seçim kullanan bir IVF programındaki cinsiyet oranlarının, Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) doğal gebelik için bildirdiği ikincil cinsiyet oranlarıyla uyumlu olduğunu göstermiştir (Smith ve ark., 2024).

TLT kullanılarak, embriyonun kromozomal cinsiyetine göre gelişim zamanlamalarını karşılaştıran çok sayıda heterojen çalışma yapılmış, ancak çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (ör. Bodri ve ark., 2016; Serdarogullari ve ark., 2014). Daha fazla sayıda geniş karşılaştırmalı çalışmaya gereksinim vardır; bununla birlikte Fraire-Zamora ve ark. (2023) katı dâhil etme ölçütleri kullanarak karıştırıcı etkenlerden kaçınmayı amaçlamış ve erkek ile dişi embriyolar arasında morfokinetik açıdan anlamlı farklılık bulunmadığını bildirmiştir (Fraire-Zamora ve ark., 2023).

İncelenen bir diğer alan embriyonun kromozom durumudur. 40 000'den fazla embriyoyu kapsayan yakın tarihli bir sistematik derleme ve meta-analiz, on morfokinetik değişkenin anöploid embriyolarda anlamlı biçimde geciktiği; bu gecikmenin en belirgin olarak t8'den (8 hücreli evredeki gelişim) genişlemiş blastokist evresine kadar olan aralıkta görüldüğü sonucuna varmıştır (Bamford ve ark., 2022). Uzamış ya da hızlı hücre döngüleri gibi klivaj düzensizlikleri; DNA onarım etkinliği, hücresel yeniden düzenlenme ya da hücre döngüsü kontrol noktalarının devreye girmemesi ile ilişkili olabilir (Regin ve ark., 2022).

Klinik gebelik ve kromozom yapısı gibi belirli sonlanım ölçütleri açısından anlamlı bazı zamanlama farklılıkları bildirildiğinden, embriyo seçimini iyileştirmek ve böylece gebeliğe kadar geçen süreyi kısaltmak amacıyla morfokinetik seçim algoritmaları önerilmektedir (Meseguer ve ark., 2011; Petersen ve ark., 2016; Pribenszky ve ark., 2017; Fishel ve ark., 2020). Tek tek morfokinetik değişkenlerin klinik sonuçları öngörme potansiyeli yakın zamanda 30 000'den fazla embriyoyu kapsayan iki geniş analizde değerlendirilmiş; sonuçlar, peri-blastülasyon zamanlamalarının canlı doğumu öngörmede geleneksel TE ya da ICM morfolojisinden daha güçlü olduğunu göstermiştir (Bamford ve ark., 2022; Campbell ve ark., 2022a). Bununla birlikte, yakın tarihli iki randomize kontrollü çalışma (RKÇ), TLT algoritmik seçimi kullanıldığında devam eden gebelik oranında, kümülatif canlı doğum oranında ya da transfer başına canlı doğum oranında iyileşme saptamamıştır (Ahlström ve ark., 2022; Kieslinger ve ark., 2023); bu bulgular en güncel Cochrane derlemesinin sonuçlarını desteklemektedir (Armstrong ve ark., 2019).

Tablo 1 Belirli embriyo gelişim evresi değerlendirmelerine ilişkin, time-lapse verilerinden türetilen referans zamanlamalar.

İstanbul Konsensüsü 2011			2024		
Gözlem tipi	Zamanlama (hpi)	Beklenen gelişim evresi	Gelişim evresine ulaşmak için geçen medyan süre (en yakın saate yuvarlanmış)	Her gelişim evresinin gözlenme olasılığını en üst düzeye çıkaran değerlendirme zamanı (hpi). Yuvarlanmış. Fertilizasyon kontrolünden sonra tümü ±1 saat	Belirli değerlendirme için gereken evrede olması beklenen oran. Yuvarlanmış.
Fertilizasyon kontrolü	17±1	Pronükleus evresi	Uygulanamaz	16–17 (ICSI ya da IVF)	%98'inde görünür pronükleus (Barrie ve ark., 2021b)
Singami kontrolü	23±1	%50'sinin singamide olması beklenir (%20'ye kadarı 2 hücreli evrede olabilir)	tPNf (pronükleusların kaybolma süresi) 23 (ICSI) 24 (IVF)	25 (ICSI) 26 (IVF)	%53 %53
Erken klivaj kontrolü	26±1 (ICSI) 28±1 (IVF)	2 hücreli evre	t2 (2 hücreye ulaşma süresi) 26 (ICSI) 27 (IVF)	31 (ICSI) 32 (IVF)	%77 %79
2. gün embriyo değerlendirmesi	44±1	4 hücreli evre	t4 (4 hücreye ulaşma süresi) 38 (ICSI) 39 (IVF)	43 (ICSI) 45 (IVF)	%64 %67
3. gün embriyo değerlendirmesi	68±1	8 hücreli evre	t8 (8 hücreye ulaşma süresi) 57 (ICSI) 58 (IVF)	63 (ICSI) 65 (IVF)	%49 %51
4. gün embriyo değerlendirmesi	92±2	Morula	tM (morulaya ulaşma süresi) 89 (ICSI) 91 (IVF)	93 (ICSI) 95 (IVF)	%47 %44
5. gün embriyo değerlendirmesi	116±2	Blastokist	tB (tam blastokiste ulaşma süresi) 108 (ICSI) 107 (IVF)	108 (ICSI) 108 (IVF)	%47 %52
			tEB (genişlemiş blastokiste ulaşma süresi) 113 (ICSI) 113 (IVF)	111 (ICSI) 112 (IVF)	%34 %34

Morfokinetik zamanlamalar, in vitro embriyo gelişim olaylarının manuel olarak işaretlendiği kayıtlardan elde edilmiştir (n = 140 872 2PN —56 066 IVF ve 84 806 ICSI) (Yayımlanmamış Care Fertility çok merkezli verileri, 2013– 2022); yalnızca taze oositler. Adlandırma ve tanımlar Ciray ve ark. (2014) temel alınarak yapılmıştır. 6. ve 7. gün gözlemleri açısından bu veri setinde gözleme ilişkin yönlendirme sunacak yeterli veri bulunmamaktadır. Bununla birlikte, 5. günün ötesindeki blastokistlerin değerlendirilmesi için Bölüm 6'ya (blastokist evresi) bakınız.
hpi, inseminasyon sonrası saat (hours post-insemination).

Çalışmalar heterojen olup güçlü sonuçlar çıkarmak zor olsa da, TLT çalışmaları IVF laboratuvarında statik değerlendirme zaman pencerelerinin belirlenmesine ve iyileştirilmesine katkı sağlayabilir. Ancak birçok laboratuvarda bu teknoloji bulunmamaktadır ve bilinen, güvenilir günlük tanımlayıcılar bir ölçüde kesinlikten yoksun olsalar da uygulamada geçerliliğini korumaktadır. Özgün İstanbul Konsensüsü'nün (2011) yayımlanmasından bu yana, preimplantasyon gelişiminin zamanlamasını (inseminasyon sonrası) gün sayısı cinsinden tanımlama uygulaması, büyük ölçüde TLT görüntülemeyle gelişen embriyonun günler yerine dakika ve saatler ölçeğinde neredeyse sürekli gözlenebilmesi nedeniyle, gelişim sürecini gereğinden fazla basitleştiren bir yaklaşım olarak görülmeye başlanmıştır.

Uzlaşı noktaları

- Farklı laboratuvarlar, kültür koşulları, hastalar ve diğer değişkenler arasında sonuçların güvenilir biçimde karşılaştırılabilmesi için gözlem zamanlarının standartlaştırılması kritik önemdedir. Bu zamanlar inseminasyon zamanına göre belirlenmeli ve tek biçimli olarak inseminasyon sonrası saat cinsinden bildirilmelidir.
- Tüm biyolojik süreçlerin zamanlamasında doğal bir değişkenlik vardır; önerilen gözlem zamanları, karıştırıcı ve etkileyici etkenlerin—insan kaynaklı öznellik dâhil—varlığı kabul edilmekle birlikte, ilgili gelişim evrelerinin olguların çoğunda gerçekleştiği zamanları yansıtır.
- Genel olarak kültür medyumları ve kültür sistemlerinin embriyo morfokinetiği üzerinde önemli bir etkisi olduğu kabul edilmektedir; buna bağlı olarak karşılaştırmalı çalışmalarda bu etki dikkate alınmalıdır.
- Her laboratuvarın, ilgili zamanlamaları belirlemek üzere kendi veri setlerini oluşturması ve çözümlemesi teşvik edilir. Başka laboratuvarlardan elde edilen veriler her laboratuvar için geçerli olmayabilir.

2. Oosit

Oosit morfolojisi, ortaya çıkacak embriyonun gelişimsel yetkinliğini öngörmek amacıyla değerlendirilebilir. İlgili literatürde, sitoplazma dışı (kumulus-oosit kompleksi [COC], ZP, perivitellin aralık [PVS], kutup cisimciği [PB], şekil, büyüklük) ve sitoplazma içi (vakuoller, refraktil cisimcikler [RF], düz endoplazmik retikulum kümeleri [sER-a], santral granülarite, renk) çeşitli oosit dismorfik özellikleri bildirilmiştir.

Bu bölümde, oosit morfolojik özelliklerinin/dismorfizmlerinin embriyo gelişim potansiyeli açısından öngörü değeri değerlendirilmektedir (Tablo 2). Ayrıca, standart ovaryan stimülasyon sonrasında oosit toplama sırasında immatür olan oositlerin olası kullanımı (kurtarma *in vitro* matürasyonu, rescue-IVM) ele alınmaktadır.

Oosit skorlamasıyla ilgili oosit morfolojik özellikleri

İstanbul Konsensüsü (2011), en uygun oosit morfolojisini; küresel şekilli, düzgün bir ZP ile çevrili, inklüzyon içermeyen tek biçimli saydam sitoplazmaya ve büyüklüğü uygun bir PB'ye sahip oosit olarak tanımlamıştır. Ayrıca oositlerin hem nükleer hem de sitoplazmik matürasyon geçirdiği, bu süreçlerin birbirine eşdeğer olmadığı ve her zaman eşzamanlı da olmadığı belirtilmiştir.

Anket sonuçları, katılımcıların %35'inin oositleri skorlarken İstanbul Konsensüsü (2011) önerilerini her zaman uyguladığını göstermiştir; bu oran, COC skorlamasında %22 ile PB skorlamasında %53 arasında değişmektedir (Ek Veri SII, Şekil 3B).

Kumulus-oosit kompleksi

Çalışmaların çoğu, COC morfolojisi ile biyolojik ve klinik sonuçlar arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir (Daya ve ark., 1990; Ng ve ark., 1999; Lin ve ark., 2003; La Sala ve ark., 2009; Dal Canto ve ark., 2012a). Daha somut olarak, kompakt bir COC ve çok sıkı bir korona varlığının fertilizasyon ve gebelik oranlarıyla negatif ilişkili olduğu saptanmıştır. Öte yandan bir çalışmada COC morfolojisi ile fertilizasyon oranı ya da embriyo klivajı arasında ilişki gözlenmemiştir (Rattanachaiyanont ve ark., 1999). Diğer kanıtlar, COC içinde sıkışmış kan pıhtılarının varlığının, oosit toplama sırasında uzaklaştırılsa bile sonuçlar üzerinde olumsuz etkisi olduğunu göstermektedir (Daya ve ark., 1990; Ebner ve ark., 2008a).

Bu veriler, söz konusu COC özelliklerinin—bir hastadan toplanan COC'lerin çoğunda bulunuyorsa—özellikle inseminasyon için konvansiyonel IVF (cIVF) kullanılıyorsa kayda geçirilmesi gerektiğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, bu değerlendirmenin embriyo yetkinliği açısından olası öngörü değerinin belirlenebilmesi için daha fazla çalışmaya gereksinim vardır.

Zona pellusida

Farklı ZP fenotipleri (kalınlık artışı, yüzey düzensizlikleri ve yoğunluk artışı) bildirilmiştir. Bazı çalışmalar, girintili, daha kalın, koyu ve/veya heterojen ZP'ye sahip oositlerde fertilizasyon oranı, embriyo kalitesi, embriyo gelişimi, gebelik, implantasyon ve canlı doğum oranlarının daha düşük olduğunu bildirmiştir (Bertrand ve ark., 1995; Shi ve ark., 2014; Sauerbrun-Cutler ve ark., 2015; Sousa ve ark., 2015; Pan ve Zhang, 2020; Yang ve ark., 2022). Öte yandan, çeşitli çalışmalarda farklı fenotiplere sahip ZP ile fertilizasyon oranları, embriyo kalitesi, implantasyon oranları (De Sutter ve ark., 1996; Balaban ve ark., 1998; Esfandiari ve ark., 2006; Ten ve ark., 2007; Rienzi ve ark., 2008), embriyonun kriyoprezervasyon sonrası sağkalımı ya da blastokist ve hatching oranları arasında ilişki saptanmamıştır (Balaban ve ark., 2008).

Yalnızca bir çalışma, ZP'si olmayan oositlerin fertilizasyon potansiyelini incelemiştir (Ueno ve ark., 2014). Çok nadiren iki oosit tek bir ZP'yi paylaşabilir. Bir çift (zona ile) birleşik blastokistin transferinden dizigotik ikiz canlı doğum elde edildiği bildirilmiştir (Magdi, 2020). Ayrıca iki olgu sunumunda, biri matür diğeri immatür olan (zona ile) birleşik oositlerin inseminasyonundan elde edilen embriyoların transferi sonrasında canlı doğumlar bildirilmiştir (Fu ve ark., 2022a; Wang ve ark., 2022).

Işığın polarizasyonu ve yayılma yönünden türetilen bir kırılma indisi olan ZP çift kırıcılığı (birefringence), oositlerin gelişim potansiyelini öngörmek için kullanılmıştır. ZP'nin iç tabakasında yüksek çift kırıcılık gösteren oositler, iç tabakada düşük çift kırıcılık gösterenlere kıyasla daha yüksek implantasyon, gebelik ve canlı doğum oranlarıyla ilişkilendirilmiştir (Rama Raju ve ark., 2007; Montag ve ark., 2008; Madaschi ve ark., 2009). Ayrıca düşük çift kırıcılığa sahip oositlerden elde edilen embriyoların transferinde düşük (abortus) oranı daha yüksek bulunmuştur (Madaschi ve ark., 2009). Buna karşılık başka bir çalışma, ZP iç tabakasında yüksek ve düşük çift kırıcılık arasında anlamlı farklılık olmadığını göstermiştir (Tabibnejad ve ark., 2018).

Tablo 2. Oosit değerlendirmesine ilişkin tüm kanıtların ve önerilerin özeti.

Morfolojik özellik	Atipik örüntüler	Derleme bulgularının özeti				Dikkate alınacak noktalar	Öneri
		Fertilizasyon oranı	Blastokist oluşum oranı	İmplantasyon oranı	Canlı doğum oranı		
Kumulus-oosit kompleksi (COC)	Kompakt COC	Daha düşük fertilizasyon oranıyla ilişkili Çok düşük □◯◯◯ 1 gözlemsel çalışma (Rattanachaiyanont ve ark., 1999)	B/D	Daha düşük gebelik oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Dal Canto ve ark., 2012a)	B/D	Bu değerlendirmenin embriyo yetkinliği açısından olası öngörü değeri belirlenmeden önce daha fazla çalışmaya gereksinim vardır	Bir hastadan toplanan COC'lerin çoğunda yoğun bir COC ve çok sıkı bir korona bulunuyorsa bu durum kayda geçirilmelidir
	Kan pıhtısı varlığı	Daha düşük fertilizasyon oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Daya ve ark., 1990; Ebner ve ark., 2008a)	Daha düşük blastokist oluşumuyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Ebner ve ark., 2008a)	B/D			
Zona pellusida (ZP)	Koyu/Kalın ZP	Çelişkili sonuçlar: Fertilizasyon oranıyla belirgin ilişki yok Çok düşük □□□□ 6 gözlemsel çalışma (De Sutter ve ark., 1996; Balaban ve ark., 1998; Esfandiari ve ark., 2006; Ten ve ark., 2007; Rienzi ve ark., 2008; Shi ve ark., 2014) Daha düşük fertilizasyon oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ gözlemsel çalışmalar (Bertrand ve ark., 1995; Shi ve ark., 2014; Pan ve Zhang, 2020)	Blastokist oluşumuyla belirgin ilişki yok Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Balaban ve ark., 2008)	Çelişkili sonuçlar: İmplantasyon oranıyla belirgin ilişki yok Çok düşük □□□□ 3 gözlemsel çalışma (Esfandiari ve ark., 2006; Balaban ve ark., 1998; Pan ve Zhang, 2020) Daha düşük implantasyon oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 3 gözlemsel çalışma (Shi ve ark., 2014; Sauerbrun-Cutler ve ark., 2015; Sousa ve ark., 2015)	Daha düşük canlı doğum oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 3 gözlemsel çalışma (Shi ve ark., 2014; Sauerbrun-Cutler ve ark., 2015; Sousa ve ark., 2015)	Zona pellusida özelliklerinin/dismorfizmlerinin düşük embriyo gelişim potansiyelini öngördüğünü destekleyen kanıtlar yetersizdir	Farklı ZP fenotipleri gösteren oositler klinik kullanım için uygundur.
Perivitellin aralık (PVS)	Geniş PVS	Daha düşük fertilizasyon oranıyla ilişkili Düşük □□□□ 4 gözlemsel çalışmanın 1 meta-analizi ve 2 gözlemsel çalışma (Rienzi ve ark., 2008; Setti ve ark., 2011; Ashrafi ve ark., 2015)	Blastokist oluşum oranıyla belirgin ilişki yok Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Ferrarini Zanetti ve ark., 2018)	Daha düşük implantasyon oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Kahraman ve ark., 2000; Ferrarini Zanetti ve ark., 2018)	B/D	Atipik PVS fenotipinin/büyüklüğünün düşük embriyo gelişim potansiyelini öngördüğünü destekleyen kanıtlar yetersizdir	Farklı PVS fenotipleri gösteren oositler klinik kullanım için uygundur.
	Granüle PVS	Fertilizasyon oranıyla belirgin ilişki yok Çok düşük □□□□ 3 gözlemsel çalışmanın meta-analizi (Setti ve ark., 2011)					

Morfolojik özellik	Atipik örüntüler	Derleme bulgularının özeti				Dikkate alınacak noktalar	Öneri
		Fertilizasyon oranı	Blastokist oluşum oranı	İmplantasyon oranı	Canlı doğum oranı		
Kutup cisimciği (PB)	Fragmante PB	Fertilizasyon oranıyla ilişki yok Düşük □□◯◯ 7 gözlemsel çalışmanın 1 meta-analizi (Setti ve ark., 2011; Ashrafi ve ark., 2015)	Daha düşük blastokist oluşumuyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Zhou ve ark., 2016)	İmplantasyon oranıyla belirgin ilişki yok Çok düşük □□□□ 6 gözlemsel çalışma (Verlinsky ve ark., 2003; Ciotti ve ark., 2004; De Santis ve ark., 2005; Chamayou ve ark., 2006; Ten ve ark., 2007; Zhou ve ark., 2016)	Devam eden gebelik/doğum oranıyla belirgin ilişki yok Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Zhou ve ark., 2016)	Büyük kutup cisimciklerinin embriyo gelişim potansiyeli üzerindeki olası olumsuz etkisini anlamak için gelecekte nicel çalışmalara gereksinim vardır	Fragmante ya da büyük PB gösteren oositler klinik kullanım için uygundur. Çok büyük bir kutup cisimciği anormal mayotik iğ yapılanmasıyla ilişkili olabilir ve daha fazla dikkat gerektirir
	Büyük PB	Daha düşük fertilizasyon oranıyla ilişkili Düşük □□□□ 4 gözlemsel çalışmanın 1 meta-analizi (Setti ve ark., 2011)	B/D	B/D	B/D		
Vakuolizasyon	Vakuol varlığı	Daha düşük fertilizasyon oranıyla ilişkili Düşük □□□□ 3 gözlemsel çalışmanın 1 meta-analizi ve 3 gözlemsel çalışma (Rienzi ve ark., 2008; de Cássia ve ark., 2010; Setti ve ark., 2011; Ashrafi ve ark., 2015)	Daha düşük blastokist oluşum oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Ebner ve ark., 2005; Sousa ve ark., 2016)	B/D	B/D	Düşük embriyo gelişim potansiyeli öngörüsünü destekleyen kanıtlar yetersizdi	Vakuol gösteren oositler klinik kullanım için uygundur
Refraktil cisimcikler (RF)	RF varlığı	Fertilizasyon oranıyla belirgin ilişki yok Düşük □□□□ 3 gözlemsel çalışmanın 1 meta-analizi ve 1 gözlemsel çalışma (Setti ve ark., 2011; Takahashi ve ark., 2020)	Blastokist oluşumuyla belirgin ilişki yok Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Takahashi ve ark., 2020)	İmplantasyon oranıyla belirgin ilişki yok Çok düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Balaban ve ark., 1998; Takahashi ve ark., 2020)	B/D	Bu fenotipin, sonraki embriyo gelişim potansiyelinin düşük olacağını öngördüğünü destekleyen kanıtlar yetersizdi.	Refraktil cisimcik gösteren oositler klinik kullanım için uygundur.
	Büyük RF (>5 µm)	Daha düşük fertilizasyon oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Otsuki ve ark., 2007)	Daha düşük blastokist oluşum oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Otsuki ve ark., 2007)				

Morfolojik özellik	Atipik örüntüler	Derleme bulgularının özeti				Dikkate alınacak noktalar	Öneri
		Fertilizasyon oranı	Blastokist oluşum oranı	İmplantasyon oranı	Canlı doğum oranı		
Düz Endoplazmik Retikulum Kümeleri (sER-a)	sER-a varlığı	Fertilizasyon oranıyla belirgin ilişki yok Düşük □□◯◯ 10 gözlemsel çalışma (Otsuki ve ark., 2004; Ebner ve ark., 2008b; Sá ve ark., 2011; Hattori ve ark., 2014; Setti ve ark., 2016; Shaw-Jackson ve ark., 2016; Gurunath ve ark., 2019; Wang ve ark., 2021; Xu ve ark., 2022; Fang ve ark., 2022)	Blastokist oluşumuyla belirgin ilişki yok Düşük □□□□ 9 gözlemsel çalışma (Ebner ve ark., 2008b; Sá ve ark., 2011; Hattori ve ark., 2014; Setti ve ark., 2016; Shaw-Jackson ve ark., 2016; Gurunath ve ark., 2019; Wang ve ark., 2021; Fang ve ark., 2022; Xu ve ark., 2022)	B/D	B/D	B/D	sER-a pozitif oositler, her olgu ayrı değerlendirilerek insemine edilebilir
Granülarite	Santral sitoplazmik granülasyon	Daha düşük fertilizasyon oranıyla ilişkili Düşük □□□□ 7 gözlemsel çalışma (Serhal ve ark., 1997; Balaban ve ark., 1998; Kahraman ve ark., 2000; Chamayou ve ark., 2006; Wilding ve ark., 2007; Rienzi ve ark., 2008; Yi ve ark., 2019)	Daha düşük blastokist oluşum oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Balaban ve ark., 2008)	Daha düşük implantasyon oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Kahraman ve ark., 2000)	B/D	Fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ve bu fenotipin düşük embriyo gelişim potansiyelini öngördüğünü destekleyen kanıtlar yetersizdi.	Sitoplazmik granülarite gösteren oositler klinik kullanım için uygundur
Şekil	Oval oosit	Fertilizasyon oranıyla ilişki yok Çok düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Ebner ve ark., 2008c; Braga ve ark., 2013)	Daha düşük blastokist oluşum oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Ebner ve ark., 2008c)	İmplantasyon oranıyla ilişki yok Çok düşük □□□□ 5 gözlemsel çalışma (De Sutter ve ark., 1996; Balaban ve ark., 1998; Chamayou ve ark., 2006; Ten ve ark., 2007; Yakin ve ark., 2007)	B/D		Düzensiz şekilli oositler klinik kullanım için uygun kabul edilir.
Renk	Ooplazma koyuluğu	Fertilizasyon oranıyla ilişki yok Düşük □□□□ 1 meta-analiz ve 2 gözlemsel çalışma (Esfandiari ve ark., 2006; Setti ve ark., 2011; Shi ve ark., 2014)	Daha düşük blastokist oluşumuyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Balaban ve ark., 2008)	B/D	B/D	Renk değişkenliğini inceleyen az sayıda çalışma vardır ve bu değişkenlik çoğunlukla diğer anomalilerle birlikte gözlenmiştir.	Renk değişkenliği gösteren oositler klinik kullanım için uygundur.
İmmatürite	İmmatür MI oositleri	Daha düşük fertilizasyon oranıyla ilişkili Düşük □□□□ 6 gözlemsel çalışma (De Vos ve ark., 1999; Balakier ve ark., 2004; Shu ve ark., 2007; Strassburger ve ark., 2010; Yang ve ark., 2021; Shani ve ark., 2023)	Daha düşük blastokist oluşumuyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Yang ve ark., 2021)	B/D	Rescue-IVM ile az sayıda canlı doğum elde edilmiştir Çok düşük □□□□ 4 gözlemsel çalışma (Rubino ve ark., 2016; Escrich ve ark., 2018; Moon ve ark., 2023; Shani ve ark., 2023)		Gelişim potansiyelleri daha düşük olduğundan, immatür oositler kötü prognozlu bireylerde/çiftlerde ve/veya başka seçenek bulunmadığında değerlendirilebilir.

Morfolojik özellik	Atipik örüntüler	Derleme bulgularının özeti				Dikkate alınacak noktalar	Öneri
		Fertilizasyon oranı	Blastokist oluşum oranı	İmplantasyon oranı	Canlı doğum oranı		
	İmmatür GV oositleri	Fertilizasyon oranıyla belirgin ilişki yok Çok düşük □◯◯◯ 2 gözlemsel çalışma (Escrich ve ark., 2018; Shani ve ark., 2023)	Blastokist oluşumuyla belirgin ilişki yok Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Escrich ve ark., 2018)				
Oosit büyüklüğü	Küçük ooplazmalı oosit (<100 µm çap)	Çok düşük gelişim potansiyeli Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Bassil ve ark., 2021)	B/D	B/D	B/D		Gelişim potansiyelleri daha düşük olduğundan, çok küçük oositler yalnızca başka seçenek bulunmadığında değerlendirilebilir.
	Dev oosit (>180 µm çap)	Olası komplikasyonlar Çok düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Rosenbusch ve ark., 2002; Kitasaka ve ark., 2022)	B/D	B/D	B/D		Olası tetraploid kökenleri nedeniyle dev oositlerin tüm IVF/ICSI tedavi programlarının dışında bırakılması önerilir.

COC, kumulus-oosit kompleksi; GV, germinal vezikül; IVM, *in vitro* matürasyon; MI, metafaz I; B/D, bildirilmemiş (not reported); PB, kutup cisimciği; PVS, perivitellin aralık; RF, refraktil cisimcikler; sER-a, düz endoplazmik retikulum kümeleri; ZP, zona pellusida. **Tablo renk kodu**: Yeşil: oosit klinik olarak kullanılabilir; Sarı: oosit dikkatli değerlendirmeyle kullanılabilir; Kırmızı: oosit klinik kullanım için uygun kabul edilmez.

ZP özelliklerinin düşük embriyo gelişim potansiyelini öngördüğünü destekleyen kanıtlar yetersizdir. Bu nedenle farklı ZP fenotipleri gösteren oositler klinik kullanım için uygun kabul edilmektedir.

Perivitellin aralık

Literatürde farklı PVS fenotipleri ile gelişimsel yetkinliği değerlendiren çelişkili raporlar bulunmaktadır (De Sutter ve ark., 1996; Balaban ve ark., 1998; Hassan-Ali ve ark., 1998; Farhi ve ark., 2002; Chamayou ve ark., 2006; Ten ve ark., 2007; Balaban ve ark., 2008; Rienzi ve ark., 2008; Ashrafi ve ark., 2015; Sauerbrun-Cutler ve ark., 2015; Ferrarini Zanetti ve ark., 2018; Weghofer ve ark., 2019). Üç çalışma özellikle geniş PVS ve fertilizasyon oranına odaklanmış ve anlamlı negatif bir ilişki saptamıştır (De Sutter ve ark., 1996; Xia, 1997; Ten ve ark., 2007; Rienzi ve ark., 2008; Setti ve ark., 2011; Ashrafi ve ark., 2015).

Öte yandan, düşük embriyo gelişim potansiyeli öngörüsünü destekleyen kanıtlar yetersizdir. Bu nedenle farklı PVS fenotipleri gösteren oositler klinik kullanım için uygun kabul edilmektedir.

Kutup cisimciği

Büyük ya da fragmante PB sık bildirilmektedir. PB fragmantasyonu ile fertilizasyon arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Bazı çalışmalar farklı PB fenotipleri ile erken embriyo gelişimi arasında ilişki göstermiş olsa da (Ebner ve ark., 2000; Chamayou ve ark., 2006; Fancsovits ve ark., 2006; Rienzi ve ark., 2008; Navarro ve ark., 2009; Zhou ve ark., 2016), implantasyon ya da klinik gebelikle ilişki bildirilmemiştir (Verlinsky ve ark., 2003; Ciotti ve ark., 2004; De Santis ve ark., 2005; Ten ve ark., 2007; Liu ve ark., 2024).

PB büyüklüğünün ve fragmantasyonunun düşük embriyo gelişim potansiyelini öngördüğünü destekleyen kanıtlar yetersizdir. Bu nedenle fragmante ya da büyük PB gösteren oositler klinik kullanım için uygun kabul edilmektedir. Bununla birlikte, çok nadir görülse de orantısız biçimde büyük bir PB anormal mayotik iğ morfolojisi ya da konumlanmasıyla ilişkili olabilir ve daha fazla dikkat gerektirir.

Şekil

Matür insan oositleri genellikle küresel şekillidir; bununla birlikte oval şekilli oositler de bildirilmektedir. Genel olarak oval şeklin laboratuvar ve klinik sonuçları etkilemediği görülmektedir (De Sutter ve ark., 1996; Balaban ve ark., 1998; Chamayou ve ark., 2006; Ten ve ark., 2007; Yakin ve ark., 2007; Anagnostopoulou ve ark., 2022). 4 hücreli evrede blastomerlerin düzlemsel dizilimine yol açan oval bir oosit söz konusu olduğunda, blastokist evresine kadar olan gelişimin geciktiği saptanmıştır (Ebner ve ark., 2008c).

Düzensiz şekilli oositler klinik kullanım için uygun kabul edilmektedir.

Oosit büyüklüğü

ZP kalınlığı hesaba katılmaksızın, küçük (<100 µm çap) ve büyük (≥125 µm çap) oositlerin gelişim potansiyelinin çok düşük olduğu bildirilmiştir (Bassil ve ark., 2021).

Dev oositler (ör. >180 µm çap), olası tetraploid kökenleri nedeniyle klinik kullanım dışında bırakılmalıdır (Rosenbusch ve ark., 2002; Kitasaka ve ark., 2022). Bu oositlerin, büyük olasılıkla iki primordiyal oositin kaynaşmasından köken aldığı düşünülmektedir. Bu durum, iki diploid kromozom takımının ve toplamda tetraploid bir oosit yapısının varlığını düşündürmektedir (Balakier ve ark., 2002; Rosenbusch ve ark., 2002; Munné ve ark., 2004). Öte yandan, dev oositlerle aynı kohortta bulunan normal çaplı oositlerin normal gelişim potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir (Machtinger ve ark., 2011; Lehner ve ark., 2015).

Vakuolizasyon

Vakuoller, oosit matürasyonunun sonunda ortaya çıkan, membranla çevrili, saydam ve sıvı dolu sitoplazmik inklüzyonlardır (Otsuki ve ark., 2004; Sfontouris ve ark., 2018). Vakuoller tek tek ya da çok sayıda görülebilir (Fancsovits ve ark., 2011). Çok büyük vakuoller (>25 µm) oositin hücre iskeleti yapısını bozarak sperm-oosit sinyalleşmesini, sperm bağlanmasını, mayozun yeniden başlamasını ve embriyo gelişimini olumsuz etkileyebilir (Wallbutton ve Kasraie, 2010; Dal Canto ve ark., 2017).

Farklı çalışmalar vakuolizasyonun daha düşük fertilizasyon oranı, bozulmuş embriyo gelişimi ve daha düşük blastülasyon ve kriyoprezervasyon sonrası sağkalım oranlarıyla ilişkili olduğunu göstermiştir (Ebner ve ark., 2005; Balaban ve Urman, 2006; Ebner ve ark., 2006; Ten ve ark., 2007; Balaban ve ark., 2008; Rienzi ve ark., 2008; de Cássia ve ark., 2010; Sousa ve ark., 2016). Özellikle vakuol varlığı ile daha düşük fertilizasyon arasındaki ilişki bir meta-analizde doğrulanmıştır (Setti ve ark., 2011). Bununla birlikte bu analizde, düşük embriyo gelişim potansiyeli öngörüsünü destekleyen kanıtlar yetersiz bulunmuştur. Bu nedenle vakuol gösteren oositler klinik kullanım için değerlendirilmektedir. Ancak ICSI olgularında spermin bir vakuol içine enjekte edilmemesine dikkat edilmelidir.

"Boğa gözü inklüzyonu" (bull's-eye inclusion) olarak adlandırılan yapı; vezikülleri içeren, lipid damlacıklarıyla çevrili, belirgin, düzgün ve küresel bir oluşumdur (Sousa ve ark., 2016). Bu yapıların gelişim potansiyeli üzerindeki etkisi bilinmemektedir.

Refraktil cisimcikler

RF'ler lipidler ile yoğun granüler materyalin karışımından oluşur. Lipofusine özgü sarı bir otofloresans gösterirler (Sathananthan, 1994). Az sayıda yayın, RF'nin embriyo gelişim potansiyeli açısından öngörü değerini araştırmıştır (Alikani ve ark., 1995; De Sutter ve ark., 1996; Balaban ve ark., 1998; Ebner ve ark., 2000; Otsuki ve ark., 2004; Setti ve ark., 2011; Takahashi ve ark., 2020). Bu fenotipin varlığı, özellikle 5 µm'den büyük olduğunda, daha düşük fertilizasyon oranıyla ilişkilendirilmektedir (Otsuki ve ark., 2007).

Fertilizasyon oranı etkilenebilse de, bu fenotipin sonraki embriyo gelişiminin olumsuz seyredeceğini öngördüğünü destekleyen kanıtlar yetersizdir. Bu nedenle RF gösteren oositler klinik kullanım için uygun kabul edilmektedir.

Düz endoplazmik retikulum kümeleri (sER-a)

Ultrastrüktürel açıdan sER-a, mitokondrilerle çevrili tübüler kümelerden oluşur ve çevresindeki bölgelere göre daha yoğun paketlenmiş alanlar olarak görünür (Sá ve ark., 2011). sER-a, oosit kalitesinin olası biyobelirteçleri olarak tanımlanmıştır. Çok sayıda çalışma daha düşük fertilizasyon (Sá ve ark., 2011; Massarotti ve ark., 2021), embriyo kalitesi (Ebner ve ark., 2008b; Sá ve ark., 2011; Braga ve ark., 2013; Massarotti ve ark., 2021; Wang ve ark., 2021) ve gebelik oranlarına (Otsuki ve ark., 2004; Setti ve ark., 2016; Gurunath ve ark., 2019; Massarotti ve ark., 2021); ayrıca artmış düşük (abortus) oranlarına (Otsuki ve ark., 2004; Ebner ve ark., 2008b; Braga ve ark., 2013) işaret etmiştir. Ayrıca küçük ölçekli çalışmalarda, bu dismorfizmle ilişkili olarak daha yüksek perinatal komplikasyon ve doğum kusuru oranları bildirilmiştir (Otsuki ve ark., 2004; Ebner ve ark., 2008b; Akarsu ve ark., 2009; Sá ve ark., 2011; Mateizel ve ark., 2013; Sfontouris ve ark., 2018). Buna karşılık daha yeni çalışmalar ve bir meta-analiz, fertilizasyon oranı, blastokist oluşum oranı, neonatal sonuçlar (Hattori ve ark., 2014; Shaw-Jackson ve ark., 2016; Itoi ve ark., 2017; Zhang ve ark., 2021; Fang ve ark., 2022) ya da öploidi oranları (Xu ve ark., 2022; Mizobe ve ark., 2023; Wang ve ark., 2023) açısından farklılık bildirmemiştir; bu kanıt bütünü, Viyana Konsensüsü'nce de desteklenen (ESHRE Special

Interest Group of Embryology and Alpha Scientists in Reproductive Medicine, 2017), sER-a pozitif oositlerin klinik kullanımının değerlendirilebileceği yönündeki öneriyi güçlendirmektedir.

Granülarite

Santral granülasyon gösteren oositler; kusurlu pronükleus morfolojisi, azalmış embriyo kalitesi (Ebner ve ark., 2008a; Rienzi ve ark., 2008), azalmış kriyoprezervasyon sonrası sağkalım oranı, bozulmuş embriyo gelişim yetkinliği (Balaban ve ark., 2008; Ebner ve ark., 2008a; Rienzi ve ark., 2008), artmış anöploidi oranı (Wang ve ark., 2023) ve daha düşük devam eden gebelik oranıyla (Kahraman ve ark., 2000) ilişkilendirilmiştir. Buna karşılık diğer çalışmalar ve meta-analizler, santral yerleşimli sitoplazmik granülasyonun normal/tipik bir oosit morfolojik özelliği olabileceğini düşündürmektedir (Wilding ve ark., 2007; Setti ve ark., 2011; Yi ve ark., 2019). Hâlihazırda, bu oositlerin canlı gebelik oluşturma potansiyelini inceleyen çalışma bulunmamaktadır. Mevcut kanıtlar, bu dismorfizmin düşük embriyo gelişim potansiyelini öngördüğünü desteklemeye yetmemektedir. Bu nedenle sitoplazmik granülarite gösteren oositler klinik kullanım için uygun kabul edilmektedir.

Renk

Sınırlı sayıda çalışma, çoğunlukla diğer anomalilerle birlikte gözlenen saydamlık değişkenliğini incelemiştir. Bazıları ooplazma koyuluğu ile daha düşük embriyo kalitesi arasında ilişki olduğunu öne sürmüştür (Loutradis ve ark., 1999; Ten ve ark., 2007). Ancak bu bulgu diğer araştırmalarca doğrulanmamıştır (De Sutter ve ark., 1996; Balaban ve ark., 1998; Esfandiari ve ark., 2006; Balaban ve ark., 2008; Shi ve ark., 2014). Bu gözlemlerin oldukça öznel niteliği ve verilerin heterojenliği herhangi bir sonuca varmayı engellemektedir. Bu nedenle saydamlıkta değişkenlik gösteren oositler klinik kullanım için uygun kabul edilmektedir.

İmmatürite

Standart ovaryan stimülasyon sonrasında oositlerin yaklaşık %15–20'si birinci PB'yi atamaz ve metafaz II (MII) evresine ulaşamayarak metafaz I (MI) ya da germinal vezikül (GV) evresinde kalır (ESHRE Special Interest Group of Embryology and Alpha Scientists in Reproductive Medicine, 2017; ESHRE Clinic PI Working Group ve ark., 2021). Polarize ışık mikroskopisi kullanan çalışmalar, PVS'de bir PB görülmesine karşın bazı oositlerin hâlâ immatür olabileceğini, yani erken Telofaz I'de bulunabileceğini göstermiştir. Bu evrede ooplazma ile oluşmakta olan PB arasında hâlâ bir bağlantı vardır ve mayoz I'in mayotik iği, ayrılmakta olan iki hücre arasında konumlanmıştır (Rienzi ve ark., 2003; Petersen ve ark., 2009; Rienzi ve ark., 2012; Holubcová ve ark., 2019). Dolayısıyla oositin mayotik matüritesi ancak sitoplazmada mayoz II iğinin varlığının gözlenmesiyle kesin olarak değerlendirilebilir. Bu değerlendirmenin embriyonun gelişimsel sonucunu öngörmedeki öneminin aydınlatılabilmesi için daha fazla kanıta gereksinim vardır (Rienzi ve ark., 2011; Tabibnejad ve ark., 2018; Halim ve ark., 2024).

İmmatür oositler genellikle inseminasyonda kullanılmaz ve atılır. Bununla birlikte, kötü prognozlu hastalarda ve senkronize olmayan folikül kohortuna sahip hastalarda, bir süre in vitro kültürden sonra matür hâle gelebilen immatür oositlerin (yani rescue-IVM oositlerinin) kullanımı, her siklusta elde edilen embriyo sayısına katkıda bulunarak genel gebelik şansını artırabilir (Shu ve ark., 2007). Çeşitli çalışmalar, denüdasyondan sonraki 2–6 saat içinde matür hâle gelen MI oositlerinin enjekte edilebileceğini ve kullanılabilir embriyo sayısına katkı sağlayabileceğini göstermiştir (De Vos ve ark., 1999; Balakier ve ark., 2004; Shu ve ark., 2007). Buna karşılık MI ve GV oositlerinin gece boyunca *in vitro* kültürü sonuçları iyileştirmemiştir. 24 saat sonra *in vitro* matür hâle gelen GV ve MI oositleri, fertilizasyon ve blastokist oluşum oranları açısından daha kötü sonuçlar vermektedir (Yang ve ark., 2021); bunun nedeni büyük olasılıkla kromozomal olarak anormal olma riskinin daha yüksek olmasıdır (Strassburger ve ark., 2010). TLT analizi de rescue-IVM oositlerinin morfokinetik profil bakımından aynı kohorttaki MII oositlerinden farklı olduğunu ve embriyo gelişiminin erken evrelerinde gecikme gösterdiğini doğrulamıştır (Faramarzi ve ark., 2018; Margalit ve ark., 2019; Shani ve ark., 2023). Bununla birlikte rescue-IVM yaklaşımının uygulanabilirliği, embriyo verimine katkı sağladığını ve bu embriyolarla az sayıda canlı doğum elde edildiğini bildiren bazı çalışmalarca desteklenmektedir (Rubino ve ark., 2016; Escrich ve ark., 2018; Moon ve ark., 2023; Shani ve ark., 2023).

Gelişim potansiyellerinin daha düşük olması nedeniyle immatür oositler, kötü prognozlu olgularda klinik kullanım için değerlendirilebilir.

Oosit morfolojisi ve morfokinetiği

Bazı çalışmalar, farklı sitoplazmik fenotipler ile morfokinetik arasındaki olası ilişkiyi araştırmıştır. Oosit değerlendirmesinde standart bir işlem olmamakla birlikte, yakın tarihli bir çalışmada ZP çift kırıcılığının embriyo morfokinetiğiyle ilişkili olmadığı gösterilmiş (Tabibnejad ve ark., 2018); başka bir çalışmada ise yüksek çift kırıcılığa sahip oositlerde t5'in daha erken olduğu bildirilmiştir (Faramarzi ve ark., 2017). İkinci çalışmada tPB2, t5 ve t8 (sırasıyla ikinci kutup cisimciğinin [PBII] atılmasına ve gelişimin 5 ve 8 hücreli evreye ulaşmasına kadar geçen süre) oosit çapıyla ilişkili bulunmuş; PVS büyüklüğü ise erken gelişim morfokinetiğiyle ilişkili bulunmamıştır (Faramarzi ve ark., 2019). Son olarak, sER-a içeren oositlerde PBII atılım başarısızlığı ve mitotik klivaj başarısızlığı sıklığının, sER-a içermeyen oositlere göre anlamlı biçimde daha yüksek olduğu saptanmıştır (Otsuki ve ark., 2018).

Genel olarak, tek tek dismorfik özellikler canlılık ve gelişim potansiyeli ya da klinik sonuçlarla güçlü biçimde ilişkili olmayabilir. Bununla birlikte, bu özelliklerden iki ya da daha fazlasının bir arada bulunmasının sonuçlar üzerinde olumsuz etki yaratması olasıdır (Alikani ve ark., 1995; Bartolacci ve ark., 2022).

Uzlaşı noktaları

- Dev oositler klinik kullanım dışında bırakılmalıdır.
- Küçük/büyük oositlerin ve IVM ile kurtarılmış oositlerin kullanımı, görünüşte daha düşük gelişim potansiyelleri nedeniyle prognostik amaçla ve izlenebilirlik açısından kayıt altına alınmalıdır.
- Büyük ya da çok sayıda vakuol, sER-a, orantısız şekil ve çok büyük birinci PB görülmeyen MII oositlerinden elde edilen embriyolar klinik kullanımda önceliklendirilmelidir.
- Atipik fenotipe sahip oositlerin veya rescue-IVM oositlerinin kullanıldığı olgularda, gebeliklerin prenatal izlemine ve doğan bebeklerin takibine özen gösterilmelidir.

3. Zigot evresi

TLT, normal (Payne ve ark., 1997; Mio ve Maeda, 2008; Aguilar ve ark., 2014; Coticchio ve ark., 2018) ve anormal (Ezoe ve ark., 2022b; Wei ve ark., 2022) fertilizasyon sırasında gerçekleşen morfokinetik değişikliklerin karmaşıklığını ortaya koymuş ve fertilizasyon değerlendirmesine daha doğru ve derinlemesine bir yaklaşım getirmiştir. Bu evrenin dinamik izlenmesi, daha önce statik gözlemle olanaklı değildi. Anöploidi için preimplantasyon genetik test (PGT-A) de pronükleer anormallikleri olan zigotların kromozomal yapısının tanımlanmasına katkı sağlamaktadır.

Bu bölümde, zigot değerlendirmesi için en uygun zamanlama ile zigot özelliklerinin embriyo gelişim potansiyeli açısından önemi gözden geçirilmektedir.

Zigot değerlendirmesinin zamanlaması

İstanbul Konsensüsü (2011), statik fertilizasyon değerlendirmesini "17 ± 1 hpi'de iki kutup cisimciğinin (PB) ve iki pronükleusun (PN) gözlenmesine dayalı, basit bir işlem" olarak nitelendirmiştir.

Anket sonuçları, katılımcıların %68'inin zigot evresini 17 ± 1 hpi'de değerlendirmeye ilişkin İstanbul Konsensüsü (2011) önerilerini her zaman uyguladığını göstermiştir (Ek Veri SII, Şekil 3A).

PN gözleminin zamanlamasını en iyi hâle getirmeyi amaçlayan yalnızca bir çalışma bulunmakla birlikte, bu çalışma oldukça geniş kapsamlı bir TLT çalışmasıdır (Barrie ve ark., 2021b). 54 746'dan fazla ICSI ve 26 302 cIVF embriyosunun izlendiği çalışmada, 2PN zigot sayısı 15–20 hpi arasında 30 dakikalık aralıklarla kaydedilmiştir. Her iki inseminasyon grubunda da görünür 2PN zigot oranının en yüksek olduğu (>%98) aralık 16,0–16,5 hpi olmuştur. Daha geç aralıklarda bu oran, bazı zigotlarda erken pronükleus yıkımı (PNBD) nedeniyle giderek azalmıştır.

Zigot değerlendirmesiyle ilgili morfolojik özellikler

İstanbul Konsensüsü (2011), en uygun fertilize oositi, iki kutup cisimciğine ve santral yerleşimli, yan yana duran, eşit büyüklükte ve belirgin membranlı iki pronükleusa sahip küresel bir oosit olarak tanımlamıştır (Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group Embryology, 2011). Pronükleuslar, ideal olarak iki PN'nin yan yana geldiği membran bölgesinde kümelenmiş, sayı ve büyüklük bakımından karşılaştırılabilir nükleolar öncü cisimcikler (NPB) içermelidir.

Anket sonuçları, katılımcıların %68'inin pronükleus evresini skorlamaya ilişkin İstanbul Konsensüsü (2011) önerisini her zaman uyguladığını göstermiştir (Ek Veri SII, Şekil 3B).

Pronükleus evresi özelliklerinin embriyo kalitesi açısından öngörü değeri aşağıda tartışılmaktadır (Tablo 3).

Zigot büyüklüğü

Oosit ve zigot büyüklüğü genellikle çap, izdüşüm alanı ya da hacim olarak bildirilir. Fertilize oositler, PBII atılımının da bir sonucu olarak, fertilizasyon sırasında normalde kademeli ve sınırlı bir küçülme gösterir (Liu ve ark., 2014). Bir çalışma bu olguyu incelemiş ve canlı doğum oranıyla ilişki bulunmadığını bildirmiştir (Barberet ve ark., 2019). Daha yeni bir analiz ise 17 hpi'de gözlenen zigot çapı/sitoplazmik hacim ile blastokist kalitesi arasında negatif bir korelasyon olduğunu düşündürmüştür (Kljajic ve ark., 2023). Toplu olarak bu kanıtlar, zigot büyüklüğünün embriyo gelişim potansiyeli açısından öngörücü bir parametre olabileceği varsayımı bakımından yetersizdir ve kesin bir sonuca varılmasına olanak vermemektedir.

Pronükleuslar (PN)

Konum. İki çalışma, TLT kullanarak PN konumunu gelişimsel bir biyobelirteç olarak incelemiştir. Nadiren gözlenmekle birlikte, PNBD'den kısa süre önce kaydedilen merkez dışı konum, anormal bölünmeyle—yani trikotom klivajla—ilişkilendirilmiştir (Coticchio ve ark., 2018). Yan yana gelme anındaki (8–9 hpi) merkez dışı PN konumunun, çok değişkenli analiz sonrasında da canlı doğum oranının yarıya düşmesiyle ilişkili olduğu saptanmıştır (Barberet ve ark., 2019). Dikkat çekici olarak, ikinci çalışmada gözlenen bu özellik, 16–17 hpi'de yapılan tek bir statik gözlemle saptanamaz.

Yan yana gelme (juxtaposition). Bir TLT raporunda, fertilizasyon boyunca PN'lerin yan yana gelmemesi zigotların %1–2'sinde gözlenmiştir. Bu fenotipte klivaj, morula ve blastokist oluşum oranları olumsuz etkilenmiştir (Ezoe ve ark., 2022a).

Büyüklük. PN'ler oluşur oluşmaz giderek büyür ve son büyüklüklerine PNBD'den kısa süre önce ulaşır (Otsuki ve ark., 2017; Orevich ve ark., 2022). TLT incelemeleri, baba kaynaklı PN'nin normalde anne kaynaklı olandan daha büyük olduğunu doğrulamıştır (Barberet ve ark., 2019; Ezoe ve ark., 2022b; Orevich ve ark., 2022). İki PN arasındaki büyüklük farkı, fertilizasyon ilerledikçe giderek azalma eğilimindedir. 16–18 hpi aralığında ya da PNBD'den hemen önce değerlendirildiğinde, bu fark canlı doğumla sonuçlanan zigotlarda daha küçük bulunmuştur (Otsuki ve ark., 2017; Otsuki ve ark., 2019). Ayrıca TLT sonuçları, PN büyüklüğünün sonuçla ilişkili bağımsız bir parametre olarak değeri konusunda kesin değildir. Toplu olarak bu çalışmalar, PN konumu, yan yana gelmesi ve büyüklüğündeki anormalliklerin çok nadir olduğunu ve statik gözlemle izlenmesinin güç, hatta neredeyse olanaksız olduğunu düşündürmektedir.

Nükleolar öncü cisimcikler

NPB'ler, bileşimi büyük ölçüde bilinmeyen fibriler materyalin pronükleus içi kümeleridir. Amorf materyalden yoğunlaştıktan sonra büyürler ve son olarak PN'lerin yan yana geldiği bölgede kümelenirler. NPB'nin yoğunlaşması ve kümelenmesi, zigotik kromatinin dağılımını yansıtır (Cavazza ve ark., 2021). Kromatinin yeniden düzenlenmesi, en uygun kromozom-iğ mikrotübülleri etkileşimi ve nihayetinde kromozom kongresyonu için ön koşul olabilir. NPB'lere ilişkin TLT kanıtları tutarlı değildir. İmplantasyon ve canlı doğuma odaklanan çalışmalar (Azzarello ve ark., 2012; Aguilar ve ark., 2014; Barberet ve ark., 2019), karmaşık hesaplamalı yöntemlerle NPB hızı değerlendirilmediği sürece (Inoue ve ark., 2021; Inoue ve ark., 2023), NPB örüntüsünün öngörü değeri olduğunu göstermemiştir. Yakın tarihli bir başka araştırma (Cavazza ve ark., 2021), her iki PN'de yan yana gelme bölgelerinde NPB kümelenmesi ile blastokist gelişimi açısından daha yüksek yetkinlik arasında pozitif bir ilişki olduğunu düşündürmüş ve statik gözleme dayalı önceki verileri doğrulamıştır (Tesarik ve Greco, 1999). Bu tür çelişkiler beklenen bir durumdur. Nitekim NPB kümelenmesi süreklilik gösteren bir süreçtir; erkek ve dişi PN'de farklı kinetiklerle ilerler (Mio ve Maeda, 2008; Coticchio ve ark., 2018) ve bir kez gerçekleştikten sonra bile, PNBD'den önceki birkaç saat içinde NPB'lerin aktif olarak dağılması nedeniyle kaybolabilir (Cavazza ve ark., 2021). Bu durum, NPB örüntüsünün embriyo kalitesinin biyobelirteci olarak kullanılmasını güçleştirmektedir.

Tablo 3. Zigot değerlendirmesine ilişkin tüm kanıtların ve önerilerin özeti.

Morfolojik özellik	Atipik örüntüler	Derleme bulgularının ve sonlanıma göre kanıt düzeyinin özeti					Dikkate alınacak noktalar	Öneri
		Anormal klivaj oranı	Klivaj oranı	Blastokist oluşum oranı	İmplantasyon oranı	Canlı doğum oranı		
Zigot büyüklüğü	Çap <113 µm	B/D	B/D	Daha düşük blastokist oluşum oranıyla ilişkili Çok düşük □◯◯◯ 1 gözlemsel çalışma (Kljajic ve ark., 2023)	B/D	Canlı doğum oranıyla belirgin ilişki yok Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Barberet ve ark., 2019)	Zigot büyüklüğünün embriyo gelişim potansiyelini öngörmede kullanılabileceği varsayımı bakımından kanıtlar yetersizdir ve kesin bir sonuca varılmasına olanak vermemektedir.	Çok sayıda zigot özelliği—zigot büyüklüğü, PN büyüklüğü, PN konumu, NPB örüntüsü—embriyo kalitesi ve klinik sonuçla ilişkili olabilir. PN'lerin yan yana gelmemesi çok nadirdir, ancak kötü blastokist gelişimiyle güçlü biçimde ilişkilidir.
PN konumu	Merkez dışı konum	Daha yüksek anormal klivaj oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Coticchio ve ark., 2018)	B/D	B/D	B/D	B/D	PN konumu, yan yana gelmesi ve büyüklüğündeki anormallikler çok nadirdir ve statik gözlemle izlenmesi güç ya da olanaksızdır. İncelenen özelliklerin biyobelirteç olarak kullanılması için kanıtlar yetersizdir.	
	Merkez dışı yan yana gelme	B/D	B/D	B/D	B/D	Daha düşük canlı doğum oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Barberet ve ark., 2019)		
	PN'lerin yan yana gelmemesi	Daha yüksek anormal klivaj oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Ezoe ve ark., 2022a)	Daha düşük klivaj oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Ezoe ve ark., 2022a)	Daha düşük blastokist oluşum oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Ezoe ve ark., 2022a)	B/D	Canlı doğum oranıyla belirgin ilişki yok Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Ezoe ve ark., 2022a)		
	Pronükleuslar arası Erkek ve dişi PN alanları arasındaki fark	B/D	B/D	B/D	B/D	Daha düşük canlı doğum oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Otsuki ve ark., 2017, 2019)		
Nükleolar öncü cisimcikler	NPB örüntüleri (Z1–Z4)	B/D	B/D	Daha yüksek blastokist oluşum oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Cavazza ve ark., 2021)	İmplantasyon oranıyla belirgin ilişki yok Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Aguilar ve ark., 2014)	Canlı doğum oranıyla belirgin ilişki yok Çok düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Azzarello ve ark., 2012; Barberet ve ark., 2019)	Kısa zaman aralıklarındaki doğal morfolojik değişkenlik (NPB örüntüsü) statik gözleme uygun değildir	
	Göç hızı	B/D	B/D	B/D	B/D	Daha yüksek canlı doğum oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Inoue ve ark., 2021; Inoue ve ark., 2023)		

Morfolojik özellik	Atipik örüntüler	Derleme bulgularının ve sonlanıma göre kanıt düzeyinin özeti					Dikkate alınacak noktalar	Öneri
		Anormal klivaj oranı	Klivaj oranı	Blastokist oluşum oranı	İmplantasyon oranı	Canlı doğum oranı		
Sitoplazmik halo	Sitoplazmik halo yokluğu	Daha yüksek anormal klivaj oranıyla ilişkili Çok düşük □ □ □ □ 1 gözlemsel çalışma (Ezoe ve ark., 2020)	Daha düşük klivaj oranıyla ilişkili Çok düşük □ □ □ □ 1 gözlemsel çalışma (Ezoe ve ark., 2020)	Daha düşük blastokist oluşum oranıyla ilişkili Çok düşük □ □ □ □ 1 gözlemsel çalışma (Ezoe ve ark., 2020)	B/D	Canlı doğum oranıyla belirgin ilişki yok Çok düşük □ □ □ □ 2 gözlemsel çalışma (Barberet ve ark., 2019; Ezoe ve ark., 2023)	Kanıtlar, özellikle embriyo kültürü blastokist evresine uzatıldığında halonun önemini tartışmalı kılmaktadır.	Sitoplazmik halo yokluğu, 3. gün embriyo transferlerinde embriyoları sıralamak için kullanılabilir, ancak eleme ölçütü olarak kullanılmamalıdır.
PN sayısı	0PN	B/D	Daha düşük klivaj oranıyla ilişkili Çok düşük □ □ □ □ 1 gözlemsel çalışma (Fu ve ark., 2022b)	Blastokist oluşum oranıyla belirgin ilişki yok Çok düşük □ □ □ □ 1 gözlemsel çalışma (Fu ve ark., 2022b)	İmplantasyon oranıyla belirgin ilişki yok Düşük □ □ □ □ 3 gözlemsel çalışma (Liu ve ark., 2016; Li ve ark., 2020; Fu ve ark., 2022b)	Canlı doğum oranıyla belirgin ilişki yok Düşük □ □ □ □ 4 gözlemsel çalışma (Liu ve ark., 2016; Destouni ve ark., 2018; Li ve ark., 2021; Fu ve ark., 2022b)	PN oluşumunun yokluğunun (0PN olarak adlandırılır) embriyo gelişimiyle bağdaştığı varsayımı morfokinetik kanıtlarla doğrulanmamaktadır.	Statik gözleme dayanıyorsa "0PN" terimi kullanılmamalıdır. Erken PNBD geçiren ve bu nedenle statik gözlemle saptanamayan normal zigotlar için "2PN gözlenmedi" ya da "2PN bildirilmedi" alternatif tanımlar olabilir.
	1PN	Daha yüksek anormal klivaj oranıyla ilişkili Çok düşük □ □ □ □ 1 gözlemsel çalışma (Ezoe ve ark., 2020)	Klivaj oranıyla belirgin ilişki yok Düşük □ □ □ □ 2 gözlemsel çalışma (Capalbo ve ark., 2017; Fu ve ark., 2022b)	Daha düşük blastokist oluşum oranıyla ilişkili Düşük □ □ □ □ 3 gözlemsel çalışma (Itoi ve ark., 2015; Capalbo ve ark., 2017; Ezoe ve ark., 2022b)	İmplantasyon oranıyla belirgin ilişki yok Düşük □ □ □ □ 6 gözlemsel çalışma (Itoi ve ark., 2015; Hondo ve ark., 2019; Si ve ark., 2019; Li ve ark., 2020; Li ve ark., 2021; Fu ve ark., 2022b)	Canlı doğum oranıyla belirgin ilişki yok Düşük □ □ □ □ 6 gözlemsel çalışma (Itoi ve ark., 2015; Hondo ve ark., 2019; Si ve ark., 2019; Li ve ark., 2020; Li ve ark., 2021; Fu ve ark., 2022b)	Tek PN'nin daha büyük olmasının daha yüksek, olasılıkla diploid bir DNA içeriğini yansıtması olasıdır. 1PN ve 2.1PN zigotlarının olası klinik kullanımı klinik ekiple görüşülmeli ve kurum içinde onaylanmış bir politikayla düzenlenmelidir.	Kanıtlar, blastokist kültürü ve—mevcutsa—biparental diploidi değerlendirmesine uygun PGT-A teknolojisiyle birlikte 1PN zigotlarının dikkatli klinik kullanımının olanaklı olduğunu düşündürmektedir
	2.1PN	B/D	Daha düşük klivaj oranıyla ilişkili Çok düşük □ □ □ □ 1 gözlemsel çalışma (Capalbo ve ark., 2017)	Daha düşük blastokist oluşum oranıyla ilişkili Çok düşük □ □ □ □ 1 gözlemsel çalışma (Capalbo ve ark., 2017)	B/D	B/D		Küçük bir mikropronükleus içeren 2PN zigotlarının (2.1PN) klinik kullanımı, özellikle biparental diploidi değerlendirmesine uygun PGT-A teknolojisiyle birlikte değerlendirilebilir
	3PN	B/D	B/D	B/D	B/D	B/D	3PN zigotlarından gelişen 30 embriyonun 10'unda normal kromozom dizilimi saptanmıştır	3PN zigotlarının klinik kullanımı önerilmemektedir; ancak preklinik çalışmalar teşvik edilmelidir

NPB, nükleolar öncü cisimcikler; B/D, bildirilmemiş (not reported); PGT-A, anöploidi için preimplantasyon genetik test; PN, pronükleus. **Tablo renk kodu**: Yeşil: embriyo klinik olarak kullanılabilir; Sarı: embriyo dikkatli değerlendirmeyle kullanılabilir; Kırmızı: embriyo klinik kullanım için uygun kabul edilmez.

Sitoplazmik halo

Sitoplazmik halo, zigotun azalmış sitoplazmik granülarite ile belirginleşen kortikal alanı olarak tanımlanır. Zigotların çoğunda (%82–98) görülebilir olup simetrik ya da asimetrik konumlanabilir (Ebner ve ark., 2003). Halo genellikle PN ortaya çıktıktan 2–4 saat sonra oluşur ve PNBD'den yaklaşık 1 saat önce kaybolur (Coticchio ve ark., 2018; Ezoe ve ark., 2020). Oluşumu büyük olasılıkla mitokondrilerin ve diğer organellerin PN'leri çevreleyen alana doğru sentripetal yer değiştirmesine bağlıdır (Squirrell ve ark., 2003). 1009 zigotu kapsayan ve özellikle bu özelliğe odaklanan bir TLT çalışmasında, halo yokluğunun anormal klivaj ile klivaj ve morula evrelerinde embriyo kaybıyla güçlü biçimde ilişkili olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, tek vitrifiye-ısıtılmış embriyo transferlerinde halo pozitif ve halo negatif blastokistler karşılaştırılabilir klinik sonuçlar vermiştir (Ezoe ve ark., 2020). Aynı çalışmada halo konumu (simetrik ya da asimetrik) laboratuvar ya da klinik sonuçlarla ilişkili bulunmamıştır. Başka bir TLT analizi de halo negatif embriyoların transferinde canlı doğum oranının etkilenmediğini doğrulamıştır (Barberet ve ark., 2019). Bu kanıtlar, özellikle embriyo kültürü blastokist evresine uzatıldığında halonun önemini tartışmalı hâle getirmektedir.

Nulli-, mono- ve tri-pronükleer zigotlar

Normal fertilizasyon tanımı tipik olarak iki PN'nin gözlenmesine dayanır. Bununla birlikte son birkaç yılda, statik fertilizasyon değerlendirmesi sırasında ayırt edilebilen diğer pronükleer örüntülere sahip zigotlar klinik kullanım için değerlendirilmeye başlanmıştır: görünür PN olmaması (0PN), tek PN (1PN) ya da üç PN (3PN). 2PN ile birlikte bir (ya da daha fazla) ek mikro-pronükleus gösteren ve 2.1PN olarak adlandırılan dördüncü ve daha nadir bir profil de zaman zaman bildirilmiştir.

0PN. Genel morfokinetik kanıtlar, en az bir PN oluşmaksızın embriyo gelişiminin gerçekleşebileceğini doğrulamamaktadır. Bunun yerine, büyük olasılıkla, ilk mitoza ilerleyen "0PN zigotları", statik fertilizasyon değerlendirmesi PN varlığını saptayamadan önce PNBD geçiren 2PN ya da nadiren 1PN/çok-PN zigotlarıdır (Barrie ve ark., 2021b). Bu nedenle, "0PN zigotları" üzerine yapılan çalışmaların (tümü statik fertilizasyon değerlendirmesine dayalıdır; burada yalnızca birkaçına atıf yapılmıştır) 2PN zigotlarıyla karşılaştırılabilir ya da daha yüksek gelişim, öploidi, implantasyon ve canlı doğum oranları bildirmesi şaşırtıcı değildir (Liu ve ark., 2016; Destouni ve ark., 2018; Hondo ve ark., 2019; Paz ve ark., 2020; Fu ve ark., 2021; Li ve ark., 2021; Kemper ve ark., 2023). Nitekim genel olarak, henüz fertilizasyon evresinde daha hızlı morfokinetik gösteren embriyolar gelişimsel açıdan da daha yetkindir (Coticchio ve ark., 2023).

1PN. Viyana Konsensüsü, 1PN oranının cIVF sikluslarında %3'ü, ICSI sikluslarında %5'i aşmaması gerektiğini önermiştir (ESHRE Special Interest Group of Embryology and Alpha Scientists in Reproductive Medicine, 2017). Seçilmemiş 1PN kaynaklı ICSI embriyolarında tüm morfokinetik zamanlar ve gelişim oranları anlamlı biçimde etkilenmektedir (Ezoe ve ark., 2022b). Ancak görece daha büyük PN boyutuna sahip IVF/ICSI 1PN zigotlarında (izdüşüm alanı ≥710 µm² ya da çap ≥31 µm eşik değerleriyle tanımlanmıştır), klivaj ve blastokist oluşum oranları 2PN fertilizasyonuyla karşılaştırılabilir düzeydedir (Araki ve ark., 2018; Kai ve ark., 2018). Tek PN'nin daha büyük olmasının daha yüksek, olasılıkla diploid bir DNA içeriğini yansıtması olasıdır. Nitekim IVF sonrası monopronükleer fertilizasyon olgularının yaklaşık %50'sinde, tek PN içinde hem anne hem de baba kaynaklı DNA'nın varlığı belgelenmiştir (Cohen ve ark., 1995; Kai ve ark., 2015). Biparental diploid 1PN zigotlarının oluşumu cIVF ve ICSI fertilizasyonunda farklılık gösterebilir. Yakın tarihli bir TLT araştırması, cIVF'te biparental 1PN zigotlarının oluşumuna ilişkin olası bir mekanizma önermektedir: fertilizasyonun en başında, fertilize eden sperm oosite, PBII konumunun işaret ettiği, anne kromozomlarının varsayılan konumuna yakın bir yerden (18 µm yarıçap içinde) girerse, baba ve anne kaynaklı kromatin tek bir PN oluşumunda birlikte toplanabilir (Wei ve ark., 2022). Bununla tutarlı olarak, çeşitli çalışmalar PGT-A ile taranan 1PN blastokistlerinin önemli bir oranda (test edilen örneklerin %40–50'si) diploid/öploid olduğunu, bazı olgularda bu oranın 2PN kontrollerine benzediğini bildirmiştir (Bradley ve ark., 2017; Capalbo ve ark., 2017; Destouni ve ark., 2018; Xie ve ark., 2018; Zhao ve ark., 2022). Ayrıca bu çalışmalar PGT-A işleminin bir parçası olarak ICSI içermekle birlikte, 1PN zigotlarından cIVF olgularında da canlı doğumlar elde edilmiştir (Li ve ark., 2020). 1PN zigotlarının klinik amaçlı kullanımı birçok kez belgelenmiştir (burada yalnızca birkaçı bildirilmiştir). Genel olarak, gelişimsel açıdan daha yetkin embriyoları seçmek üzere blastokist kültürü uygulandığında, implantasyon, gebelik ve canlı doğum oranları 2PN zigotlarından elde edilenlere yaklaşmıştır (Itoi ve ark., 2015; Hondo ve ark., 2019; Si ve ark., 2019; Li ve ark., 2020; Li ve ark., 2021; Fu ve ark., 2022b; Kemper ve ark., 2023).

3PN. Viyana Konsensüsü'nün önerilerine göre polipronükleer (3PN dâhil) fertilizasyon oranı <%6 olmalıdır (ESHRE Special Interest Group of Embryology and Alpha Scientists in Reproductive Medicine, 2017). 3PN zigotlarının morfokinetiği ve blastokist gelişimi, 1PN fertilizasyonuna kıyasla daha az etkilenmektedir (Ezoe ve ark., 2022c). 3PN zigotlarının kökeni, inseminasyon tekniğine de bağlı olarak diginik ya da di/poliandrik olabilir. 3PN zigotlarının PGT-A analizine ve klinik kullanımına ilişkin raporlar çok nadirdir. 30 adet 3PN blastokistine dayanan bir çalışmada diploidi/öploidi oranı %33 bulunmuştur (Mutia ve ark., 2019). Bir olgu sunumunda, tek bir öploid 3PN blastokistinin transferiyle görünüşte sağlıklı bir canlı doğum elde edilmiştir (Yalçınkaya ve ark., 2016). Yakın tarihli bir raporda, bir 4PN zigotunun transferinden sağlıklı bir canlı doğum ve 4 yaşına kadar normal postnatal gelişim bildirilmiştir (Bredbacka ve ark., 2023). Bununla birlikte, varsayılan 3PN/4PN zigotlarında üçüncü/dördüncü PN'nin kökeni (gerçek bir ek PN mi yoksa "olağandan büyük" bir mikropronükleus mu olduğu) belirsizliğini korumaktadır.

Mikropronükleuslar. PN değerlendirmesi sırasında nadiren bir ya da daha fazla küçük ek PN gözlenebilir. Bunlar, diploid bir zigotun bir ya da daha fazla kromozomunun çevresinde ek bir küçük nükleer bölmenin oluşmasından köken alabilir (Currie ve ark., 2022). Bu konuda özel TLT araştırmaları bulunmamaktadır. Statik gözlem ve PGT-A'ya dayanan bir çalışmada 3500'den fazla zigot izlenmiş; bunların yalnızca <%1'i (n = 27) küçük bir ek PN gösteren 2PN zigotları (2.1PN zigotları) olarak saptanmıştır (Capalbo ve ark., 2017). Bu zigotlar azalmış ilk klivaj oranı (%74) göstermekle birlikte, biparental diploid blastokistlere gelişebilmekte ve görünüşte normal canlı doğumlarla sonuçlanabilmektedir.

Uzlaşı noktaları

- Kanıtlar, insan fertilizasyonunun kayda değer bir esneklik taşıdığını ortaya koymakta ve statik fertilizasyon değerlendirmesine ilişkin güncellenmiş önerilere temel oluşturmaktadır.
- *Gözlem zamanlaması.* Statik gözlemlerde, görece erken PNBD geçiren zigotların yanlışlıkla fertilize olmamış oositler olarak sınıflandırılma olasılığını en aza indirmek için PN sayısı değerlendirmesi hem cIVF hem de ICSI olgularında 16–17 hpi'de yapılmalıdır. İstanbul Konsensüsü'nde (2011) yer alan, statik gözlemle singaminin (PN'lerin kaybolması) kontrol edilmesi, PNBD zamanlaması kesin olarak belirlenemediğinden önerilmemektedir.

- *Morfolojik özellikler.* Zigot büyüklüğü, PN büyüklüğü, PN konumu ve NPB örüntüsü dâhil olmak üzere çok sayıda zigot özelliği embriyo kalitesi ve klinik sonuçla ilişkili olabilir. Ancak bunların biyobelirteç olarak kullanımı en az iki etkenle sınırlanmaktadır: (i) kanıt yetersizliği (ör. PN büyüklüğü) ve (ii) kısa zaman aralıklarında ortaya çıkan ve statik gözleme uygun olmayan doğal morfolojik değişkenlik (NPB örüntüsü). PN'lerin yan yana gelmemesi çok nadirdir ancak kötü blastokist gelişimiyle güçlü biçimde ilişkilidir. Sitoplazmik halo yokluğu blastokist oluşumunu etkiler, ancak blastokist transferi sonrasında implantasyon oranını etkilemez. Bu nedenle halo yokluğu, 3. gün embriyo transferlerinde embriyoları sıralamak için kullanılabilir, ancak eleme ölçütü olarak kullanılmamalıdır.
- *PN sayısı.* Statik gözlemde fertilizasyon kontrolünde pronükleuslar görülmeyebilir, buna karşın normal embriyo gelişimi gerçekleşebilir. Bu durum, 2PN zigotlarının önemli bir bölümünün özgün İstanbul Konsensüsü'nde (2011) önerilen fertilizasyon kontrol aralığından daha erken PNBD geçirdiğini gösteren TLT verileriyle açıklanabilir. Bu olgularda PBII varlığının 2PN fertilizasyonuna eşlik etmesi ve bu nedenle skorlama ölçütü olarak kullanılması gerekir. Bu zigotlar 0PN olarak sınıflandırılabilse de, kültüre edildiklerinde normal laboratuvar ve klinik sonuçlar verebilirler. Bu nedenle bu olgularda "fertilize olmamış" ya da "0PN" terimi kullanılmamalıdır. Bunun yerine, fertilizasyon doğrulanmaksızın normal gelişim gösteren zigotlar için "PN gözlenmedi" daha uygun bir alternatif olabilir.

PGT-A'dan elde edilen ön veriler, 1PN zigotlarının önemli bir bölümünün ve bazı 3PN zigotlarının biparental diploid olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca artan sayıda çalışma, hem ICSI hem de IVF sikluslarından elde edilen 1PN zigotlarından normal canlı doğumlar bildirmiştir. Toplu olarak bu kanıtlar, blastokist kültürü ve—mevcutsa—biparental diploidi değerlendirmesine uygun PGT-A teknolojisiyle birlikte 1PN zigotlarının dikkatli klinik kullanımını desteklemektedir. 3PN zigotlarının klinik kullanımı mevcut kanıtlara göre önerilmemektedir. Ek bir mikropronükleus içeren 2PN zigotları (2.1PN) görece nadirdir. Bununla birlikte bunlar da diploid genotipe sahip olabilir ve görünüşte normal canlı doğumlara yol açabilir. Özellikle PGT-A teknolojisiyle birlikte klinik kullanımları değerlendirilebilir. Genel olarak, 1PN ve 2.1PN zigotlarının olası klinik kullanımı klinik ekip ve hastayla görüşülmeli ve kurum içinde onaylanmış bir politikayla düzenlenmelidir.

4. Klivaj evresi

Embriyoların 1., 2. ve 3. günlerde önceden tanımlanmış zamanlarda değerlendirilmesi; hücre sayısı, fragmantasyon derecesi, blastomer büyüklüğü ve multinükleasyonun gebelik ve canlı doğum sonuçlarıyla ilişkili olduğunu göstermiştir (Lundin ve Ahlström, 2015).

Anket sonuçları, kliniklerin büyük çoğunluğunun (%95) hâlâ erken evre embriyo değerlendirmesi yaptığını göstermektedir. Bununla birlikte, günde bir ya da iki kez yapılan geleneksel statik "anlık görüntü" değerlendirmeleri, bu zaman noktaları arasındaki gelişime ilişkin hiçbir bilgi edinilememesi anlamına gelir. Dolayısıyla anormal hücre bölünmeleri gibi önemli olaylar gözden kaçabilir. Ayrıca, embriyo morfolojisinin birkaç saat içinde—daha iyi ya da daha kötü bir skora doğru—değişebildiği gösterilmiştir (Montag ve ark., 2011); bunun bir nedeni de klivaj süreci boyunca fragmanların dinamik biçimde ortaya çıkması ve yeniden emilmesidir (Hardarson ve ark., 2001).

Bu bölümde, erken embriyo klivaj evrelerinde değerlendirilen morfolojik ve morfokinetik özellikler ile bunların fertilizasyondan sonraki 2. ya da 3. günde transfer edilen veya kriyoprezerve edilen embriyolarda başarı oranları üzerindeki olası etkileri tartışılmaktadır (Tablo 4). Aynı özelliklerin, embriyo uzatılmış kültürde hayatta kalıp blastokist evresinde taze ya da kriyoprezervasyon sonrası transfer edildiğinde geçerli olmayabileceği ya da farklı bir etki taşıyabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Klivaj evresi embriyo değerlendirmesinin zamanlaması

İstanbul Konsensüsü (2011), 2. gün embriyoları için 44 ± 1 hpi'de, 3. gün embriyoları için 68 ± 1 hpi'de statik gözlem önermiştir. Anket sonuçları, katılımcıların sırasıyla %41 ve %63'ünün embriyoları 2. ya da 3. günde bu önerilere uygun biçimde her zaman değerlendirdiğini göstermiştir (Ek Veri SII, Şekil 3A).

TLT ile değerlendirme, geleneksel morfolojik parametrelerin zaman içindeki daha ayrıntılı çözümlenmesine ve anormal klivajların sıklığının belirlenmesine olanak tanır. Erken dönemde yapılan çeşitli retrospektif TLT çalışmaları, ilk hücre bölünmesinin zamanlaması ve hücre döngülerinin uzunluğu gibi morfokinetik değişkenlerin sonraki embriyonik gelişim ve gebelik sonuçlarıyla ilişkili olduğunu saptamıştır (Meseguer ve ark., 2011; Dal Canto ve ark., 2012b; Herrero ve ark., 2013). Ancak yakın tarihli RKÇ'ler ve meta-analizler, TLT algoritmalarıyla embriyo seçimi sonrasında canlı doğum oranlarında iyileşme bulmamıştır (Armstrong ve ark., 2019; Ahlström ve ark., 2022; Kieslinger ve ark., 2023).

Daha yeni TLT çalışmaları, İstanbul Konsensüsü'nde (2011) bildirilenlerden bir miktar sapan zamanlamalar göstermiş; bu farklılıklar 4 hücreli evreden itibaren daha belirgin ve değişken hâle gelmiştir (Tablo 1).

İlk klivajın zamanlaması

Embriyo canlılığının tek başına en önemli göstergesi hücre bölünmesidir. Erken klivajın, yani ilk hücre bölünmesinin 25–27 hpi'den önce gerçekleşmesinin; 2. ve 3. günde embriyo kalitesi, blastokist oluşum oranı (Herrero ve ark., 2013; de los Santos ve ark., 2014; Milewski ve ark., 2015) ile 2. ya da 3. gün transferi sonrası implantasyon ve canlı doğum oranlarıyla (Lundin ve ark., 2001; Salumets ve ark., 2003) pozitif ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu bulgu daha yakın tarihli TLT çalışmalarıyla da desteklenmektedir (Coticchio ve ark., 2018; Sayed ve ark., 2020). Ayrıca TLT, pronükleusların kaybolmasından (pronuclei fading, PNf) ilk sitokinezin başlangıcına kadar geçen sürenin ploidiyle anlamlı biçimde ilişkili olduğunu göstermiştir (Vera-Rodriguez ve ark., 2015). ICSI embriyolarında 2. gün tek embriyo transferlerinin (n = 207) geleneksel morfoloji değişkenlerini, morfokinetik değişkenleri ve hasta özelliklerini içeren retrospektif bir analizinde, 25–27 hpi'de embriyonun birden fazla hücre içermesiyle tanımlanan erken klivajın canlı doğumun anlamlı bir öngördürücüsü olduğu gösterilmiştir (OR 4,84; GA 2,14–10,96; P = 0,0002) (Ahlström ve ark., 2016). Ayrıca fragmantasyon derecesindeki her artışın (%5–10, %11–20, %21–50, %51–100) canlı doğum olasılığını anlamlı biçimde azalttığı bulunmuştur (OR 0,46; GA 0,25–0,84; P = 0,012).

Tablo 4. Klivaj evresi embriyo değerlendirmesine ilişkin tüm kanıtların ve önerilerin özeti.

Morfolojik özellik	Atipik örüntü	Derleme bulgularının özeti				Dikkate alınacak noktalar	Öneri
		Embriyo kalitesi ve gelişim potansiyeli	Ploidi	İmplantasyon oranı	Canlı doğum oranı		
İlk klivaj	Erken klivaj (ilk bölünme 25–27 saatten önce)	Daha yüksek embriyo kalitesi ve blastokist oluşum oranıyla ilişkili Çok düşük □◯◯◯ 3 gözlemsel çalışma (Herrero ve ark., 2013; de los Santos ve ark., 2014; Milewski ve ark., 2015)	Daha yüksek anöploidi oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Vera-Rodriguez ve ark., 2015)	Çelişkili sonuçlar: İmplantasyon oranıyla ilişki yok Düşük □□□□ 5 gözlemsel çalışma (Lundin ve ark., 2001; Salumets ve ark., 2003; Ahlström ve ark., 2016; Coticchio ve ark., 2018; Sayed ve ark., 2020) Daha yüksek implantasyon oranlarıyla ilişkili Düşük □□□□ 1 RKÇ ve 3 gözlemsel çalışma (Thurin ve ark., 2005; Sundström ve Saldeen, 2008; de los Santos ve ark., 2014; Yang ve ark., 2015)	Çelişkili sonuçlar: Canlı doğum oranıyla ilişki yok Düşük □□□□ 1 RKÇ ve 3 gözlemsel çalışma (Thurin ve ark., 2005; Sundström ve Saldeen, 2008; de los Santos ve ark., 2014; Yang ve ark., 2015) Daha yüksek canlı doğum oranlarıyla ilişkili Düşük □□□□ 5 gözlemsel çalışma (Lundin ve ark., 2001; Salumets ve ark., 2003; Ahlström ve ark., 2016; Coticchio ve ark., 2018; Sayed ve ark., 2020)	Erken klivaj embriyolarının değerlendirilmesi, binükleasyon/multinükleasyon ve hücre büyüklüğü gibi diğer özelliklere ilişkin bilgi katabilir. Dikkate alınması gereken önemli bir nokta, ICSI ya da cIVF kaynaklı zigotlar arasındaki farklılıktır.	Erken klivajın skorlanmasının başarı oranlarını öngörmedeki önemi kesin olarak ortaya konmamıştır.
	Anormal erken klivaj (doğrudan bölünme, geri bölünme, düzensiz kaotik bölünme)	B/D	Daha yüksek anöploidi oranıyla ilişkili Düşük □□□□ 3 gözlemsel çalışma (Arroyo ve ark., 2015; Yan ve ark., 2015; Desai ve ark., 2018)	Daha düşük implantasyon oranıyla ilişkili Düşük □□□□ 4 gözlemsel çalışma (Meseguer ve ark., 2011; Petersen ve ark., 2016; Zhan ve ark., 2016; Liu ve ark., 2020)	B/D		Erken klivajın TLT ile değerlendirilmesi; doğrudan bölünme, geri bölünme ve düzensiz kaotik bölünme gibi anormal klivaj örüntülerinin elenmesinde kullanılabilir.

Morfolojik özellik	Atipik örüntü	Derleme bulgularının özeti				Dikkate alınacak noktalar	Öneri
		Embriyo kalitesi ve gelişim potansiyeli	Ploidi	İmplantasyon oranı	Canlı doğum oranı		
Hücre sayısı	2./3. günde hücre sayısı	Embriyo skorlamasıyla ilişkili Çok düşük □◯◯◯ 3 gözlemsel çalışma (Alikani, 2003; Machtinger ve Racowsky, 2013; Yu ve ark., 2018)	Kromozomal durumla korelasyon Düşük □□□□ 3 gözlemsel çalışma (Almeida ve Bolton, 1996; Magli ve ark., 2007; Kroener ve ark., 2015)	İmplantasyon oranlarıyla korelasyon Düşük □□□□ 4 gözlemsel çalışma (Giorgetti ve ark., 1995; Alikani ve ark., 2000; Van Royen ve ark., 2001; Rhenman ve ark., 2015)	Canlı doğum oranlarıyla korelasyon Düşük □□□□ 5 gözlemsel çalışma (Giorgetti ve ark., 1995; Racowsky ve ark., 2011; Rhenman ve ark., 2015; Awadalla ve ark., 2022b; Tian ve ark., 2022)		Güncel değerlendirmeye göre embriyonun 2. günde 4, 3. günde 8 hücreli olması beklenir.
Fragmantasyon	Fragmantasyon derecesi	Daha düşük embriyo kalitesi ve gelişim potansiyeliyle ilişkili Çok düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Alikani ve ark., 2000; Ebner ve ark., 2001)	Daha düşük öploidi oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 3 gözlemsel çalışma (Munné ve ark., 1995; Ziebe ve ark., 2003; Chavez ve ark., 2012)	Daha düşük implantasyon oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 4 gözlemsel çalışma (Alikani ve ark., 1999; Ebner ve ark., 2001; Van Royen 2001; Racowsky ve ark., 2011)	Daha düşük canlı doğum oranlarıyla ilişkili Düşük □□□□ 3 gözlemsel çalışma (Rhenman ve ark., 2015; Ahlström ve ark., 2016; Awadalla ve ark., 2022b)	Yüzde değerleri hücre eşdeğerlerine dayanır; dolayısıyla 4 hücreli bir embriyoda %25 fragmantasyon, hacim olarak bir blastomere karşılık gelir.	Göreli fragmantasyon dereceleri şöyle tanımlanmıştır: yok ya da çok az (<%10), hafif (≤%25) veya ağır (>%25).
Hücre büyüklüğü	Eşit olmayan hücresel klivaj	B/D	Kromozomal hatalarla korelasyon Düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Hardarson ve ark., 2001; Shenoy ve ark., 2021)	Daha düşük implantasyon oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Múgica ve ark., 2008)	B/D	Göreli hücre büyüklüklerinin "hücre evresine uygun" olması, yani geçirilen bölünme döngüsü sayısına göre değerlendirilmesi önemlidir	2, 4 ve 8 hücreli evrelerdeki embriyolarda blastomerler eşit büyüklükte olmalıdır. Diğer tüm hücre evrelerinde, bölünme döngüsü tamamlanmadığından hücre evresine uygun bir büyüklük farkı beklenir.
Multinükleasyon	Çok sayıda çekirdek	Gelişim süresiyle negatif korelasyon Düşük □□□□ 5 gözlemsel çalışma (Ergin ve ark., 2014; Goodman ve ark., 2016; Balakier ve ark., 2016; Desch ve ark., 2017; Sayed ve ark., 2022)	Anöploidi oranlarıyla ilişki yok Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Desai ve ark., 2018)	Daha düşük implantasyon oranıyla ilişkili Düşük □□□□ 4 gözlemsel çalışma (Ergin ve ark., 2014; Goodman ve ark., 2016; Desch ve ark., 2017; Sayed ve ark., 2022)	Daha düşük canlı doğum oranıyla ilişkili Düşük □□□□ 4 gözlemsel çalışma (Ergin ve ark., 2014; Goodman ve ark., 2016; Desch ve ark., 2017; Sayed ve ark., 2022)	3. günde multinükleasyon değerlendirmesi, hücre boyutunun çok daha küçük olması nedeniyle güçleşir ve dolayısıyla daha az güvenilirdir. Olanaklıysa multinükleasyon TLT kullanılarak skorlanmalıdır.	Gerçek multinükleasyon (bir ya da birkaç hücrede ≥3 çekirdek), azalmış implantasyon potansiyeli ve artmış kromozom anormalliği düzeyiyle ilişkilidir.
	Binükleasyon ve/veya mikronükleasyon	Daha yüksek blastokist oluşum oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Talbot ve ark., 2022)	B/D	Daha yüksek implantasyon oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Aguilar ve ark., 2016; Talbot ve ark., 2022)	B/D	Laboratuvarlar her embriyoda binükleasyon, multinükleasyon ve mikronükleasyon sıklığını kaydetmeli ve bunları ayırt etmeli; ideal olarak her embriyodaki her blastomerin çekirdek durumunu belirlemelidir.	2. günde, 4 hücreli evrede binükleasyon her zaman olumsuz bir bulgu anlamına gelmeyebilir, ancak daha fazla kanıta gereksinim vardır.
Diğer morfolojik özellikler	Uzamsal düzensizlik	Embriyo gelişimiyle belirgin ilişki yok Çok düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Ebner ve ark., 2012, 2017)	B/D	B/D	B/D	Bu özelliklerden hangilerinin—varsa—implantasyon potansiyeliyle ilişkili olduğunun (ya da onu gösterdiğinin) belirlenmesi	Belirgin uzamsal düzensizlik gösteren embriyolar anormal kabul edilmemelidir.

Morfolojik özellik	Atipik örüntü	Derleme bulgularının özeti				Dikkate alınacak noktalar	Öneri
		Embriyo kalitesi ve gelişim potansiyeli	Ploidi	İmplantasyon oranı	Canlı doğum oranı		
	Sitoplazmik granülarite, membran görünümü, vakuoller	3. gün gelişimiyle negatif korelasyon (atipik erken kompaksiyon) Düşük □ □ ◯◯ 3 gözlemsel çalışma (Skiadas ve ark., 2006; Le Cruguel ve ark., 2013; Aslan Öztürk ve ark., 2022)	B/D	B/D	B/D	için daha fazla araştırma gerekmektedir	Sitoplazmik granülarite, membran görünümü ve vakuol varlığının implantasyon potansiyeli üzerinde açık bir biyolojik etkisi olduğunu destekleyen kayda değer bir kanıt bütünü bulunmamaktadır.

cIVF, konvansiyonel in vitro fertilizasyon; B/D, bildirilmemiş (not reported). **Tablo renk kodu**: Yeşil: embriyo klinik olarak kullanılabilir; Sarı: embriyo dikkatli değerlendirmeyle kullanılabilir; Kırmızı: embriyo klinik kullanım için uygun kabul edilmez.

Aynı çalışmada, 2. gün transferlerinde erken klivaj ve fragmantasyon derecesinin canlı doğum sonucunu öngörmede morfokinetik değişkenlerden daha başarılı olduğu ve 2. güne kadarki hiçbir morfokinetik değişkenin canlı doğum öngörüsünü daha da iyileştirmediği saptanmıştır (Ahlström ve ark., 2016). Bununla birlikte diğer çalışmalar erken klivaj ile implantasyon ya da canlı doğum arasında ilişki bulmamıştır (Thurin ve ark., 2005; Sundström ve Saldeen, 2008; de los Santos ve ark., 2014; Yang ve ark., 2015) ve erken klivajın skorlanmasının olası önemine ilişkin veriler hâlihazırda kesin değildir.

Yine de, TLT sisteminde erken klivajın değerlendirilmesi; daha düşük blastokist oluşum, implantasyon ve canlı doğum oranlarıyla (Meseguer ve ark., 2011; Petersen ve ark., 2016; Zhan ve ark., 2016; Liu ve ark., 2020) ve ayrıca anöploidi (Arroyo ve ark., 2015; Yan ve ark., 2015; Desai ve ark., 2018) ile multinükleasyonla (Zhan ve ark., 2016) ilişkili olduğu gösterilen doğrudan bölünme, geri bölünme ve düzensiz kaotik bölünme gibi anormal erken klivajların elenmesinde kullanılabilir. Barrie ve ark.'nın çalışmasında bu anormal klivajların yaygınlığı bölünmüş embriyo başına %11,4 olarak bulunmuştur (Barrie ve ark., 2017b).

Hâlihazırda erken klivaj/erken singaminin skorlama şemalarında kullanımı laboratuvarlar arasında büyük farklılık göstermektedir. Dikkate alınması gereken önemli bir nokta, bu makalenin 1. Bölümünde (Embriyo gelişiminin beklenen zaman çizelgesi ve morfoloji) ve 3. Bölümünde (Zigot evresi değerlendirmesi) tartışıldığı üzere, ICSI ve cIVF kaynaklı zigotlar arasındaki farklılıktır.

2. ve 3. günde hücre sayısı

Belirli bir zamandaki blastomer sayısı, embriyonun gelişim hızını gösterir ve embriyo skorlamasında en önemli parametre olarak kabul edilir (Machtinger ve Racowsky, 2013; Yu ve ark., 2018). Daha eski birçok çalışma, 2. ya da 3. gündeki hücre sayısının laboratuvar ve klinik sonuçları güçlü biçimde öngördüğünü göstermiştir (Giorgetti ve ark., 1995; Alikani ve ark., 2000; Holte ve ark., 2007; Racowsky ve ark., 2011).

İstanbul Konsensüsü (2011), en uygun 2. gün embriyosunu (44 ± 1hpi) üç boyutlu tetrahedral dizilimde, eşit büyüklükte 4 mononükleer blastomere sahip ve <%10 fragmantasyon gösteren embriyo; 3. gün embriyosunu (68 ± 1 hpi) ise üç boyutlu tetrahedral dizilimde, eşit büyüklükte 8 mononükleer blastomere sahip ve <%10 fragmantasyon gösteren embriyo olarak tanımlamıştır (Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group Embryology, 2011). Anket sonuçları, katılımcıların %68'inin 2. ve 3. gün embriyolarını skorlarken bu İstanbul Konsensüsü (2011) önerilerini uyguladığını göstermiştir (Ek Veri SII, Şekil 3B).

"En uygun" bir gelişim hızının bulunduğu görülmekte olup, yıllar içinde yayımlanan çok sayıda çalışma, embriyo klivaj hızının çok yüksek ya da çok düşük olmasının embriyo gelişimi üzerinde olumsuz etkisi olduğunu bildirmiştir (Edwards ve ark., 1980; Kroener ve ark., 2015; Shebl ve ark., 2021). Örneğin, 3. günde hızlı büyüyen embriyoların (>8 hücre) anöploidi oranının daha yüksek olduğu, anormal klivaj örüntülerinin daha sık görüldüğü ve 8 hücreli embriyolara göre blastokist oluşturma olasılıklarının daha düşük olduğu gösterilmiştir (Kroener ve ark., 2015; Kong ve ark., 2016; Pons ve ark., 2019). Bununla birlikte, hızlı büyüyen embriyolar blastokist evresine ulaştıklarında gelişim potansiyelleri 8 hücreli embriyolarınkine benzerdir (ayrıca bkz. "Blastokist evresi (4.–7. günler)" bölümü). Buna karşılık yavaş gelişen embriyolar (2. günde <4 hücre, 3. günde <8 hücre) için, bunların her zaman daha kötü performans gösterdiğine ve yalnızca daha iyi embriyo bulunmadığında transfer için kullanılması gerektiğine dair açık kanıtlar vardır (Alikani ve ark., 2000; Thurin ve ark., 2005; Scott ve ark., 2007). Bu gözlemler TLT ile yapılan embriyo değerlendirmeleriyle de doğrulanmıştır (Meseguer ve ark., 2011; Montag ve ark., 2011; Herrero ve ark., 2013; Milewski ve ark., 2015).

Statik gözlem kullanan çeşitli çalışmalar, gelişim hızının canlı doğumu öngördüğünü saptamıştır. 6252 adet 2. gün tek embriyo transferini içeren prospektif bir kohort çalışmasında; hücre sayısı, embriyo başına mononükleer hücre sayısı ve fragmantasyon oranının canlı doğumun anlamlı öngördürücüleri olduğu, en yüksek canlı doğum oranının 4 hücre ve düşük (<%10) fragmantasyonda elde edildiği bulunmuştur (Rhenman ve ark., 2015). 28 878 taze 3. gün embriyo transferini içeren en güncel SART veri analizinde, 34 yaşındaki kadınlarda en yüksek canlı doğum oranlarının 8 hücreli embriyoların transferinden sonra elde edildiği (%24) gösterilmiş; bunu >8 hücreli (%23), 7 hücreli (%17), 6 hücreli (%8), 5 hücreli (%5) ve 4 hücreli (%1) embriyolar izlemiştir (Awadalla ve ark., 2022a). Fragmantasyon derecesi düşük (<%10) olan 8 hücreli embriyolar, %10'dan fazla fragmantasyon gösteren embriyolara kıyasla daha yüksek canlı doğum oranı göstermiştir.

Ayrıca mevcut kanıtlar değerlendirilirken, belirli bir gündeki hücre sayısının kültür koşulları ve değerlendirme zamanlamasından etkilenebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Zaman zaman bir hücre ile büyük bir fragmanı birbirinden ayırmak da güç olabilir. Açıktır ki 2. ve 3. gün embriyolarının TLT ile değerlendirilmesi, daha kesin değerlendirme zamanlamalarının yanı sıra gelişim parametrelerinin zaman içindeki ayrıntılı çözümlenmesine ve anormal klivajların sıklığının belirlenmesine olanak tanır. Örneğin, 3. günde >8 hücreli bazı embriyoların trikotom klivajlardan kaynaklanması olasıdır. Bu anormal bölünme canlılığı etkileyebilir, ancak yalnızca TLT ile saptanabilir.

Fragmantasyon

Fragman, genellikle kromozom içermeyen, membranla çevrili hücre dışı sitoplazmik kütle olarak tanımlanabilir. Fragmanlar büyüklük ve dağılım bakımından farklılık gösterebilir ve embriyo açısından farklı sonuçlar doğurabilir (Alikani ve ark., 1999; Cecchele ve ark., 2022). Fragmantasyon derecesinin değerlendirilmesi güçtür; çünkü önce fragmanların hücrelerden ayırt edilmesi, kökenlerinin göz önünde bulundurulması ve embriyonun fragmante olan göreli oranının tahmin edilmesi gerekir. Bir çalışmada, 2. gün embriyosunda <45 µm çaplı ve 3. gün embriyosunda <40 µm çaplı blastomerlerin çoğunun çekirdek içermediği bulunmuştur (Johansson ve ark., 2003). 3. gün embriyolarında <%10 fragmantasyonun implantasyon oranı üzerindeki etkisinin ihmal edilebilir olduğu saptanmıştır (Alikani ve ark., 1999; Ebner ve ark., 2001; Van Royen ve ark., 2001; Holte ve ark., 2007; Racowsky ve ark., 2011); buna karşılık, yukarıda tartışıldığı gibi, TLT çalışmaları dâhil olmak üzere hem daha eski çalışmalar hem de daha yeni ve geniş birkaç çalışma, fragmantasyon derecesindeki artışın, erken evrede yapılan embriyo transferleri sonrasındaki canlı doğum oranlarıyla negatif ilişkili olduğunu göstermiştir (Rhenman ve ark., 2015; Ahlström ve ark., 2016; Awadalla ve ark., 2022b). İlginç biçimde, Ahlström ve ark.'nın bir çalışması, 2. ve 3. gün embriyolarında AI skorunun hücre sayısı ve fragmantasyon skoruyla anlamlı biçimde ilişkili olduğunu göstermiştir (Ahlström ve ark., 2023).

Ayrıca fragmantasyon derecesi ile anöploidi sıklığı arasında bir ilişki gösterilmiştir (Munné ve ark., 1995; Ziebe ve ark., 2003; Chavez ve ark., 2012).

Eşit olmayan klivaj ve hücre büyüklüğü

Eşit olmayan göreli hücre büyüklüğüne yol açan eşit olmayan hücresel klivaj, *in vitro* insan embriyolarında sık görülür (Puissant ve ark., 1987). Eşit olmayan hücre büyüklüğü, en küçük hücrelerin ortalama çapı ile en büyüklerin ortalaması arasında %25'lik bir fark olarak

Tablo 5. 2. ve 3. gün embriyo transferi için sıralama şeması.

Özellik	Üst sıra	Orta sıra	Alt sıra
Hücre sayısı	2. günde 4 hücre ya da 3. günde 8 hücre	2. günde >4 hücre ya da 3. günde >8 hücre	2. günde <4 hücre ya da 3. günde <8 hücre
Erken klivaj	Erken klivaj var	Erken klivaj yok	
Hücre büyüklüğü	Hücre evresine özgü	Hücre evresine özgü değil	
Fragmantasyon	Fragmantasyon yok ya da çok az (<%10)	%10–25 fragmantasyon	>%25 fragmantasyon
Multinükleasyon	Hiçbir hücre evresinde multinükleasyon yok	4 hücreli evrede multinükleasyon yok	4 hücreli evrede multinükleer
Anormal klivaj	–	–	Doğrudan bölünme DC2 (2 hücreden 5 hücreye)
Kompaksiyon	≥8 hücreli evreden itibaren kompaksiyon	Kompaksiyon yok	8 hücreli evreden önce kompaksiyon
Öneri	**• Anormal klivaj gösteren 2./3. gün embriyolarına—doğrudan bölünme DC1 (1 hücreden 3 hücreye), düzensiz kaotik bölünme ya da geri bölünme—transfer sıralamasında daha düşük öncelik verin. • Anormal klivaj gösteren embriyoların kültürünü blastokist evresine uzatın.**		

tanımlanmıştır (Meseguer ve ark., 2011; Ziebe, 2013). Eşit olmayan hücresel klivajın erken transferde gebelik sonucu üzerindeki olumsuz etkisi çeşitli çalışmalarca doğrulanmıştır (Giorgetti ve ark., 1995; Ziebe ve ark., 1997; Hardarson ve ark., 2001; Racowsky ve ark., 2011); ancak bazı veriler çelişkilidir (Holte ve ark., 2007).

İlginç biçimde, geç bölünen embriyoların daha eşitsiz biçimde bölündüğü bildirilmiş; bu durum da kromozomal hataların artmış sıklığıyla güçlü biçimde ilişkilendirilmiştir (Hardarson ve ark., 2001; Shenoy ve ark., 2021); bunun nedeni proteinlerin, mRNA'nın ve mitokondrilerin eşit olmayan dağılımı olabilir (Antczak ve Van Blerkom, 1999).

Göreli hücre büyüklüklerinin "hücre evresine uygun" olması, yani hücrelerin geçirdiği bölünme döngüsü sayısına göre değerlendirilmesi önemlidir. Bu da aynı hücre döngüsünü temsil eden kardeş blastomerlerin eşit büyüklükte olması gerektiği anlamına gelir; yani yalnızca 2, 4 ve 8 hücreli evrelerde tüm hücreler aynı büyüklükte olmalıdır.

Multinükleasyon

Multinükleasyon; 2. ve 3. günlerde daha yüksek fragmantasyon derecesi ve azalmış blastomer sayısıyla (Van Royen ve ark., 2003) ve ayrıca eşit olmayan hücre büyüklüğüyle ilişkilendirilmiştir (Kligman ve ark., 1996; Hardarson ve ark., 2001; Sayed ve ark., 2022). Multinükleasyon varlığı genel olarak anormal kabul edilir; ancak bildirilen sıklığı büyük farklılık göstermektedir. "Multinükleasyon" terimi, bir ya da daha fazla hücrede çekirdek sayısı ve özellikleri bakımından farklı tipleri kapsayabilir: çok sayıda (eşit büyüklükte) çekirdek, iki çekirdek (binükleasyon) ve/veya daha küçük boyutlu ya da mikro çekirdekler (mikronükleasyon). Çalışmaların çoğu bu farklı tipleri ya da kaç hücrede bulunduğunu açıkça ayırt etmemiştir; bu da bazı çelişkili raporların nedeni olabilir. Örneğin bir çalışma, hastaların %43'ünde 2 hücreli evrede ≥2 çekirdek olarak tanımlanan multinükleasyon gösteren bir ya da daha fazla embriyo bulunduğunu, bu oranın 4 hücreli evrede %15'e düştüğünü bildirmiştir (Balakier ve Cadesky, 1997). Diğer iki çalışma, bu durumun siklusların %87'sine varan oranlarda görüldüğünü ve transfer sırasında embriyoların %31–33'ünün etkilendiğini bildirmiştir (Jackson ve ark., 1998; Van Royen ve ark., 2003). 2. günde multinükleasyon gösteren embriyolarda, mononükleer embriyolara kıyasla anlamlı biçimde daha yavaş gelişim hızları ile erken embriyo transferi sonrasında daha düşük implantasyon ve canlı doğum oranları gösterilmiştir (Ergin ve ark., 2014; Desch ve ark., 2017).

Bununla birlikte yakın tarihli bir TLT çalışması, 2 hücreli evrede binükleer olan embriyoların hem "gerçek" multinükleer (≥3) embriyolara hem de multinükleer olmayan embriyolara kıyasla daha yüksek blastokist oluşum ve implantasyon oranları gösterdiğini saptamıştır (Talbot ve ark., 2022). Bu durum, embriyo değerlendirmesinde çekirdek sayısı ve özellikleri bakımından farklı tiplerin birbirinden ayırt edilmesinin önemini göstermektedir. Çekirdek durumunun dinamik bir süreç içinde değiştiği ve 2 hücreli evrede görülen multinükleasyon oranının 4 hücreli evreye gelindiğinde anlamlı biçimde azaldığı gösterilmiştir (Aguilar ve ark., 2016; Balakier ve ark., 2016; Sayed ve ark., 2022; Talbot ve ark., 2022). Bu embriyoların birçoğunun 2. günde binükleer olup "gerçek" multinükleer (≥3 çekirdek) olmaması da olasıdır; Talbot ve ark. (2022) çalışmasında tartışıldığı gibi, bu tür embriyolar kusurlu kabul edilmemelidir.

Hücrelerin çok daha ayrıntılı skorlanabildiği TLT ile toplanan kanıtlar, erken (2 hücreli evre) embriyolarda %29–43 oranında multinükleasyon görüldüğünü ve bunun implantasyon ile canlı doğum üzerinde anlamlı etkisi olduğunu göstermiştir (Balakier ve ark., 2016; Goodman ve ark., 2016; Desch ve ark., 2017; Sayed ve ark., 2022). Bir çalışmada statik skorlamayla %6 olan multinükleer embriyo sıklığı, TLT kullanıldığında %23 bulunmuştur (Ergin ve ark., 2014). Başka bir çalışmada bu iki yöntemle benzer biçimde %7 ve %35 oranları saptanmıştır (Goodman ve ark., 2016).

Bir başka TLT çalışmasında, 2–5 hücreli evrede doğrudan eşitsiz bölünme ya da düzensiz kaotik bölünme gösteren embriyoların gelişim potansiyelinin daha düşük olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, blastokist evresine gelişebilenlerde, erken hücre evresinde tek bir anormalliğin (multinükleasyon, geri bölünme, düzensiz kaotik bölünme ya da doğrudan eşitsiz bölünme) varlığı, blastokist evresinde analiz edildiğinde anöploidiyle ilişkili bulunmamıştır (Desai ve ark., 2018); buna karşılık iki ya da daha fazla anormalliğin varlığı anöploidi riskini artırmıştır.

2. ve 3. gün embriyolarının diğer morfolojik özellikleri

Belirgin uzamsal düzensizlik gösteren, yani blastomerleri beklenen üç boyutlu dizilimde olmayan embriyoların anormal kabul edilmesi gerektiğine ilişkin kesin kanıt yoktur (Ebner ve ark., 2012; Cauffman ve ark., 2014; Ebner ve ark., 2017; Desai ve Gill, 2019).

Sitoplazmik granülarite, membran görünümü ve vakuol varlığı gibi diğer morfolojik özellikler de 2. ve 3. gün embriyolarının morfolojik değerlendirmesinin bir parçası olarak skorlanabilir (Magli ve ark., 2012). Bu özelliklerin kohortlar içinde ve kohortlar arasında değişkenlik gösterebileceğinin anlaşılması önemlidir.

Kompaksiyonun başlaması

Kompaksiyon genellikle 8–16 hücreli evrede başlar. Daha kesin olarak kompaksiyon, çok hücreli embriyonun herhangi iki blastomerinin kompaktlaşmaya başladığı an ile blastosöl oluşumunun başlangıcından hemen önceki an arasındaki evreyi kapsar (Ciray ve ark., 2014). Bir çalışma, embriyoların %90'a yakınının kompaksiyona 8 hücreli evrede ya da daha sonra başladığını göstermiştir (Iwata ve ark.,

2014). Bunların %50'si iyi kaliteli blastokistlere gelişirken, kompaksiyona 8 hücreli evreden önce başlayan embriyoların <%20'si iyi kaliteli blastokist olmuştur. Diğer çeşitli çalışmalar, 3. günde kompaksiyonun başlamasının olumlu bir özellik olabileceğini göstermiştir (Alikani ve ark., 2000; Skiadas ve ark., 2006; Le Cruguel ve ark., 2013; Aslan Öztürk ve ark., 2022). 2. günde kompaksiyonun atipik olduğu ve biyolojik öneminin bilinmediği belirtilmelidir.

Uzlaşı noktaları

- Klivaj evresi embriyo değerlendirmesi, İstanbul Konsensüsü'nde (2011) daha önce uzlaşıldığı gibi, hücre sayısını, dereceyi ve derecenin gerekçesini (ör. 4 hücreli, derece 2, fragmantasyon) içermelidir.
- 1. günde 2 hücreli, 2. günde 4 hücreli ve 3. günde 8 hücreli olup <%10 fragmantasyon, mononükleasyon ve evreye özgü hücre büyüklüğü gösteren embriyolar, klivaj evresinde transfer ya da kriyoprezervasyon durumunda önceliklendirilmelidir.
- Uzamsal düzensizlik, vakuoller, sitoplazmik granülarite ve zona anormalliği gibi atipik özellikler gösteren klivaj evresi embriyolarında implantasyon potansiyelinin etkilendiğine dair kayda değer bir kanıt bütünü bulunmamaktadır; bu nedenle bunlar klinik kullanım için uygun kabul edilir. Bununla birlikte, canlılık açısından daha ileri seçim ve değerlendirme amacıyla bu embriyoların uzatılmış kültürü göz önünde bulundurulmalıdır.
- *Erken klivaj:* Erken klivajın değerlendirilmesinin başarı oranlarını öngörmedeki önemi kesin olarak ortaya konmamıştır. Bununla birlikte binükleasyon/multinükleasyon ve hücre büyüklüğü gibi diğer özelliklere ilişkin bilgi katabilir. Erken klivajın TLT ile değerlendirilmesi; doğrudan bölünme, geri bölünme ve düzensiz kaotik bölünme gibi anormal erken klivajların tanınmasında kullanılabilir.
- *Fragmantasyon:* Göreli fragmantasyon derecesi şu şekilde tanımlanmıştır: yok ya da çok az (<%10), hafif (<%25) veya ağır (>%25). Yüzde değerleri hücre eşdeğerlerine dayanır; dolayısıyla 4 hücreli bir embriyoda %25 fragmantasyon, hacim olarak bir blastomere karşılık gelir.
- *2./3. günde blastomer sayısı:* Güncel değerlendirmeye göre embriyonun 2. günde 4, 3. günde 8 hücreli olması beklenir. Ancak bu durum, gözlemin tam zamanı ve kültür koşullarından etkilenebilir. Değerlendirme zamanının kayda geçirilmesi önerilir.
- *Hücre büyüklüğü:* 2, 4 ve 8 hücreli evrelerdeki embriyolarda blastomerler eşit büyüklükte olmalıdır. Diğer tüm hücre evrelerinde, bölünme döngüsü tamamlanmadığından hücre evresine uygun bir büyüklük farkı beklenir.
- *Multinükleasyon:* Gerçek multinükleasyon (bir ya da birkaç hücrede ≥3 çekirdek), azalmış implantasyon potansiyeli ve artmış kromozom anormalliğiyle ilişkilidir. 2. günde, 4 hücreli evrede binükleasyon her zaman olumsuz bir bulgu anlamına gelmeyebilir, ancak daha fazla kanıta gereksinim vardır. Laboratuvarlar her embriyoda binükleasyon, multinükleasyon ve mikronükleasyon sıklığını kaydetmeli ve bunları birbirinden ayırt etmeli; ideal olarak her embriyodaki her blastomerin çekirdek durumunu belirlemelidir. Olanaklıysa multinükleasyon TLT kullanılarak değerlendirilmelidir.
- *Time-lapse teknolojisi:* Belirli gelişim olaylarının zamanlamasını içeren geniş veri setleri, implantasyon ve canlı doğumu öngörmek için kullanılacak algoritmaların üretilmesi amacıyla çözümlenmiştir. Bununla birlikte, TLT ile embriyo seçimi sonrasında daha iyi klinik sonuçlar elde edildiğine ilişkin hâlihazırda sınırlı sayıda iyi kaliteli kanıt vardır (Armstrong ve ark., 2019; Kieslinger ve ark., 2023). TLT; hızlı bölünme, doğrudan bölünme ve geri bölünme gibi kinetik değişkenlerin değerlendirilmesine olanak tanır. Bu veriler embriyoların elenmesinde kullanılmış ve üç hücreye doğrudan bölünme gibi bazı atipik klivaj örüntülerinin embriyo gelişimini olumsuz etkilediği gösterilmiştir. Bu olaylar çoğu durumda statik gözlemlerle gözden kaçacaktır.
- *Kompaksiyon:* Az sayıda çalışmaya dayanarak, kompaksiyonun 8 hücreden önce başlamasının blastokist oluşumunu olumsuz etkilediği; 8 hücre ve sonrasında kompaksiyonun ise olumlu bir gösterge olabileceği ve bu evrede ek bir seçim aracı olarak kullanılabileceği görülmektedir.

Klivaj evresi embriyolarının sıralanması

Farklı morfolojik özellikler 2. ve 3. gün embriyolarının genel kalitesini yansıtabilir ve bu morfolojik özelliklerin birleşimi, 2. ve 3. gün embriyolarının transferi ya da kriyoprezervasyonu için bir sıralama düzeni tanımlamakta kullanılabilir. 2. ve 3. gün embriyoları için önerilen bir sıralama şeması Tablo 5'te sunulmuştur.

5. Morula evresi

Morula terimi, TLT kullanıldığında kompaksiyon sürecinin tamamlandığı aşamaya denk gelmektedir (Ciray ve ark., 2014). Gelişim hızındaki değişkenlik ve hücresel karmaşıklık nedeniyle, bu evrede morula gelişimi ve canlılığına ilişkin iyi tanımlanmış zamansal ve morfolojik belirteçler bulunmamaktadır (Coticchio ve ark., 2019). Morula evresi değerlendirmesine ilişkin tüm önerilerin özeti için bkz. Tablo 6.

Morula değerlendirmesinin zamanlaması ve skorlanması

Buna göre, embriyo skorlaması İstanbul Konsensüsü'nün (2011) önerdiği gibi 4. günde 92 ± 2 hpi'de yapılıyorsa beklenen gelişim evresi morula olacaktır (Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group Embryology, 2011).

Anket sonuçları, katılımcıların %24'ünün 4. gün embriyolarının değerlendirme zamanlamasına ilişkin İstanbul Konsensüsü (2011) önerilerini her zaman uyguladığını göstermiştir (Ek Veri SII, Şekil 3A).

Bununla birlikte TLT verileri, aynı hastanın embriyo kohortu içinde klivaj zamanlamalarında kayda değer sapmalar olduğunu göstermiştir. Uç durumda bir günlük gecikme ya da hızlanma gözlenebilmekte (Shebl ve ark., 2021) ve bu senaryoların hiçbiri her zaman daha kötü bir tedavi sonucuyla ilişkili olmamaktadır.

Morula değerlendirmesinde göz önünde bulundurulacak morfolojik özellikler

Anket sonuçları, katılımcıların %28'inin 4. gün embriyolarını skorlarken İstanbul Konsensüsü (2011) skorlama ölçütlerini her zaman uyguladığını göstermiştir (Ek Veri SII, Şekil 3B).

Kavitasyonun zamanlaması

Morulalarda erken kavitasyon, olasılıkla daha yüksek öploidi oranına bağlı olarak, daha yüksek implantasyon potansiyeline sahip daha kaliteli blastokistler ve daha yüksek devam eden gebelik oranlarıyla ilişkili olumlu bir prognostik parametredir (Hung ve ark., 2018). Öte yandan, kompaksiyon ve kavitasyonun başlamasındaki gecikmenin azalmış blastokist kalitesi (Ivec ve ark., 2011; Desai ve ark., 2014) ve azalmış canlı doğum olasılığıyla (Fishel ve ark., 2018) ilişkili olduğu saptanmıştır.

Hücre sayısı

Tablo 6. Morula evresi/4. gün embriyo değerlendirmesine ilişkin tüm kanıtların ve önerilerin özeti.

Özellik	Atipik örüntüler	Derleme bulgularının özeti				Dikkate alınacak noktalar	Öneri
		Embriyo kalitesi ve gelişim potansiyeli	Ploidi	İmplantasyon oranı	Canlı doğum oranı		
Kavitasyonun zamanlaması	Erken kavitasyon	B/D	Daha yüksek öploidi oranıyla ilişkili Çok düşük □◯◯◯ 1 gözlemsel çalışma (Hung ve ark., 2018)	Daha yüksek implantasyon oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Hung ve ark., 2018; Rienzi ve ark., 2019)	Daha yüksek devam eden gebelik oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Hung ve ark., 2018; Rienzi ve ark., 2019)	Morulaların 6. günde blastokist oluşumunu beklemek yerine 5. günde transfer edilmesiyle benzer klinik gebelik ve canlı doğum oranları elde edilmiştir	4. gün transferi ya da kriyoprezervasyonu söz konusu olduğunda, tam kompaksiyon ya da erken kavitasyon gösteren 4. gün embriyoları önceliklendirilmelidir.
	Kompaksiyonda gecikme	Daha düşük blastokist kalitesiyle ilişkili Çok düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Ivec ve ark., 2011; Desai ve ark., 2014)	Çelişkili sonuçlar: Anöploidi oranıyla belirgin ilişki yok Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Minasi ve ark., 2016) Daha yüksek öploidi oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Campbell ve ark., 2013)	İmplantasyon oranıyla belirgin ilişki yok Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Montjean ve ark., 2021)	Canlı doğum oranıyla belirgin ilişki yok Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Montjean ve ark., 2021)		
Hücre sayısı	4. günde daha fazla kompaktlaşan hücre	Blastokist oluşum oranıyla korelasyon Çok düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Ebner ve ark., 2009; Iwata ve ark., 2014)	B/D	B/D	B/D	Blastomerlerin çoğu kompaktlaşan kütleye katıldıktan sonra hücre sayısının doğru değerlendirilmesi olanaksızdır; odak, kompaksiyona katılan hücrelerin oranına kayar.	
Kompaksiyon derecesi	Kısmen kompaktlaşmış embriyolar (aşırı fragmantasyon, çok sayıda dışlanmış hücre, blastomerlerin kendiliğinden kavitasyonu)	Daha düşük blastokist oluşum oranı ve blastokist kalitesiyle ilişkili Düşük □□□□ 5 gözlemsel çalışma (Alikani ve ark., 2000; Ebner ve ark., 2009; Lagalla ve ark., 2017; Coticchio ve ark., 2021; Parriego ve ark., 2024)	B/D	B/D	Daha düşük canlı doğum oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Coticchio ve ark., 2021)	Kompaksiyon ve blastülasyon gibi yüksek düzeyde dinamik biyolojik süreçler, kısmen kompaktlaşmış embriyolarda gecikmiştir	Kısmi kompaksiyon gösteren embriyolar blastokist oluşturabilir ve klinik kullanım için değerlendirilmelidir. Bu embriyoların daha ileri değerlendirme amacıyla uzatılmış kültürü göz önünde bulundurulmalıdır.
Vakuolizasyon	Kompaksiyon dönemi civarında vakuol oluşumu	Daha düşük blastokist oluşum oranı ve blastokist kalitesiyle ilişkili Çok düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Mayer ve ark., 2018; Chen ve ark., 2019)	B/D	B/D	Daha düşük devam eden gebelik ve canlı doğum oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Feil ve ark., 2008; Mayer ve ark., 2018)	Vakuol oluşumu ile yaş ya da bazal hormonal profil gibi hasta parametreleri arasında korelasyon saptanmamıştır	Kompaksiyon dönemi civarında kendiliğinden vakuol oluşumunun, embriyo gelişimi açısından olumsuz bir öngördürücü olduğu saptanmıştır.
	Vakuolize blastomerlerin kompaksiyonu		Daha yüksek mozaisizm oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Chen ve ark., 2019)				

Özellik	Atipik örüntüler	Derleme bulgularının özeti				Dikkate alınacak noktalar	Öneri
		Embriyo kalitesi ve gelişim potansiyeli	Ploidi	İmplantasyon oranı	Canlı doğum oranı		
Klivaj dinamiği	**Blastomer dışlanması/atılması**	**B/D**	**Çelişkili sonuçlar: Dışlanan hücrelerde daha yüksek anöploidi** **Çok düşük** □◯◯◯ 1 gözlemsel çalışma (Lagalla ve ark., 2017) **Dışlanan hücrelerle ploidi korelasyonu** **Çok düşük** □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Parriego ve ark., 2024)	**B/D**	**Daha düşük canlı doğum oranıyla ilişkili** **Çok düşük** □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Coticchio ve ark., 2021; Hur ve ark., 2023)	**Morula evresinde blastomer dışlanması/atılması, büyük olasılıkla elenen hücrelerdeki anormalliklerle ilişkilidir.**	**Normal biçimde bölünen embriyolar, düzensiz bölünen karşılıklarına kıyasla daha az sıklıkla öploid blastokistlerle sonuçlanmaktadır.**

B/D, bildirilmemiş (not reported). **Tablo renk kodu**: Yeşil: embriyo klinik olarak kullanılabilir; Sarı: embriyo dikkatli değerlendirmeyle kullanılabilir; Kırmızı: embriyo klinik kullanım için uygun kabul edilmez.

92 ± 2 hpi'de yapılan kalite değerlendirmesi genellikle hem hücre sayısını hem de kompaksiyon derecesini dikkate alır (Alikani ve ark., 2000; Tao ve ark., 2002; Feil ve ark., 2008; Ebner ve ark., 2009; Fabozzi ve ark., 2016). 4. gün embriyosunda hücre sayısı ne kadar fazlaysa ve özellikle kompaktlaşan hücre sayısı ne kadar çoksa, 5. günde blastokist oluşturma şansının o kadar yüksek olduğu saptanmıştır (Ebner ve ark., 2009; Iwata ve ark., 2014).

Blastomerlerin çoğu kompaktlaşan kütleye katıldıktan sonra hücre sayısının doğru biçimde değerlendirilmesi olanaksız hâle geldiğinden, odak kompaksiyona katılan hücrelerin oranına kaymaktadır. Temel olarak kısmen kompakt (PCM) ve tam kompakt (FCM) morulalar birbirinden ayırt edilebilir. İlk grup, ya yaygın sitoplazmik fragmantasyon ya da blastomer eliminasyonu nedeniyle bir miktar embriyonik kütle kaybıyla nitelenir. Gözlenen kayıp belirginse, blastokiste ilerleyen gelişim (Alikani ve ark., 2000; Ebner ve ark., 2009; Lagalla ve ark., 2017; Coticchio ve ark., 2021) ve iyi kaliteli blastokist oluşumu (Ebner ve ark., 2009; Coticchio ve ark., 2021) etkilenecektir; bunların her ikisi de daha düşük canlı doğum oranıyla ilişkili olabilir (Coticchio ve ark., 2021).

Diğer morfolojik özellikler

Kompaksiyon derecesinin ötesinde bazı çalışmalar, 4. gün embriyolarının morfolojik değerlendirmesinde aşırı fragmantasyon, çok sayıda dışlanmış hücre, blastomerlerin "kendiliğinden kavitasyonu" ve vakuolizasyon gibi olumsuz morfolojik özellikleri de dikkate almıştır (Alikani ve ark., 2000; Feil ve ark., 2008; Ivec ve ark., 2011; Fabozzi ve ark., 2016). Dikkat çekici olarak, ilk üç anormallik PCM'yi yansıtır; bu da kalite değerlendirmesi amacıyla göz önünde bulundurulabilecek tek anormalliğin vakuolizasyon olduğu anlamına gelir. Nitekim kompaksiyon dönemi civarında kendiliğinden vakuol oluşumunun blastülasyon ve üstün kaliteli blastokist oluşum oranları (Mayer ve ark., 2018; Chen ve ark., 2019), devam eden gebelik oranları (Feil ve ark., 2008; Mayer ve ark., 2018) ve canlı doğum oranları (Mayer ve ark., 2018) açısından olumsuz bir öngördürücü olduğu saptanmıştır.

Yakın tarihli TLT çalışmaları, morula evresi civarında blastomer kaybı olgusuna da ışık tutmuştur (Lagalla ve ark., 2020; Coticchio ve ark., 2021). Her ikisi de blastomerlerin elenmesinden sorumlu olan, ancak zamanlama bakımından farklılaşan iki tür klivaj dinamiği tanımlanmıştır. Bunlardan biri blastomerlerin en baştan dışlanması, diğeri ise tam kompaksiyon gerçekleştikten sonra hücrelerin dışarı atılmasıdır. Bu iki olgunun birlikte görülmesi, canlı doğum açısından en kötü prognozu taşımaktadır (Coticchio ve ark., 2021; Hur ve ark., 2023).

Morula evresinde blastomer dışlanması/atılması, büyük olasılıkla elenen hücrelerdeki anormalliklerle ilişkilidir. Dışlanan hücrelerin, beklenen membran yerleşimli örüntüden farklı E-kaderin (temel bir hücre adezyon proteini) ekspresyon profilleri gösterdiği ortaya konmuştur (Alikani, 2005). Kompaksiyonun gerçekleşmemesinin ya da kompaksiyon sırasındaki blastomer kaybının (Zhu ve ark., 2021), morulanın kompaksiyonu ve hücre polarizasyonundaki temel olaylardaki bozulmaları (ör. apikal F-aktin ve PAR kompleksi birikimi) ne ölçüde yansıttığı, yakın zamana dek varsayımsal kalmıştır; ancak son dönemde hücrelerin kasılma güçlerinin kompaksiyon sürecinde kilit rol oynadığı açıklık kazanmıştır. Kompaktlaşamayan ya da hücre dışlayan embriyoların daha düşük yüzey gerilimi göstermesi, zayıf hücre kasılabilirliğinin nedensel olgu olduğunu düşündürmektedir (Firmin ve ark., 2024). Kısmi kompaksiyonla ilgili olarak diğer çalışmalar, sitokinez olmaksızın karyokinez ya da dejenerasyon belirtileri gibi "anormal bölünme davranışları" bildirmiştir (Zhan ve ark., 2016). Kompaksiyon sonrasında apoptotik çekirdeklerin ortaya çıkması, programlı hücre ölümünün etkilenen blastomerlerin elenmesinde rol oynayabileceğini de düşündürmektedir (Chatzimeletiou ve ark., 2005).

TLT dizilerinin daha ayrıntılı işaretlenmesi, FCM ile karşılaştırıldığında tüm PCM örüntülerinin yalnızca daha yüksek oranda düzensiz ve asimetrik klivaj göstermekle kalmadığını (Coticchio ve ark., 2021), aynı zamanda pronükleusların kaybolmasından başlayarak gelişimde belirgin bir gecikme sergilediğini de ortaya koymuştur (Lagalla ve ark., 2020; Coticchio ve ark., 2021; Hur ve ark., 2023). Özellikle kompaksiyon ve blastülasyon gibi yüksek düzeyde dinamik biyolojik süreçler gecikmiştir (Lagalla ve ark., 2020; Coticchio ve ark., 2021; Ezoe ve ark., 2023).

Hiyerarşik bir sınıflandırma modeli, en uygun aralıkta (81,3–96,0 hpi) morula oluşumunun (tM) blastokist oluşumunun en güçlü öngördürücülerinden biri olduğunu saptamıştır (Motato ve ark., 2016). Benzer biçimde çok değişkenli bir analiz, tM'nin öploid blastokist transferi sonrasında canlı doğum oranıyla ilişkili tek morfokinetik parametre olduğunu göstermiştir (Rienzi ve ark., 2019).

Bazı çalışmalar tM ya da blastülasyonun başlaması (tSB) ile anöploidi arasında korelasyon bulmazken (Minasi ve ark., 2016), diğerleri karmaşık anöploid embriyolarda kompaksiyonun başlamasında (tSC) gecikme saptamıştır (Campbell ve ark., 2013).

Düzensiz klivajları izleyen PCM'nin öploid blastokistlere gelişebildiğine ilişkin kanıtlar vardır (Zhan ve ark., 2016; Lagalla ve ark., 2017). Morulalardan dışlanan bu hücrelerin yüksek oranda anöploidi ve bozulmuş DNA taşıdığı gösterilmiştir (Lagalla ve ark., 2017). Bu durum, ilişkili blastokistin biyopsi yapılan TE hücrelerinde azalmış anöploidi oranıyla birlikte değerlendirildiğinde, bir öz denetim mekanizmasının anöploid hücrelerin göreli bolluğunu azaltabileceğini düşündürmektedir.

Öte yandan yakın tarihli bir çalışma, dışlanan hücreler ile TE hücreleri arasında yüksek ploidi korelasyonu göstermiş; bu da hücre dışlanmasının, dışlanan hücrelerin kromozomal yapısından bağımsız olarak bozulmuş embriyo gelişiminin bir sonucu olabileceğini düşündürmüştür (Parriego ve ark., 2024).

Uzlaşı noktaları

- 4. gün transferi ya da vitrifikasyonu söz konusu olduğunda, tam kompaksiyon ya da erken kavitasyon gösteren 4. gün embriyoları önceliklendirilmelidir.
- Kısmi kompaksiyon gösteren embriyolar blastokist oluşturabilir ve klinik kullanım için değerlendirilmelidir. Bu embriyoların daha ileri değerlendirme amacıyla uzatılmış kültürü göz önünde bulundurulmalıdır.

Morulalar için önerilen bir sıralama şeması Tablo 7'de sunulmuştur.

6. Blastokist evresi (4.–7. günler)

İstanbul Konsensüsü'nün 2011'de ilk kez yayımlanmasından bu yana, 4.–7. günleri kapsayan blastokist evresine kadar embriyo kültürü klinik embriyolojide rutin hâle gelmiş olup uygulamada önemli bir değişimi temsil etmektedir.

Anket sonuçları, katılımcıların yalnızca %27'sinin blastokist skorlamasının zamanlaması ve ölçütlerine ilişkin İstanbul Konsensüsü (2011) önerilerini izlediğini göstermektedir. Anket sonuçlarına göre Gardner derecelendirme sistemi (Gardner ve Schoolcraft, 1999) klinikte en sık kullanılan şema olmayı sürdürmektedir (katılımcıların %63'ü) (Ek Veri SII, Şekil 1D). Gardner derecelendirme sisteminin yeniden değerlendirilmesi ve değiştirilmesi beklenen bir gelişmeydi ve nitekim bu gerçekleşmiştir (Veeck ve Zaninovic, 2003; Cuevas Saiz ve ark., 2018; Hammond ve ark., 2020; Pierson ve ark., 2023); katılımcıların %30'u, klinik kullanıma uygun olmadığı düşünülen blastokistleri belirtmek

Tablo 7. İnseminasyon sonrası saati (hpi) benzer olan morulaların seçimi için sıralama.

Özellik	Üst sıra	Orta sıra	Alt sıra
(Erken) kavitasyon	Var	Yok	Yok
Kompaksiyon	FCM	PCM	Kompaksiyon yok ≥8 hücreli kompaktlaşan embriyo Belirgin sitoplazmik kayıpla birlikte PCM
Morfoloji	Vakuol yok	Vakuolizasyon yok ya da hafif	Yoğun vakuolizasyon
Öneri:	**Atipik morfolojik özellikler gösteren embriyolarda kültürü blastokiste uzatın: blastomerlerin kendiliğinden kavitasyonu, <%50 kompaktlaşmış embriyo, kompaksiyon olmaksızın ≤8 hücre, aşırı fragmantasyon, yaygın vakuoller.**		

FCM, tam kompakt morula (fully compacted morulae); PCM, kısmen kompakt morula (partially compacted morulae).

için ek bir derece ("D" ya da "X") ya da "sınıflandırılamaz" terimini kullandığını bildirmiştir.

Bir kohortta gelişim potansiyeli en yüksek embriyoyu belirleme yeteneğini iyileştirmek ve aynı zamanda tartışılan derecelendirme sistemleriyle blastokistlerin öznel değerlendirmesine bağlı gözlemci içi ve gözlemciler arası değişkenliği azaltmak amacıyla yapay zekâ (AI), hem time-lapse ile elde edilen ardışık embriyo gelişim görüntülerine (Khosravi ve ark., 2019; Tran ve ark., 2019; Berntsen ve ark., 2022; Illingworth ve ark., 2024) hem de blastokistlerin statik görüntülerine (Bormann ve ark., 2020; Chavez-Badiola ve ark., 2020; Diakiw ve ark., 2022) uygulanmıştır. İlginç biçimde Ezoe ve ark.'nın yakın tarihli bir makalesi, AI skorunun Gardner derecelendirme sisteminin morfolojik yönleriyle sıkı biçimde bağlantılı olduğunu göstermiştir (Ezoe ve ark., 2022b). AI, embriyologun blastokist değerlendirmesini güçlendirmek açısından büyük umut vaat etmektedir (Fitz ve ark., 2021; Sawada ve ark., 2021); ancak henüz geleneksel değerlendirmenin yerini alacak bir yöntem olarak görülmemelidir (Illingworth ve ark., 2024). Anket sonuçları, katılımcıların yalnızca %14'ünün AI kullandığını ve bunun da başlıca (olguların %7'inde) time-lapse videolarında embriyo değerlendirmesi amacıyla olduğunu göstermiştir (Ek Veri SII, Şekil 6C).

Blastokist değerlendirmesine ilişkin tüm önerilerin özeti için bkz. Tablo 8.

Blastokist skorlamasının zamanlaması

İstanbul Konsensüsü'nün (2011) 5. gün embriyolarının statik gözlemi için önerdiği zamanlama 116 ± 2 hpi'dir (Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group Embryology, 2011). Bununla birlikte, canlı doğumla sonuçlanan embriyolarda blastosöl boşluğunun oluşumu ve genişlemesi geniş bir zaman aralığında gerçekleşir; bu süreç 4. gün kadar erken (98,4 ± 0,4 hpi) başlayabilir, "tipik" 5. gün zamanlamasında (112,4 ± 0,1 hpi) olabilir ya da 6. güne (131,6 ± 0,1 hpi) veya 7. güne (151,2 ± 0,5 hpi) gecikebilir (Coticchio ve ark., 2023). Embriyo değerlendirmesi için standart bir zaman penceresinin korunması, kıyaslama (benchmarking) ile temel performans göstergelerinin (KPI) oluşturulması ve izlenmesi açısından yararlı olabilir; ancak bu, özellikle TLT bulunmadığında iş akışı gereksinimleriyle dengelenmelidir (Şekil 1). Değerlendirme zamanlaması açısından, günlük değerlendirme zamanları tutarlı olamasa bile, gelişimin her evresinde daha hızlı gelişen embriyoların daha yavaş olanlara kıyasla daha yüksek implantasyon ve doğum potansiyeline sahip olduğunu bildiren raporlar göz önünde bulundurularak, bir kohort içindeki blastokistler seçime yardımcı olmak üzere gelişim evresi ve morfoloji bakımından karşılaştırılabilir (Campbell ve ark., 2022b).

Blastokist değerlendirmesinde göz önünde bulundurulacak morfolojik özellikler

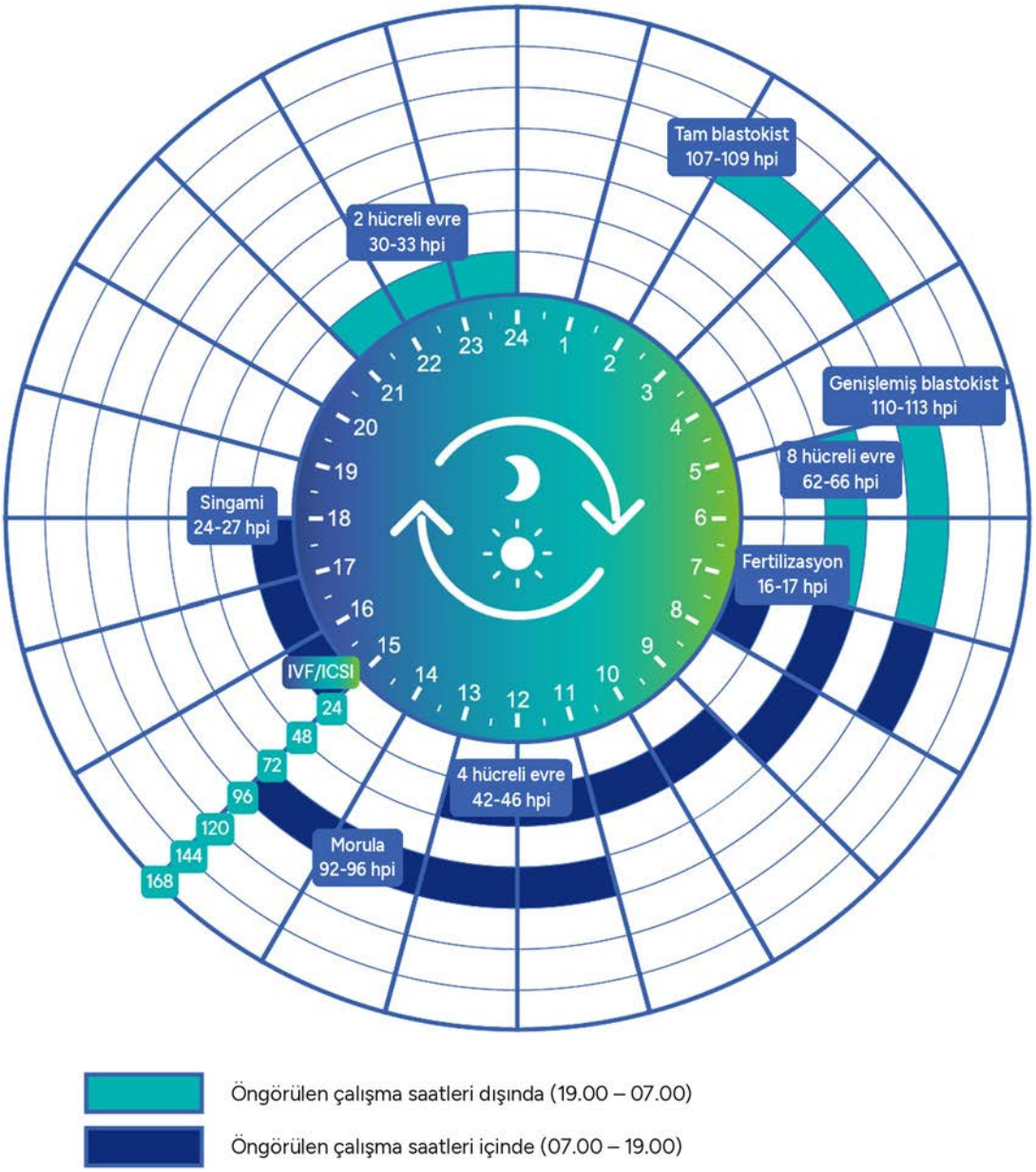
Blastokist oluşumunun günü

Gelişim hızı blastokist canlılığıyla doğrudan ilişkilidir: daha yavaş büyüyen blastokistlerin implantasyon oranları daha düşüktür (Shebl ve ark., 2021). Beklenen zaman çizelgesine uygun gelişen blastokistler taze siklusta transfer edildiğinde yüksek implantasyon oranlarına sahipken (Shebl ve ark., 2021), yavaş büyüyen blastokistler implantasyon penceresini kaçırabilir; bu sorun blastokist vitrifikasyonu ve dondurulmuş siklusta transferle kısmen giderilmektedir (5. güne karşı 6. gün; taze transfer için RR 1,74 [%95 GA 1,37–2,20] ve dondurulmuş embriyo transferi [FET] için 1,38 [%95 GA 1,23–1,56]) (Bourdon ve ark., 2019); bu durum özellikle 5. günde morula evresinde olan 6. gün blastokistleri için geçerlidir (Tannus ve ark., 2019). Nadir görülmekle birlikte 4. gün blastokistleri, FET sikluslarında çok yüksek implantasyon oranı göstermektedir (Coticchio ve ark., 2023).

Test edilmemiş blastokistlerde 6. günde dondurulanların canlı doğum oranları, 5. günde dondurulanlara göre daha düşüktür (Bourdon ve ark., 2019; Yerushalmi ve ark., 2021; Coticchio ve ark., 2023); bu fark öploid blastokistlerin transferinde de sürmektedir (Tiegs ve ark., 2019; Zhan ve ark., 2020; Cimadomo ve ark., 2022b; Lane ve ark., 2022). Kullanılabilir tüm blastokistlerin %5–10'unu oluşturabilen 7. gün blastokistleri (Hammond ve ark., 2018), 5. ve 6. gün öploid blastokistlerine kıyasla daha yüksek anöploidi ve daha düşük implantasyon oranlarına sahiptir (Tiegs ve ark., 2019; Cimadomo ve ark., 2022b; Lane ve ark., 2022). Bununla birlikte 7. gün blastokistleriyle sağlıklı canlı doğumlar elde edilebilmektedir ve bu embriyolar, az sayıda embriyosu bulunan (Du ve ark., 2018) ya da ileri anne yaşındaki hastalar (Abdala ve ark., 2023) için özellikle önemli olabilir. Anket sonuçları, katılımcıların küçük bir azınlığının (%16) bazı olgularda taze 7. gün blastokist transferi yaptığını, diğerlerinin çoğunun (%49) ise 7. gün blastokistlerini dondurulmuş embriyo transferi sikluslarında transfer ettiğini göstermiştir.

Ekspansiyon derecesi ve ICM/TE derecesi

İstanbul Konsensüsü (2011) skorlama sistemine göre implantasyon potansiyeli, ekspansiyon evresi ile ICM/TE derecesiyle ilişkilidir; ancak her birinin göreli önemi henüz tam olarak belirlenmemiştir. ICM/TE dereceleri A ve B arasındaki fark küçük görünmekte; buna karşılık C



Şekil 1. Zaman pencereleri grafiği: bu şekil, gelişmekte olan embriyonun belirli evrelerde gözlenme olasılığını en üst düzeye çıkarmak amacıyla önerilen değerlendirme zamanlamalarına bir örnek sunmaktadır. Bu örnekte IVF/ICSI saat 15.00'te gerçekleştirilmiştir. hpi: inseminasyon sonrası saat.

derecesi katılımcıların %44'ü tarafından kullanılamaz kabul edilmektedir. Kalan katılımcılar değiştirilmiş bir Gardner derecesi ya da "sınıflandırılamaz" terimini kullanmakta ve ICM'si ya da TE'si C derecesinde olan blastokistleri kullanılabilir saymaktadır. Klinik uygulamadaki bu belirgin farklılık uzlaşı eksikliğine işaret etmekte; her 10 katılımcıdan 8'inin kullanılamaz blastokistler için evrensel kabul görmüş bir terime gereksinim olduğunu belirtmesi de bu gözlemi desteklemektedir.

Taze, test edilmemiş blastokist transferleri tedavi siklusların önemli bir bölümünü oluşturmakta ve blastokist özelliklerinin göreli öneminin belirlenmesine yardımcı olmuştur. Ekspansiyon evresi, ICM derecesi ve TE derecesini dikkate alan çok değişkenli analiz, TE derecesinin canlı doğumun en güçlü öngördürücüsü olduğunu göstermekte (Ahlström ve ark., 2011; Hill ve ark., 2013; Thompson ve ark., 2013; Ebner ve ark., 2016; Bakkensen ve ark., 2019; Pons ve ark., 2023); bunu ekspansiyon derecesi izlemektedir (Thompson ve ark., 2013; Du ve ark., 2016; Subira ve ark., 2016; Bakkensen ve ark., 2019). Bu çalışmalara ICM'si ya da TE'si "C" derecesinde olan az sayıda blastokist dâhil edilmiştir; dikkat çekici olarak bir çalışmada "C" derecesi ICM'nin daha düşük canlı doğum oranıyla ilişkili olduğu saptanmıştır (Subira ve ark., 2016). Genel olarak, daha yüksek TE derecesine sahip genişlemiş blastokistler taze transferlerde daha yüksek canlı doğum oranlarıyla ilişkilidir (Zou ve ark., 2023). Benzer biçimde, 2000'den fazla taze blastokist transferini çok değişkenli analizle değerlendiren bir çalışma, hem ekspansiyon evresinin hem de TE derecesinin canlı doğum olasılığıyla ilişkili olduğunu göstermiştir (Storr ve ark., 2019). ICM derecesinin sonuç üzerindeki etkisi daha az açıktır. ICM derecesi gebelik kaybıyla (Van den Abbeel ve ark., 2013) ve doğum ağırlığıyla (Licciardi ve ark., 2015) ilişkili olabilse de, kesin bağlantıların kurulabilmesi için daha fazla kanıta gereksinim vardır. Belirgin dejenerasyon belirtileri gösteren ya da açıkça ayırt edilebilir bir ICM'si olmayan blastokistler zaman zaman canlı doğumlarla sonuçlanabilir; ancak bu konudaki kanıtlar anekdotaldir (Kovacic ve ark., 2004).

Test edilmemiş taze ve dondurulmuş blastokistlerin öngörücü özellikleri birbirine benzemektedir. Dondurulmuş blastokistlerde canlı doğumla en sık ilişkilendirilen değişken TE derecesi olmuş (Honnma

ve ark., 2012; Ahlström ve ark., 2013; Chen ve ark., 2014); bunu ekspansiyon evresi izlemiştir (Ahlström ve ark., 2013). Bu çalışmaların hiçbiri ICM derecesi ile implantasyon arasında ilişki bulmamıştır; ancak taze blastokist çalışmalarına benzer biçimde, dondurulmuş embriyo transferi sikluslarında "C" derecesi ICM yeterince temsil edilmemiştir. Dikkat çekici olarak ve yalnızca 5. gün embriyolarının transfer edildiği taze transferlerin aksine, bu çalışmaların hiçbiri çok değişkenli analizde blastokist oluşum gününe göre düzeltme yapmamıştır; bu da daha yavaş büyüyen blastokistlerin sıralanmasında evre/dereceyi kullanma açısından uygulanabilirliklerini sınırlamaktadır.

Çalışmaların çoğu TE derecesinin canlı doğumla en yüksek korelasyonu gösterdiğini saptamış olsa da, en az bir çok değişkenli analiz ICM derecesinin implantasyonla en sık ilişkilendirilen değişken olduğunu bulmuştur (Irani ve ark., 2017). Ancak çalışmaların çoğu yalnızca "C" derecesi ICM ile ilişki saptamış; "A" ve "B" dereceleri arasında ilişki bulmamıştır (Zhao ve ark., 2018; Nazem ve ark., 2019; Abdala ve ark., 2022; Zhang ve ark., 2022). Bu çalışmaların bazıları TE derecesiyle (Zhao ve ark., 2018; Nazem ve ark., 2019) ve ekspansiyon evresiyle (Abdala ve ark., 2022) de ilişki saptamıştır. Yakın tarihli bir çalışma, gün, ekspansiyon evresi, TE ve ICM derecelerinin tümünün klinik gebelikle anlamlı biçimde ilişkili olduğu bileşik bir blastokist skoru geliştirmiş; en büyük etkinin blastokist gününe ait olduğunu, bunu ICM derecesi, ekspansiyon ve TE derecesinin izlediğini göstermiştir (Zhan ve ark., 2020). TE derecesinin değerlendirilmesi görece kolayken, ICM'nin değerlendirilmesinin konumu ve şekline bağlı olarak daha sorunlu olabileceği kabul edilmektedir; bu da bazı blastokistlerde ICM'nin A ve B dereceleri arasındaki ayrımın güçlüğünü yansıtmaktadır.

Blastokist kültürünün klinik uygulamaya girmesinin erken döneminde, yavaş dondurma ve değişken kriyoprezervasyon sonrası sağkalımın kararları etkilediği koşullarda blastokist kullanılabilirliği için eşik Gardner 3BB olarak belirlenmişti (Langley ve ark., 2001). Vitrifikasyon ve PGT-A'nın benimsenmesinden bu yana, çeşitli çalışmalar canlılığı düşük olarak sınıflandırılan (ör. C derecesi) ve düşük dereceli olduğu varsayılan blastokistlerin—oranları belirgin biçimde düşük olmakla birlikte—sağlıklı canlı doğumla sonuçlanabildiğini göstermektedir (Morbeck, 2017; Kemper ve ark., 2021). 7. gün blastokistlerine benzer biçimde, bu düşük dereceli blastokistler az sayıda embriyosu bulunan hastalar için yararlı olabilir (Cimadomo ve ark., 2022b). Kullanılabilir blastokist tanımındaki bu değişiklikler önemli klinik ve etik soruları gündeme getirmiştir: canlılığın alt sınırı belirlenmiş midir ve belirlenmişse, insan embriyosunun yok edilmesinin yasaklandığı ülkelerde bu embriyolar atılabilir mi? Klinik uygulamanın bu özgün ve önemli alanını ele almak üzere "gelişimsel olarak yetersiz" preimplantasyon embriyolarını tanımlayan bir çerçeve geliştirilmiştir (Cimadomo ve ark., 2021).

Anormal kromozomal durum

Kromozomal durumu anormal olan insan embriyoları gelişebilir; nitekim belirli trizomilerin yüksek skorlu blastokist oluşumuyla bağdaştığı ve trizomi 21 gibi bazılarının term gebeliğe ulaşabildiği bilinmektedir (Forman ve ark., 2013; Savio Figueira Rde ve ark., 2015). Önemli bir nokta olarak, kromozomal durumu anormal olan blastokistler hücresel stres sergileyecek; bu yolla transkriptomları, proteomları ve metabolomları etkilenecek, dolayısıyla fizyolojileri ve gelişimleri bozulacaktır.

Blastokist morfolojisi ile TE biyopsisi sonrası anöploidi arasındaki ilişki ilk olarak retrospektif gözlemsel bir çalışmayla çıkarsanmıştır (Capalbo ve ark., 2014); bu çalışmada 35 yaş üstü kadınlarda mükemmel, iyi, orta ve kötü kaliteli embriyolarda anöploidi sıklığı sırasıyla %6,8, %15,2, %17,4 ve %27,5 olarak belirlenmiştir. Dikkat çekici biçimde, hem ICM'nin hem de TE'nin anormal olduğu blastokistlerde anöploidi sıklığı iki katına çıkmıştır. 1730 embriyonun analiz edildiği bir başka olgu serisi çalışmasında, öploid blastokistlerin yüksek skorlu ICM ve TE, yüksek ekspansiyon derecesi ve blastosöl oluşumunun başlamasına kadar geçen sürenin daha kısa olmasıyla karakterize olduğu bildirilmiştir (Minasi ve ark., 2016). Benzer biçimde, 3573 blastokistin analizinde öploidinin Gardner derecesiyle ilişkili olduğu gösterilmiş, ancak derecelendirmenin ploidi açısından göreli katkıları bildirilmemiştir (Kato ve ark., 2023).

Blastokist oluşumunun zamanlamasını (ekspansiyon evresine yansıyan) belirlemek üzere time-lapse kullanıldığında, embriyo ekspansiyonunun kinetiği ve hızının anöploidi riskiyle ilişkili olduğu gözlenmiştir (Campbell ve ark., 2013; Huang ve ark., 2019; Cimadomo ve ark., 2022b). Ancak diğer gruplar bu bulguları doğrulayamamıştır (Kramer ve ark., 2014; Yang ve ark., 2014; Rienzi ve ark., 2015). Daha yakın zamanda, embriyo morfolojisinin blastokist öploidi oranlarıyla ilişkisini çözümlemek üzere AI uygulanmış (Huang ve ark., 2021; Zou ve ark., 2022; Bamford ve ark., 2023; Barnes ve ark., 2023; Hori ve ark., 2023; Kato ve ark., 2023) ve umut verici sonuçlar elde edilmiştir. İlginç biçimde, AI skoru öploid blastokistlerde 5. gün Gardner derecesiyle yakından ilişkili görünmektedir (Kato ve ark., 2023). Blastokist morfolojisinin belirli yönleri ve özgül AI uygulamaları, kromozomal olarak anormal olma riski en yüksek embriyoları belirleyebilmiş olsa da, bu yaklaşım tanısal doğruluğa sahip değildir. Bununla birlikte bu yöntemler, anöploid olma olasılığı en yüksek ve dolayısıyla biyopsi ile genetik analiz için aday olan blastokistleri belirlemekte kullanılabilir.

Kendiliğinden kollaps

Time-lapse kültürünün sağladığı bir üstünlük, kendiliğinden blastosöl kollapsı gibi az çalışılmış blastokist özelliklerinin değerlendirilebilmesidir. Blastokistlerin yaklaşık dörtte biri kendiliğinden kollaps ve yeniden genişleme göstermekte, daha da azında ise birden fazla kollaps görülmektedir (Marcos ve ark., 2015). Kendiliğinden kollapsın devam eden gebelik ya da canlı doğum açısından önemi belirsizdir (Marcos ve ark., 2015; Bodri ve ark., 2016; Sciorio ve ark., 2020); ancak kanıtların çoğu olumsuz bir etkiye işaret etmektedir. Kollaps gösteren blastokistlerin anöploid olma olasılığı daha yüksektir; bununla birlikte bazı raporlar kollaps öyküsünün öploid embriyo implantasyonunu etkilemediğini belirtmektedir (Cimadomo ve ark., 2022a; Bickendorf ve ark., 2023).

Tablo 8. Blastokist değerlendirmesine ilişkin tüm kanıtların ve önerilerin özeti.

Özellik	Atipik örüntüler	Derleme bulgularının özeti				Dikkate alınacak noktalar	Öneri
		Embriyo kalitesi ve gelişim potansiyeli	Ploidi	İmplantasyon oranı	Canlı doğum oranı		
Blastokist oluşumunun günü	**Yavaş blastokist (5. güne karşı 6. gün)**	**B/D**	**B/D**	**Daha düşük implantasyon oranlarıyla ilişkili** **Çok düşük** □◯◯◯ 1 gözlemsel çalışma (Shebl ve ark., 2021)	**Daha düşük canlı doğum oranıyla ilişkili** **Düşük** □□□□ 3 gözlemsel çalışma (Bourdon ve ark., 2019; Yerushalmi ve ark., 2021; Coticchio ve ark., 2023)	**Yavaş büyüyen blastokistler implantasyon penceresini kaçırabilir; bu sorun blastokist vitrifikasyonu ve dondurulmuş siklusta transferle kısmen giderilmektedir.**	**Gelişim hızı, blastokist potansiyelinin başlıca göstergelerinden biridir ve blastokistlerin transfer için sıralanmasında kullanılmalıdır**
	7. gün blastokistleri	**B/D**	**Daha yüksek anöploidi oranlarıyla ilişkili** **Düşük** □□□□ 3 gözlemsel çalışma (Tiegs ve ark., 2019; Cimadomo ve ark., 2022b; Lane ve ark., 2022)	**Daha düşük implantasyon oranlarıyla ilişkili** **Düşük** □□□□ 3 gözlemsel çalışma (Tiegs ve ark., 2019; Cimadomo ve ark., 2022b; Lane ve ark., 2022)	**Daha düşük canlı doğum oranıyla ilişkili** **Düşük** □□□□ 1 derleme ve 3 gözlemsel çalışma (Hammond ve ark., 2018; Tiegs ve ark., 2019; Cimadomo ve ark., 2022b; Lane ve ark., 2022)		**7. gün blastokistleri canlı olabilir ve klinik kullanım için değerlendirilebilir.**
Derece	**Ekspansiyon derecesi**	**B/D**	**Çelişkili sonuçlar:** **Daha yüksek anöploidi oranlarıyla ilişkili** **Çok düşük** □□□□ 3 gözlemsel çalışma (Campbell ve ark., 2013; Huang ve ark., 2019; Cimadomo ve ark., 2022b) **Anöploidi oranıyla belirgin ilişki yok** **Çok düşük** □□□□ 3 gözlemsel çalışma (Kramer ve ark., 2014; Yang ve ark., 2014; Rienzi ve ark., 2015)	**B/D**	**Daha yüksek canlı doğum oranıyla ilişkili** **Çok düşük** □□□□ 6 gözlemsel çalışma (Ahlström ve ark., 2013; Thompson ve ark., 2013; Du ve ark., 2016; Subira ve ark., 2016; Bakkensen ve ark., 2019; Storr ve ark., 2019)		**Ekspansiyon derecesi, blastokist potansiyelinin başlıca göstergelerinden biridir ve blastokistlerin transfer için sıralanmasında kullanılmalıdır.**
	ICM/TE derecesi	**B/D**	**Anöploidi oranıyla ilişkili** **Orta** □□□□ 1 sistematik derleme ve 5 gözlemsel çalışma (Huang ve ark., 2021; Zou ve ark., 2022; Bamford ve ark., 2023; Barnes ve ark., 2023; Hori ve ark., 2023; Kato ve ark., 2023)	**Çelişkili sonuçlar: ICM derecesi implantasyonla ilişkili** **Çok düşük** □□□□ 5 gözlemsel çalışma (Irani ve ark., 2017; Zhao ve ark., 2018; Nazem ve ark., 2019; Abdala ve ark., 2022; Zhang ve ark., 2022) **ICM derecesinin implantasyon oranıyla belirgin ilişkisi yok** **Çok düşük** □□□□ 3 gözlemsel çalışma (Honnma ve ark., 2012; Ahlström ve ark., 2013; Chen ve ark., 2014)	**TE derecesi canlı doğum oranlarının en güçlü öngördürücüsüdür** **Düşük** □□□□ 10 gözlemsel çalışma (Ahlström ve ark., 2011; Honnma ve ark., 2012; Ahlström ve ark., 2013; Hill ve ark., 2013; Thompson ve ark., 2013; Chen ve ark., 2014; Ebner ve ark., 2016; Bakkensen ve ark., 2019; Storr ve ark., 2019; Pons ve ark., 2023)		**Trofektoderm, blastokist potansiyelinin başlıca göstergelerinden biridir ve blastokistlerin transfer için sıralanmasında kullanılmalıdır.** **C derecesi blastokistler canlı olabilir ve klinik kullanım için değerlendirilebilir.**

Özellik	Atipik örüntüler	Derleme bulgularının özeti				Dikkate alınacak noktalar	Öneri
		Embriyo kalitesi ve gelişim potansiyeli	Ploidi	İmplantasyon oranı	Canlı doğum oranı		
Kromozomal durum	Anöploid	Daha düşük embriyo kalitesiyle ilişkili Çok düşük □◯◯◯ 3 gözlemsel çalışma (Capalbo ve ark., 2014; Minasi ve ark., 2016; Kato ve ark., 2023)	B/D	B/D	B/D	Kromozomal olarak anormal olma riski en yüksek embriyoların belirlenmesi tanısal bir yaklaşım değildir; daha çok anöploid olma olasılığı en yüksek ve dolayısıyla biyopsi ile genetik analiz için aday olan blastokistleri belirlemenin bir yolu olarak görülebilir.	
Sitoplazmik iplikler	Sitoplazmik iplik varlığı	Daha yüksek blastokist kalitesiyle ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Ma ve ark., 2022)	B/D	Daha yüksek implantasyon oranıyla ilişkili Düşük □□□□ (Ebner ve ark., 2020; Ma ve ark., 2022; Eastick ve ark., 2021; Eastick ve ark., 2023a; Joo ve ark., 2023)	B/D	Sitoplazmik iplik varlığının sıralama için bağımsız bir gösterge olarak yararı bilinmemektedir.	Sitoplazmik iplik gösteren blastokistler klinik olarak kullanılabilir.
Kendiliğinden kollaps	Kendiliğinden kollaps	Daha düşük blastokist kalitesiyle ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Cimadomo ve ark., 2022a)	Daha düşük öploidi oranıyla ilişkili Düşük □□□□ 3 gözlemsel çalışmanın 1 meta-analizi (Bickendorf ve ark., 2023)	İmplantasyon potansiyeliyle belirgin ilişki yok Çok düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Sciorio ve ark., 2020; Cimadomo ve ark., 2022a)	Çelişkili sonuçlar: Daha düşük devam eden gebelik oranıyla ilişkili Düşük □□□□ 5 gözlemsel çalışmanın 1 meta-analizi (Bickendorf ve ark., 2023) Canlı doğum oranıyla belirgin ilişki yok Düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışmanın 1 meta-analizi (Bickendorf ve ark., 2023)	Kendiliğinden kollapsın gebelik sonuçları üzerindeki önemi belirsizdir.	
ICM	2 ICM varlığı	Olası komplikasyon Çok düşük □□□□ 2 gözlemsel çalışma (Payne ve ark., 2007; Noli ve ark., 2015)	B/D	B/D	B/D	Çocuk ve anne açısından taşıdığı riskler göz önüne alındığında, klinikler 2 ya da daha fazla ICM'si olan blastokistleri kullanmama politikası benimsemeyi değerlendirebilir.	Monozigotik ikizlenme potansiyeline işaret eden 2 ICM'li blastokistler, kapsamlı hasta danışmanlığı yapılmaksızın transfer edilmemelidir.
	ICM yokluğu	B/D	B/D	Daha düşük implantasyon oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Kovacic ve ark., 2004)	Daha düşük canlı doğum oranıyla ilişkili Çok düşük □□□□ 1 gözlemsel çalışma (Kovacic ve ark., 2004)	ICM'si olmayan blastokistlerin transferi anormal gebeliğe ya da gebelik kaybına yol açabilir.	Canlılık göstermeyen blastokistler, dejeneratif özellikler ya da belirgin bir ICM'nin yokluğu temelinde "C" yerine "D" olarak derecelendirilmelidir.

ICM, iç hücre kitlesi; B/D, bildirilmemiş (not reported); TE, trofektoderm. **Tablo renk kodu**: Yeşil: embriyo klinik olarak kullanılabilir; Sarı: embriyo dikkatli değerlendirmeyle kullanılabilir; Kırmızı: embriyo klinik kullanım için uygun kabul edilmez.

Sitoplazmik iplikler

Sitoplazmik iplikler, TE ve ICM hücrelerini birbirine bağlayan ve hücresel iletişimde rol oynayan dinamik yapılardır (Salas-Vidal ve Lomelí, 2004). Transfer edilen genişlemiş blastokistlerin %55–85'inde görülen sitoplazmik iplikler implantasyonla pozitif ilişkilidir (Ebner ve ark., 2020; Eastick ve ark., 2021; Ma ve ark., 2022; Eastick ve ark., 2023a; Joo ve ark., 2023). Genel olarak blastokist derecelendirmesine benzer biçimde, sitoplazmik ipliklerin değerlendirilmesinde gözlemci içi ve gözlemciler arası uyum zayıf ile orta düzey arasındadır (Eastick ve ark., 2023b). İplikler daha yüksek blastokist kalitesiyle ilişkili olsa da (Ma ve ark., 2022), sıralama için bağımsız bir canlılık öngördürücüsü olarak kullanılmasının yararı açık değildir. Ekspansiyon derecesi ve ICM/TE derecesine göre düzeltme yapıldığında ipliklerin varlığı klinik gebelikle anlamlı biçimde ilişkili olsa da (Eastick ve ark., 2023b), bu çok değişkenli analizde blastokist oluşum günü dikkate alınmamıştır.

Diğer morfolojik özellikler

Bir blastokistte iki ICM bulunması nadir görülen bir durumdur ve dikkatli değerlendirilmesi gerekir. Monozigotik ikizlenme, yardımcı üreme teknikleri sonrasında daha sık görülen ve hem çocuk hem de anne açısından önemli riskler taşıyan bir komplikasyondur (Vitthala ve ark., 2009; Hviid ve ark., 2018; Busnelli ve ark., 2019; Kadam ve ark., 2023). İn vitro iki ICM'li blastokistlere ilişkin az sayıda olgu sunumu bulunduğundan (Veeck ve Zaninovic, 2003; Payne ve ark., 2007; Noli ve ark., 2015), ICM'nin bölünmesinin embriyo transferinden sonraya kadar gerçekleşmemesi olasıdır. Çocuk ve anne açısından taşıdığı riskler göz önüne alındığında, klinikler iki ya da daha fazla ICM'si olduğundan kuşkulanılan blastokistleri kullanmama politikası benimsemeyi değerlendirebilir. Alternatif olarak, transfer öncesinde iki ICM görüldüğünde kliniklerin, uygun hasta danışmanlığına olanak tanımak üzere tıbbi ekibin bilgilendirilmesini öngören bir politikası olmalıdır.

Geleneksel morfolojinin ötesinde çeşitli başka özellikler de blastokistlerin sıralanmasında kullanılabilir. Çok sayıda rapor erken embriyo gelişim özellikleriyle blastokist implantasyonu arasında ilişki kursa da, bunların çoğu istatistiksel analizde blastokist morfolojisini dikkate almamaktadır. Blastokist kalitesi hesaba katıldığında blastokistlerde canlı doğumla ilişkili tek kompaksiyon öncesi değişken, 3. gündeki hücre sayısıdır; yavaş bölünen embriyolar (<7 hücre) blastokist evresinde transfer edildiklerinde daha düşük implantasyon oranlarına sahiptir (Wu ve ark., 2020; Zhao ve ark., 2020). Bununla birlikte bu bulgunun yararı belirsizdir; çünkü yalnızca gün/evre/derecesi benzer iki blastokist arasında seçim yapılırken uygulanabilir.

Uzlaşı noktaları

- Sonuç olarak blastokist derecelendirmesinin amacı, blastokistlerin kullanım önceliğini belirlemektir.
- Blastokist skorlamasında Gardner derecelendirme sistemi kullanılmalıdır (Tablo 9; Ek Veri SIV, Şekil 1). Bu sistem, ICM/TE dereceleri için harflerin kullanılması ve ek ekspansiyon evrelerinin (ör. hatching'i tamamlamış blastokist) eklenmesiyle önceki Konsensüs derecelendirmesinden ayrılmaktadır.
- Canlılık göstermeyen blastokistler, dejeneratif özellikler ya da belirgin bir ICM'nin yokluğu temelinde "C" yerine "D" olarak derecelendirilmelidir.
- İmplantasyon potansiyeliyle açıkça ilişkili ortak özellikler arasında şunlar yer alır: blastokist oluşumunun günü (4.–7. günler), ekspansiyon evresi (3, 4, 5, 6) ve ICM (A, B, C) ile TE (A, B, C) derecesi.
- ICM'si ve/veya TE'si C derecesinde olan blastokistler ile 7. gün blastokistleri canlı olabilir ve klinik kullanım için uygun kabul edilebilir.
- Monozigotik ikizlenme potansiyeline işaret eden iki ICM'li blastokistler, kapsamlı hasta danışmanlığı yapılmaksızın transfer edilmemelidir.
- Her değişkenin göreli öneminin belirlenmesi, geniş bir veri setiyle sistematik çok değişkenli analiz gerektirir; taze ve dondurulmuş, test edilmemiş ve öploid blastokistlerin değerlendirilmesinde bu durum daha da karmaşıklaşır.

7. Embriyo kültürünün süresi ve değerlendirme sıklığı: güvenlik ve etkinlik arasındaki denge

İstanbul Konsensüsü (2011), oosit ve embriyo değerlendirmesi için geniş bir morfolojik parametre yelpazesi sunmaktadır. TLT donanımlı inkübatörler kullanan laboratuvarlarda sürekli kültür, kültür koşullarını bozmaksızın embriyo değerlendirmesinin sıklığı ve ayrıntı düzeyinde esneklik sağlar. Buna karşılık statik gözlem yapan laboratuvarlarda embriyo değerlendirme sıklığı; kullanılan inkübatör tipi (masaüstü ya da büyük hacimli), kültür medyumu tipi (tek adımlı ya da ardışık), embriyo işlemlerinde kapalı çalışma kabini kullanımı ve embriyo kültürünün süresi (klivaj ya da blastokist evresi) gibi etkenler göz önünde bulundurularak belirlenmelidir. Amaç, gelişmekte olan embriyolara ilişkin istenen bilginin elde edilmesi ile kültür koşullarının en az düzeyde bozulması arasında en uygun dengeyi kurmaktır (Swain, 2014; Wale ve Gardner, 2016; ESHRE Working group on Time-lapse technology ve ark., 2020).

Anketimizin gösterdiği gibi, bazı ART merkezleri hâlâ klivaj ve blastokist evresi embriyo transferlerini birlikte uygulamaktadır (Ek Veri SII, Şekil 4). Embriyo kültürünün süresi, embriyo morfolojisi değerlendirmesi ve embriyo transfer politikası—taze ya da dondurulmuş embriyolar için—öncelikli olarak fertilite tedavisinin hedefine en hızlı, en güvenli ve ekonomik açıdan en sürdürülebilir yoldan ulaşmayı amaçlamalıdır. Bu nedenle değerlendirme yöntemlerinin seçimi, ayrıntı düzeyi ile *in vitro* koşullarda embriyo gelişiminin izlenme süresi ve sıklığı, mevcut laboratuvar donanımına göre uyarlanmalıdır.

Klivaj evresi ve blastokist transferine ilişkin güncel uygulamalar

Anketimiz, ART merkezlerinde embriyo transferi için yaygın olarak blastokist evresinin kullanıldığını göstermiştir. ART merkezlerinin %2'sinden azı hiç blastokist transferi yapmazken, %17,4'ü blastokist transferini neredeyse tümüyle (siklusların >%95'inde) uygulamaktadır (Ek Veri SII, Şekil 4A).

İlginç biçimde, ART merkezlerinin sırasıyla %44 ve %8'inde 2. ve 3. gün embriyo transferi hiç uygulanmamaktadır. Öte yandan ART merkezlerinin ancak %2–3'ü yalnızca klivaj evresi embriyo transferi yapmakta; %2,2'si 3. günde, %0,7'si 2. günde transfer gerçekleştirmektedir (Ek Veri SII, Şekil 4A).

Ayrıca blastokist kriyoprezervasyonu, klivaj evresi embriyolarının kriyoprezervasyonundan daha yaygın uygulanmaktadır. Katılımcıların %50'sinden fazlası embriyoların yalnızca blastokist evresinde kriyoprezerve edildiğini bildirmiş; kalan olgularda çoğunlukla 3. gün ile 5./6. gün embriyolarının kriyoprezervasyonu bir arada uygulanmaktadır (Ek Veri SII, Şekil 4B). ART merkezlerinin yaklaşık %75'i 2. ve 4. gün embriyolarını hiçbir zaman kriyoprezerve etmemektedir (Ek Veri SII, Şekil 4B). Dondurulmuş transferlerde blastokist oranının (%73,9) klivaj evresine (%26,1) göre daha yüksek

Tablo 9. Blastokistler için konsensüs skorlama sistemi.

	Evre	Tanım
Ekspansiyon evresi	**1**	Erken blastokist: blastosöl, embriyo hacminin yarısından azdır.
	2	Blastokist: blastosöl, embriyo hacminin yarısı ya da yarısından fazladır.
	3	Tam blastokist: blastosöl embriyoyu tümüyle doldurur.
	4	Genişlemiş blastokist: blastosöl erken embriyodakinden daha büyüktür ve zona belirgin biçimde incelmiştir.
	5	Hatching blastokist: trofektoderm zonadan dışarı çıkmaya başlamıştır.
	6	Hatching'i tamamlamış blastokist: blastokist zonadan tümüyle ayrılmıştır.
	Derece	**Tanım**
ICM	**A**	Belirgin, kolayca ayırt edilebilir; kompaktlaşmış ve birbirine sıkıca yapışmış çok sayıda hücre içerir.
	B	Kolayca ayırt edilebilir; gevşek biçimde bir araya gelmiş birkaç hücre içerir.
	C	Çok az sayıda hücre görünür.
	D	Görünür hücre yok ya da dejenere olan hücreler mevcut.
TE	**A**	Bütünlüklü bir epitel oluşturan çok sayıda hücre.
	B	Gevşek bir epitel oluşturan orta sayıda hücre.
	C	Az sayıda ve daha büyük, epitel oluşumu zayıf hücreler.
	D	ICM'yi çevreleyen seyrek ya da dejenere hücreler.

olduğu benzer bir eğilim, 2018 yılına ait ESHRE raporunda da görülmektedir (Wyns ve ark., 2022).

Katılımcıların %36,3'üne göre 4. gün embriyolarının transferi, transfer sikluslarının <%25'inde gerçekleşmiş; katılımcıların yalnızca %19,9'u 4. gün embriyolarını transfer sikluslarının <%25'inde kriyoprezerve ettiklerini bildirmiştir (Ek Veri SII, Şekil 4). 4. gün embriyolarının kullanım nedeninin blastokistin daha erken gelişmesi mi, yoksa hasta ya da merkezin uygunluğu açısından transfer veya kriyoprezervasyon gününün daha erken planlanması mı olduğu açık değildir.

Uzatılmış embriyo kültürünün artan kullanımının nedenleri

Blastokist transferinin artan kullanımına çeşitli etkenler katkıda bulunmuştur. Çok sayıda çalışmadan elde edilen tutarlı kanıtlar, taze blastokist transferiyle transfer başına daha yüksek gebelik ve canlı doğum oranları elde edildiğini; bu gözlemin iyi prognozlu hastalarda daha belirgin olduğunu göstermektedir (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2018). Bununla birlikte, 100 000'den fazla IVF/ICSI siklusunun retrospektif analizi, endikasyon yanlılığı düzeltildikten sonra, ilk tam siklusta blastokist ile klivaj evresi embriyo transferi arasında canlı doğum olasılığı açısından farklılık olduğunu düşündürecek yeterli kanıt bulunmadığını göstermiştir (Cameron ve ark., 2020); ancak dâhil edilen siklusların çoğu, blastokist sonuçlarını olumsuz etkilediği bilinen atmosferik oksijende kültür sonrasında gerçekleştirilmiştir (Gardner, 2016). Kümülatif canlı doğum oranı benzer görünmekle birlikte, blastokist transferi gebeliğe ve doğuma kadar geçen sürenin kısalması ve daha düşük kümülatif gebelik kaybı oranlarıyla; ancak aynı zamanda klivaj evresi transferine kıyasla daha yüksek transfer iptal oranlarıyla ilişkilidir (De Vos ve ark., 2016; Cornelisse ve ark., 2024).

Çoğul doğum oranlarını azaltmak amacıyla elektif tek embriyo transferine yönelik ulusal stratejilerin uygulanması, uzatılmış embriyo kültürünün kullanımını artırmıştır (ESHRE Campus Course Report, 2001; Practice Committee of Society for Assisted Reproductive Technology; Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine, 2012; Knez ve ark., 2013; Harbottle ve ark., 2015; De Geyter ve ark., 2020; Fouks ve Yogev, 2022; ESHRE guideline group on the number of embryos to transfer, 2024).

PGT için TE biyopsisinin geliştirilmesi de blastokist kültürünün artan kullanımına katkıda bulunmuştur (ESHRE PGT Consortium and SIG-Embryology Biopsy Working Group, 2020). Klivaj evresi biyopsisinin, özellikle iki blastomer alındığında, embriyonun gelişimsel yetkinliği üzerinde olumsuz etkisi olduğu gösterilmiştir (Scott ve ark., 2013). Blastokist biyopsisinin 3. gün embriyo biyopsisine kıyasla daha güvenli olduğu görülmektedir; nitekim bazı çalışmalar az sayıda TE hücresinin alınmasının embriyo implantasyonunu ya da fetal gelişimi etkilemediğini düşündürmektedir (Van de Velde ve ark., 2000; Scott ve ark., 2013; Tiegs ve ark., 2021; Cimadomo ve ark., 2023).

Anketimize yanıt veren ART merkezlerinin %50'sinden fazlasında bildirilen, IVF laboratuvarlarında TLT kullanımının artması da (Ek Veri SII, Şekil 6A), hastalara embriyo gelişiminin blastokist evresine kadar sürekli ve ayrıntılı izlenmesinin giderek daha fazla sunulduğu anlamına gelmektedir.

Çevresel etkenlerin embriyonik epigenetik üzerindeki olası uzamış etkisi nedeniyle uzatılmış embriyo kültürüne ilişkin başlangıçtaki kaygılar azalmış görünmektedir (White ve ark., 2015; Ghosh ve ark., 2017; Ji ve ark., 2018); ancak ART sonrası doğan çocukların izlem çalışmaları, kültür medyumu, kültür süresi ve diğer laboratuvar etkenlerinin bebek sağlığı üzerindeki olası etkisinin dışlanamadığını düşündürmektedir (Berntsen ve ark., 2019). Bazı çalışmalar, blastokist transferi sonrasında klivaj evresi transferine kıyasla anlamlı biçimde daha yüksek preterm doğum oranı bildirirken (Martins ve ark., 2016; Wang ve ark., 2017; Alviggi ve ark., 2018; Castillo ve ark., 2020; Cornelisse ve ark., 2024), diğerleri benzer oranlar bildirmiştir (Marconi ve ark., 2023). Ayrıca blastokist transferi, klivaj evresi transferine kıyasla gebelik yaşına göre küçük bebek doğurma riskinin benzer ya da daha düşük olmasıyla (Martins ve ark., 2016; Raja ve ark., 2023) ve konjenital anomali oranlarının benzer (Siristatidis ve ark., 2023) ya da daha düşük (Raja ve ark., 2023) olmasıyla ilişkili görünmektedir.

Yanıtlanmayı bekleyen bir soru, düşük zigot sayısına sahip kötü yanıtlı hastalarda embriyo transferinin 2., 3. ya da 5./6. günde mi yapılması gerektiğidir. Retrospektif bir çalışma, bu hasta grubunda embriyoların 2. ya da 3. günde transfer edilmesinin erken gebelik sonuçlarını etkilemediğini göstermiş ve transfer gününün hem hastanın hem de merkezin uygunluğuna göre esnek planlanabileceğini önermiştir (Sacha ve ark., 2018). Başka bir çalışmaya göre, 5 ya da daha az zigotu olan hastalarda taze 3. gün ya da 5. gün embriyo transferi sonrasında klinik gebelik oranları arasında fark yoktur (Dirican ve ark., 2022). Bununla birlikte, altı ya da daha fazla zigotu olanlar daha iyi seçim olanakları nedeniyle blastokist transferinden yararlanabilir. Yukarıdaki soruya kesin bir yanıt verebilmek için anne yaşını da dikkate alan, canlı doğum oranlarına odaklanan daha geniş prospektif çalışmalara gereksinim vardır.

Uzatılmış embriyo kültürüne ilişkin teknik hususlar

Uzatılmış embriyo kültürünün başarısı; azaltılmış oksijen konsantrasyonu, en uygun pH, sıcaklık ve ozmolalite gibi kritik parametrelere bağlıdır (Gardner ve Lane, 1997). Blastokist kültürü; laboratuvarda lojistik ve iş akışının yanı sıra inkübatör tipi ve

Tablo 10. Önerilerin listesi.

	ÖNERİLER
OOSİT DEĞERLENDİRMESİ	Dev oositler klinik kullanım dışında bırakılmalıdır. Küçük/büyük oositlerin ve IVM ile kurtarılmış oositlerin kullanımı, görünüşte daha düşük gelişim potansiyelleri nedeniyle prognostik amaçla ve izlenebilirlik açısından kayıt altına alınmalıdır. Son olarak, büyük ya da çok sayıda vakuol, sER-a ve çok büyük birinci PB görülmeyen MII oositlerinden elde edilen embriyolar klinik kullanımda önceliklendirilmelidir. Atipik fenotipe sahip oositlerin veya rescue-IVM oositlerinin kullanıldığı olgularda, gebeliklerin prenatal izlemine ve doğan bebeklerin takibine özen gösterilmelidir.
ZİGOT DURUMU DEĞERLENDİRMESİ	PN sayısı değerlendirmesi, hem konvansiyonel IVF hem de ICSI olgularında 16–17 hpi arasında yapılmalıdır. 2PN zigotları klinik kullanımda önceliklendirilmelidir. IVF ya da ICSI kaynaklı 2.1PN ve 1PN zigotları, özellikle biparental diploidi değerlendirmesine uygun PGT-A teknolojisiyle birlikte olmak üzere, uygun danışmanlık verilerek klinik kullanım için değerlendirilebilir. 3PN zigotlarının klinik kullanımı önerilmemektedir; ancak preklinik ya da pilot klinik çalışmalar teşvik edilmelidir. PN büyüklüğü, PN konumu ve yan yana gelmesi, NPB örüntüsü ve sitoplazmik halo gibi dinamik özellikler statik gözlemlerde doğru biçimde değerlendirilemez. Dolayısıyla bunlar canlılık biyobelirteçleri olarak tutarlı biçimde kullanılamaz.
1., 2. VE 3. GÜN EMBRİYO DEĞERLENDİRMESİ	1. günde 2 hücreli, 2. günde 4 hücreli, 3. günde 8 hücreli olup <%10 fragmantasyon, mononükleasyon ve evreye özgü hücre büyüklüğü gösteren embriyolar, klivaj evresi embriyo transferi ya da kriyoprezervasyonu durumunda önceliklendirilmelidir. Aşırı fragmantasyon, multinükleasyon, vakuoller, sitoplazmik granülarite, membran ve zona düzensizlikleri gibi atipik özellikler gösteren klivaj evresi embriyoları klinik kullanım için uygun kabul edilebilir. Bununla birlikte, bu embriyoların daha ileri değerlendirme amacıyla uzatılmış kültürü göz önünde bulundurulmalıdır.
4. GÜN EMBRİYO DEĞERLENDİRMESİ	4. gün transferi ya da vitrifikasyonu söz konusu olduğunda, tam kompaksiyon ya da erken kavitasyon gösteren 4. gün embriyoları önceliklendirilmelidir. Kısmi kompaksiyon gösteren embriyolar blastokist oluşturabilir ve klinik kullanım için değerlendirilmelidir. Bu embriyoların daha ileri değerlendirme amacıyla uzatılmış kültürü göz önünde bulundurulmalıdır.
5., 6. VE 7. GÜN EMBRİYO DEĞERLENDİRMESİ	Blastokist skorlamasında Gardner derecelendirme sistemi (Tablo 8) kullanılmalıdır. Bu sistem, ICM/TE dereceleri için harflerin kullanılması ve ek ekspansiyon evrelerinin (ör. hatching'i tamamlamış blastokist) eklenmesiyle önceki Konsensüs derecelendirmesinden ayrılmaktadır. Canlılık göstermeyen blastokistler, dejeneratif özellikler ya da belirgin bir ICM'nin yokluğu temelinde "C" yerine "D" olarak derecelendirilmelidir. İmplantasyon potansiyeliyle açıkça ilişkili ortak özellikler arasında şunlar yer alır: blastokist oluşumunun günü (4.–7. günler), ekspansiyon evresi (3, 4, 5, 6) ve ICM (A, B, C) ile TE (A, B, C) derecesi. ICM'si ve/veya TE'si C derecesinde olan blastokistler ile 7. gün blastokistleri canlı olabilir ve klinik kullanım için uygun kabul edilebilir. Monozigotik ikizlenme potansiyeline işaret eden 2 ICM'li blastokistler, kapsamlı hasta danışmanlığı yapılmaksızın transfer edilmemelidir. Her değişkenin göreli öneminin belirlenmesi, geniş bir veri setiyle sistematik çok değişkenli analiz gerektirir; taze ve dondurulmuş, test edilmemiş ve öploid blastokistlerin değerlendirilmesinde bu durum daha da karmaşıklaşır.
EMBRİYO KÜLTÜRÜNÜN SÜRESİ VE DEĞERLENDİRME SIKLIĞI	Uzatılmış embriyo kültürü kabul görmüş ve standart bir uygulamadır. Embriyo kültürünün süresi ve statik embriyo gözlemlerinin sıklığı, embriyo gelişimini etkileyebilecek kültür koşulu değişikliklerinin en aza indirilmesi sağlanarak, laboratuvardaki donanıma ve personelin becerisine göre ayarlanmalıdır.

kapasitesi, embriyo değerlendirme sıklığı ve—uygulanıyorsa—morfokinetik işaretleme ile kültür medyumu yenilenmesi gibi teknik gereksinimleri de etkiler. Başarı ayrıca stabil kültür koşullarına ve etkin bir blastokist vitrifikasyon programına bağlıdır (Swain, 2019; Cairo Consensus Group, 2020). Bu nedenle ART merkezinin blastokist kültürü için uygun koşulları sağlama kapasitesi kanıtlanmalıdır. Blastokist kültürü yaklaşımı önce iyi yanıtlı hastalarla başlatılmalı; uygun blastokist gelişim oranı ve klinik sonuçlar elde edildikten sonra uygulama, diğer IVF hasta gruplarını da kapsayacak biçimde kademeli olarak yaygınlaştırılabilir (Gardner ve Lane, 2018; De Croo ve ark., 2020). Blastokist vitrifikasyon programının başarısı, IVF laboratuvarınca temel performans göstergeleri izlenerek kendi içinde doğrulanmalıdır. Blastokistlerin kriyoprezervasyon sonrası sağkalımı için referans oranların yetkinlik açısından ≥%90, kıyaslama (benchmark) açısından ≥%99 olması beklenir (ESHRE Special Interest Group of Embryology and Alpha Scientists in Reproductive Medicine, 2017). Blastokist vitrifikasyonunda deneyimin artması nedeniyle, ısıtma sırasında dejenerasyon oranı önceki bir kriyoprezervasyon konsensüsünde tahmin edilenden artık daha düşüktür (Alpha Scientists In Reproductive Medicine, 2012).

Ayrı bölmelere sahip modern masaüstü inkübatörler daha güvenli bir inkübatör tasarımı sunmakta ve kapı açılışları sonrasında tüm fizikokimyasal parametrelerin, daha eski "büyük hacimli" inkübatörlere kıyasla hedef değerlere daha kısa sürede dönmesini sağlamaktadır (Kovačič, 2021). Bununla birlikte, embriyoların uzamış ve sürekli kültürü söz konusu olduğunda, zaman içinde ozmolalite ve pH'daki olası değişiklikler de izlenmelidir (Swain, 2019); bu sırada kap tipi, kültür damlası büyüklüğü ve yağ örtüsü de dikkate alınmalıdır.

TLT bütünleşik inkübatörler, preimplantasyon dönemi boyunca kesintisiz inkübasyonla gelişmekte olan embriyoların morfokinetiğinin sürekli gözlenmesine olanak tanır (Meseguer ve ark., 2012). Merkezlere teknik yol göstermek amacıyla, IVF'te TLT'nin nasıl ele alınacağı ve uygulanacağına ilişkin sistematik bir değerlendirme içeren bir iyi uygulama önerileri makalesi yayımlanmıştır (ESHRE Working group on Time-lapse technology ve ark., 2020).

Atmosferik oksijen konsantrasyonunun embriyonik gelişim üzerindeki olumsuz etkisine ilişkin çok güçlü kanıtlar nedeniyle (Gardner, 2016), azaltılmış oksijen kullanımı—özellikle embriyoların blastokist evresine kadar uzatılmış inkübasyonunda—artık standart uygulama kabul edilmektedir (Kovačič, 2012; De los Santos ve ark., 2016).

Embriyo değerlendirme sıklığı: gerekçe

Blastomer klivajlarının doğru değerlendirilmesi önemli olmakla birlikte, sınırlı sayıda inkübatörü olan laboratuvarlar bazı kısıtlılıkları

dikkatle göz önünde bulundurmalı ve embriyo kültür koşullarının güvenliği ile kalitesini önceliklendirmelidir. İnkübatörlerin daha sık açılması embriyonik gelişim üzerinde olumsuz etki yaratabilir (Gardner ve Lane, 1996; Zhang ve ark., 2010; Nguyen ve ark., 2018). Bu tür durumlarda, gelişimlerine ilişkin ara kontrol yapılmaksızın ya da az sayıda ara kontrolle, morfolojinin yalnızca kültür süresinin sonunda değerlendirilmesi düşünülebilir.

Çok sayıda zigot bulunan IVF sikluslarında kısa süreli embriyo kültürü uygulanmasına karar verilirse, embriyo morfolojisinin daha ayrıntılı ve sık değerlendirilmesi, bu makalede verilen sıralama şemasıyla embriyo seçimini iyileştirebilir.

Uzlaşı noktaları

- Uzatılmış embriyo kültürü kabul görmüş ve standart bir uygulamadır.
- Embriyo kültürünün süresi ve statik embriyo gözlemlerinin sıklığı, embriyo gelişimini etkileyebilecek kültür koşulu değişikliklerinin en aza indirilmesi sağlanarak, laboratuvardaki donanıma ve personelin becerisine göre ayarlanmalıdır.

Sonuç

Bu konsensüs belgesi; son on yılda birikmiş kanıtların kapsamlı biçimde gözden geçirilmesine dayanarak oosit, zigot, klivaj evresi embriyosu, morula ve blastokist gelişiminin değerlendirilmesine ilişkin ölçütler ve terminoloji konusunda güncellenmiş öneriler sunmaktadır. TLT'nin uygulanmasından elde edilen kritik bilgiler; gelişim dönüm noktalarının zamanlamalarının gözden geçirilmesine, inseminasyon yöntemlerinin erken embriyogenez üzerindeki etkisinin daha fazla dikkate alınmasına ve time-lapse görüntülemeyle saptanan daha geniş bir atipik morfoloji yelpazesinin ortaya konmasına zemin hazırlamıştır. Derlenen öneriler (Tablo 10); canlılığı daha iyi öngörmek, embriyo sıralamasını ve klinik kullanım için seçimini en iyi hâle getirmek amacıyla standart embriyo değerlendirme uygulamalarını yaygınlaştırmayı hedeflemektedir. Son on yıldaki ilerlemeye karşın, belirli morfolojik ve morfokinetik parametrelerin klinik değerine ilişkin, daha fazla araştırma ve inceleme gerektiren çeşitli bilgi boşlukları sürmektedir (Tablo 11). Kuşkusuz önümüzdeki on yıl, ART laboratuvarında AI'ın daha kapsamlı biçimde benimsenmesini getirecek ve gelişim potansiyeli yüksek gamet ve embriyoların seçilmesindeki süregelen güçlüklere çözümler sunacaktır.

Son olarak, bu konsensüs belgesinde olduğu gibi, kurumlar ve coğrafi bölgeler arasında uzmanlık ve deneyimi bir araya getiren uluslararası iş birliği çabaları; araştırma tutarlılığının, klinik uygulamanın ve en önemlisi yardımcı üreme tedavisi arayan hastalara ait sonuçların iyileştirilmesine katkıda bulunabilir.

Ek veriler

Ek verilere *Human Reproduction* çevrimiçi sürümünden ulaşılabilir.

Veri erişilebilirliği

Bu makale, mevcut araştırma kayıtlarının bir literatür derlemesini içermekte olup, bu metni desteklemek üzere yeni veri üretilmemiş ya da çözümlenmemiştir.

Teşekkür

Yazarlar; embriyonun farklı gelişim evrelerine ait, bu makalenin Tablo 1'inde yer alan gözlem zamanlamalarının istatistiksel analizindeki yardımları için Katie Best'e (Phastar, Londra) ve oosit değerlendirmesine ilişkin literatür taramasındaki yardımları için Alessandro Bartolacci'ye (IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Milano) ve Marilena Taggi'ye (IVI-RMA Global Research Alliance, Roma) teşekkür eder. Ayrıca ankete yanıt veren tüm ALPHA ve ESHRE üyelerine ve paydaş değerlendirmesine katkıda bulunanlara teşekkür ederler.

Yazarların katkısı

Bu belge, ESHRE ve ALPHA'nın ortak çalışmasının ürünüdür. M.A. ve G.C. çalışma grubuna eş başkanlık etmiş; makalenin yazımına ve eleştirel değerlendirilmesine eşit katkıda bulunmuştur. Alfabetik sırayla listelenen G.A., A.C., T.E., D.K.G., B.K., K.L., D.M., L.R. ve I.S., çalışma grubu üyeleri olarak makalenin yazımına ve eleştirel değerlendirilmesine eşit katkıda bulunmuştur. A.A., B.B., M.J.D.S. ve C.M. konsensüs toplantısına davetli uzmanlar olarak katılmış; makalenin gözden geçirilmesine ve eleştirel değerlendirilmesine eşit katkıda bulunmuştur. S.M. ve N.V., metodoloji uzmanları olarak anket için veri toplama ve analizi ile literatür taramalarını gerçekleştirmiş, metodolojik destek sağlamış ve bu metnin geliştirilmesini koordine etmiştir.

Finansman

Konsensüs toplantısı ve makalenin yazımı, ESHRE ve ALPHA tarafından sağlanan fonlarla desteklenmiştir.

Çıkar çatışması

G.C., Gedeon Richter ve Cooper Surgical'dan konuşmacı ücretleri veya honorarium ödemeleri beyan etmiştir. A.C.; ders kitabı telif geliri (Mastering Clinical Embryology, yayımlanma yılı 2024), Cooper Surgical, Gedeon Richter ve TMRW Life Sciences'tan danışmanlık ücretleri, Merck, Ferring ve Gedeon Richter'den konuşmacı honorarium ödemeleri ve HFEA Bilimsel Gelişmeler Komitesi'ne katılım beyan etmiştir; ayrıca Alpha Scientists in Reproductive Medicine'ın saymanı ve başkan yardımcısı olduğunu, Care Fertility Limited ve Fertile Mind Limited'de hissedar olduğunu, TMRW Life Sciences ve U-Ploid Biotechnology Ltd'de hisse opsiyonları bulunduğunu açıklamıştır. L.R.; Organon'dan danışmanlık ücretleri, Merck, Organon, IBSA, Finox, Gedeon Richter, Origio, Organon, Ferring ve Fundación IVI'den konuşmacı ücretleri veya honorarium ödemeleri beyan etmiştir; ayrıca IVIRMA Bilimsel Danışma Kurulu üyesi (ücretli) ve Nterilizer Bilimsel Danışma Kurulu üyesi (ücretsiz) olduğunu açıklamıştır. I.S.; Vitrolife ve Cooper Surgical'dan konuşmacı ücretleri veya honorarium ödemeleri ile Alife Health'ten hisse opsiyonları beyan etmiştir. M.A.; Vitrolife'tan konuşmacı ücretleri veya honorarium ödemeleri ile Vitrolife ve Cooper Surgical'dan toplantı katılım desteği beyan etmiştir (her ikisi de bu makaleyle ilgili değildir). Diğer yazarların beyan edeceği çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Tablo 11. Bilgi boşlukları ve gelecekteki araştırmalara yönelik önerilerin listesi.

	Bilgi boşluğu	*Gelecekteki araştırmalara yönelik öneriler*
Beklenen zaman çizelgesi	Yapay zekâ temelli analizlerin ve seçim algoritmalarının nasıl gelişeceği, veri heterojenliğiyle nasıl başa çıkacağı ya da başa çıkıp çıkamayacağı bilinmemektedir.	Bir kohortta gelişim potansiyeli en yüksek embriyo(lar)ın belirlenmesine ve her embriyonun canlı doğuma yol açma olasılığının tahmin edilmesine olanak tanıyan daha gelişmiş analitik araçlar geliştirilmelidir.
Oosit değerlendirmesi	Bugüne kadarki kanıt bütünü neredeyse tümüyle niteliksel (varlık/yokluk) analizlere dayanmakta ve her bir dismorfizmin nesnel biçimde tanımlanmasına olanak vermemektedir. Farklı ovaryan stimülasyon protokollerinin/yanıtlarının oosit parametreleri üzerindeki etkisi tam olarak değerlendirilmemiştir.	Gelecekte oosit morfolojisi üzerine standartlaştırılmış ve nicel analizler yapılmalı; böylece önemli bilgi boşlukları doldurulmalıdır. Oosit değerlendirmesinde yapay zekâ kullanan ileri çalışmalar yararlı olabilir.
Zigot evresi değerlendirmesi	TLT; PN büyüklüğü ve konumu, NPB örüntüsü ve sitoplazmik halo gibi ilgili morfokinetik parametrelerin çoğunda zaman içindeki karmaşık değişiklikleri ortaya koymuştur. Bu parametrelerin embriyo gelişim yetkinliğini öngörmede kullanımı hâlâ belirsizdir; bunun nedeni büyük olasılıkla fertilizasyonda ortaya çıkan morfokinetik anormalliklerin insan embriyosunun olağanüstü gelişimsel esnekliğiyle telafi edilebilmesidir.	NPB örüntüsü gibi fertilizasyon biyobelirteçlerinin gelişimsel önemini aydınlatmak için TLT ve ilgili teknolojilerin, yani görüntü analizi ile yapay zekânın kullanılması. Bunun embriyo sıralamasına ve belki de blastokist anöploidisinin öngörülmesine yönelik yeni ölçütlere yol açması beklenmektedir. Haploid/triploid 1PN ve 3PN zigotlarını diploid olanlardan ayırt etmek ve böylece aksi hâlde atılacak, canlı olma potansiyeli taşıyan embriyoları belirlemek için TLT ve PGT-A kullanılması.
1., 2. ve 3. gün embriyo değerlendirmesi	Klivaj evresi embriyo değerlendirmesi için en uygun zamanlamanın ne olabileceğine ilişkin bilgi hâlâ eksiktir. Multinükleasyonun önemi, çekirdek sayısı, etkilenen hücre sayısı ve bu durumun ortaya çıktığı gelişim evresine ilişkin sorular büyük ölçüde yanıtsızdır. Embriyoların klinik kullanım için seçimden çıkarılma ölçütlerine ilişkin kritik bir bilgi boşluğu bulunmaktadır.	TLT kullanan ileri çalışmaların; değerlendirme zamanı, morfolojik özellikler ve klinik sonuçlar arasındaki ilişkiye dair daha derin bir anlayış sağlaması beklenmektedir.
4. gün embriyo değerlendirmesi	Kültür medyumunun tipi ve bileşiminin (ör. Ca^{2+}, Mg^{2+}) kompaksiyon zamanlamasını ve fenotiplerini etkileyip etkilemediği ve ne ölçüde etkilediği hâlihazırda bilinmemektedir. 2–4 hücreli evreler kadar erken görülen prematüre kompaksiyon davranışına ilişkin çok az bilgi bulunmaktadır.	Kompaksiyon zamanlamasını ve blastomer dışlanması/atılması süreçlerini açıklayabilecek altta yatan hücresel mekanizmalar araştırılmalıdır.
5., 6. ve 7. gün embriyo değerlendirmesi	Blastokistlerin morfoloji ve gelişim zamanına dayalı olarak kliniğe özgü sıralanmasının oluşturulmasına ve kabul görmüş algoritmaların kullanımdan önce kurum içinde doğrulanmasına ilişkin yerleşik bir en iyi uygulama yaklaşımı bulunmamaktadır.	Blastokist skorlaması ve sıralamasının doğruluğunu artırmak için blastokist kalitesinin nesnel ölçütleri geliştirilmelidir; ancak ilk raporlar bu yöntemlerin hiçbiriyle iyileşme göstermemiştir. Non-invaziv blastokist değerlendirmesini iyileştirmek için morfoloji ve parlak alan mikroskopisinin ötesinde canlılık belirteçleri belirlenmelidir.
Embriyo kültürünün süresi ve değerlendirme sıklığı	Uzatılmış embriyo kültürünün ayrım yapılmaksızın tüm hastalarda kullanılmasının etkinliğine ilişkin kanıt bulunmamaktadır.	Uzamış kültür sırasında embriyoların daha sık gözlenmesinin embriyo seçimini ya da işlemin klinik etkinliğini iyileştirip iyileştirmediği değerlendirilmelidir.

Kaynaklar

Abdala A, Elkhatib I, Bayram A, Arnanz A, El-Damen A, Melado L, Lawrenz B, Fatemi HM, De Munck N. Day 5 vs day 6 single euploid blastocyst frozen embryo transfers: which variables do have an impact on the clinical pregnancy rates? *J Assist Reprod Genet* 2022; **39**:379–388.

Abdala A, Elkhatib I, Bayram A, El-Damen A, Melado L, Nogueira D, Lawrenz B, Fatemi HM. Reproductive outcomes with delayed blastocyst development: the clinical value of day 7 euploid blastocysts in frozen embryo transfer cycles. *Zygote* 2023;**31**:588–595.

Aguilar J, Motato Y, Escribá MJ, Ojeda M, Muñoz E, Meseguer M. The human first cell cycle: impact on implantation. *Reprod Biomed Online* 2014;**28**:475–484.

Aguilar J, Rubio I, Muñoz E, Pellicer A, Meseguer M. Study of nucleation status in the second cell cycle of human embryo and its impact on implantation rate. *Fertil Steril* 2016;**106**:291–299.e2.

Ahlström A, Berntsen J, Johansen M, Bergh C, Cimadomo D, Hardarson T, Lundin K. Correlations between a deep learning-based algorithm for embryo evaluation with cleavage-stage cell numbers and fragmentation. *Reprod Biomed Online* 2023;**47**:103408.

Ahlström A, Lundin K, Lind AK, Gunnarsson K, Westlander G, Park H, Thurin-Kjellberg A, Thorsteinsdottir SA, Einarsson S, Åström M et al A double-blind randomized controlled trial investigating a time-lapse algorithm for selecting Day 5 blastocysts for transfer. *Hum Reprod* 2022;**37**:708–717.

Ahlström A, Park H, Bergh C, Selleskog U, Lundin K. Conventional morphology performs better than morphokinetics for prediction of live birth after day 2 transfer. *Reprod Biomed Online* 2016;**33**:61–70.

Ahlström A, Westin C, Reismer E, Wikland M, Hardarson T. Trophectoderm morphology: an important parameter for predicting live birth after single blastocyst transfer. *Hum Reprod* 2011;**26**:3289–3296.

Ahlström A, Westin C, Wikland M, Hardarson T. Prediction of live birth in frozen-thawed single blastocyst transfer cycles by pre-freeze and post-thaw morphology. *Hum Reprod* 2013;**28**:1199–1209.

Akarsu C, Çağlar G, Vicdan K, Sözen E, Biberoğlu K. Smooth endoplasmic reticulum aggregations in all retrieved oocytes causing recurrent multiple anomalies: case report. *Fertil Steril* 2009;**92**:1496.e1–1496.e3.

Alikani M. Monozygotic twinning following assisted conception: an analysis of 81 consecutive cases. *Hum Reprod* 2003;**18**:1937–1943.

Alikani M. Epithelial cadherin distribution in abnormal human pre-implantation embryos. *Hum Reprod* 2005;**20**:3369–3375.

Alikani M, Calderon G, Tomkin G, Garrisi J, Kokot M, Cohen J. Cleavage anomalies in early human embryos and survival after prolonged culture in-vitro. *Hum Reprod* 2000;**15**:2634–2643.

Alikani M, Cohen J, Tomkin G, Garrisi GJ, Mack C, Scott RT. Human embryo fragmentation in vitro and its implications for pregnancy and implantation. *Fertil Steril* 1999;**71**:836–842.

Alikani M, Palermo G, Adler A, Bertoli M, Blake M, Cohen J. Intracytoplasmic sperm injection in dysmorphic human oocytes. *Zygote* 1995;**3**:283–288.

Almeida PA, Bolton VN. The relationship between chromosomal abnormality in the human preimplantation embryo and development in vitro. *Reprod Fertil Dev* 1996;**8**:235–241.

Alpha Scientists In Reproductive Medicine. The Alpha consensus meeting on cryopreservation key performance indicators and benchmarks: proceedings of an expert meeting. *Reproductive Biomedicine Online* 2012;**25**:146–167.

Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group Embryology. Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Reprod Biomed Online* 2011;**22**:632–646.

Alviggi C, Conforti A, Carbone IF, Borrelli R, de Placido G, Guerriero S. Influence of cryopreservation on perinatal outcome after blastocyst- vs cleavage-stage embryo transfer: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2018;**51**:54–63.

Anagnostopoulou C, Maldonado Rosas I, Singh N, Gugnani N, Chockalingham A, Singh K, Desai D, Darbandi M, Manoharan M, Darbandi S et al Oocyte quality and embryo selection strategies: a review for the embryologists, by the embryologists. *Panminerva Med* 2022;**64**:171–184.

Antczak M, Van Blerkom J. Temporal and spatial aspects of fragmentation in early human embryos: possible effects on developmental competence and association with the differential elimination of regulatory proteins from polarized domains. *Hum Reprod* 1999; **14**:429–447.

Araki E, Itoi F, Honnma H, Asano Y, Oguri H, Nishikawa K. Correlation between the pronucleus size and the potential for human single pronucleus zygotes to develop into blastocysts: 1PN zygotes with large pronuclei can expect an embryo development to the blastocyst stage that is similar to the development of 2PN zygotes. *J Assist Reprod Genet* 2018;**35**:817–823.

Arce JC, Ziebe S, Lundin K, Janssens R, Helmgaard L, Sørensen P. Interobserver agreement and intraobserver reproducibility of embryo quality assessments. *Hum Reprod* 2006;**21**:2141–2148.

Armstrong S, Bhide P, Jordan V, Pacey A, Marjoribanks J, Farquhar C. Time-lapse systems for embryo incubation and assessment in assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev* 2019; **5**:Cd011320.

Arroyo G, Santaló J, Boada M, Parriego M, Rodríguez I, Coroleu B, Barri PN, Veiga A. Does early cleavage correlate with chromosome constitution in human preimplantation embryos? *Med Reprod Embriol Clín* 2015;**2**:31–39.

Asami M, Lam BYH, Ma MK, Rainbow K, Braun S, VerMilyea MD, Yeo GSH, Perry ACF. Human embryonic genome activation initiates at the one-cell stage. *Cell Stem Cell* 2022;**29**:209–216.

Ashrafi M, Karimian L, Eftekhari-Yazdi P, Hasani F, Arabipoor A, Bahmanabadi A, Akhond MR. Effect of oocyte dysmorphisms on intracytoplasmic sperm injection cycle outcomes in normal ovarian responders. *J Obstet Gynaecol Res* 2015;**41**:1912–1920.

Aslan Öztürk S, Cincik M, Donmez Cakil Y, Sayan S, Selam B. Early compaction might be a parameter to determine good quality embryos and day of embryo transfer in patients undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Cureus* 2022;**14**:e23593.

Awadalla MS, Agarwal R, Ho JR, McGinnis LK, Ahmady A. Effect of trophectoderm biopsy for PGT-A on live birth rate per embryo in good prognosis patients. *Arch Gynecol Obstet* 2022a; **306**:1321–1327.

Awadalla MS, Ho JR, McGinnis LK, Ahmady A, Cortessis VK, Paulson RJ. Embryo morphology and live birth in the United States. *F S Rep* 2022b;**3**:131–137.

Azzarello A, Hoest T, Mikkelsen AL. The impact of pronuclei morphology and dynamicity on live birth outcome after time-lapse culture. *Hum Reprod* 2012;**27**:2649–2657.

Bakkensen JB, Brady P, Carusi D, Romanski P, Thomas AM, Racowsky C. Association between blastocyst morphology and pregnancy and perinatal outcomes following fresh and cryopreserved embryo transfer. *J Assist Reprod Genet* 2019;**36**:2315–2324.

Balaban B, Ata B, Isiklar A, Yakin K, Urman B. Severe cytoplasmic abnormalities of the oocyte decrease cryosurvival and subsequent embryonic development of cryopreserved embryos. *Hum Reprod* 2008;**23**:1778–1785.

Balaban B, Urman B. Effect of oocyte morphology on embryo development and implantation. *Reprod Biomed Online* 2006;**12**:608–615.

Balaban B, Urman B, Sertac A, Alatas C, Aksoy S, Mercan R. Oocyte morphology does not affect fertilization rate, embryo quality and implantation rate after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1998;**13**:3431–3433.

Balakier H, Bouman D, Sojecki A, Librach C, Squire JA. Morphological and cytogenetic analysis of human giant oocytes and giant embryos. *Hum Reprod* 2002;**17**:2394–2401.

Balakier H, Cadesky K. The frequency and developmental capability of human embryos containing multinucleated blastomeres. *Hum Reprod* 1997;**12**:800–804.

Balakier H, Sojecki A, Motamedi G, Librach C. Time-dependent capability of human oocytes for activation and pronuclear formation during metaphase II arrest. *Hum Reprod* 2004;**19**:982–987.

Balakier H, Sojecki A, Motamedi G, Librach C. Impact of multinucleated blastomeres on embryo developmental competence, morphokinetics, and aneuploidy. *Fertil Steril* 2016;**106**:608–614.e2.

Bamford T, Barrie A, Montgomery S, Dhillon-Smith R, Campbell A, Easter C, Coomarasamy A. Morphological and morphokinetic associations with aneuploidy: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2022;**28**:656–686.

Bamford T, Easter C, Montgomery S, Smith R, Dhillon-Smith RK, Barrie A, Campbell A, Coomarasamy A. A comparison of 12 machine learning models developed to predict ploidy, using a morphokinetic meta-dataset of 8147 embryos. *Hum Reprod* 2023; **38**:569–581.

Barberet J, Bruno C, Valot E, Antunes-Nunes C, Jonval L, Chammas J, Choux C, Ginod P, Sagot P, Soudry-Faure A et al Can novel early non-invasive biomarkers of embryo quality be identified with time-lapse imaging to predict live birth? *Hum Reprod* 2019; **34**:1439–1449.

Barnes J, Brendel M, Gao VR, Rajendran S, Kim J, Li Q, Malmsten JE, Sierra JT, Zisimopoulos P, Sigaras A et al A non-invasive artificial intelligence approach for the prediction of human blastocyst ploidy: a retrospective model development and validation study. *Lancet Digit Health* 2023;**5**:e28–e40.

Barrie A, Homburg R, McDowell G, Brown J, Kingsland C, Troup S. Examining the efficacy of six published time-lapse imaging embryo selection algorithms to predict implantation to demonstrate the need for the development of specific, in-house morphokinetic selection algorithms. *Fertil Steril* 2017a;**107**:613–621.

Barrie A, Homburg R, McDowell G, Brown J, Kingsland C, Troup S. Preliminary investigation of the prevalence and implantation potential of abnormal embryonic phenotypes assessed using time-lapse imaging. *Reprod Biomed Online* 2017b;**34**:455–462.

Barrie A, McDowell G, Troup S. An investigation into the effect of potential confounding patient and treatment parameters on human embryo morphokinetics. *Fertil Steril* 2021a;**115**:1014–1022.

Barrie A, Smith R, Campbell A, Fishel S. Optimisation of the timing of fertilisation assessment for oocytes cultured in standard incubation: lessons learnt from time-lapse imaging of 78 348 embryos. *Hum Reprod* 2021b;**36**:2840–2847.

Bartolacci A, Intra G, Coticchio G, dell'Aquila M, Patria G, Borini A. Does morphological assessment predict oocyte developmental competence? A systematic review and proposed score. *J Assist Reprod Genet* 2022;**39**:3–17.

Bassil R, Casper RF, Meriano J, Smith R, Haas J, Mehta C, Orvieto R, Zilberberg E. Can oocyte diameter predict embryo quality? *Reprod Sci* 2021;**28**:904–908.

Baxter Bendus AE, Mayer JF, Shipley SK, Catherino WH. Interobserver and intraobserver variation in day 3 embryo grading. *Fertil Steril* 2006;**86**:1608–1615.

Bellver J. BMI and miscarriage after IVF. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2022;**34**:114–121.

Berntsen J, Rimestad J, Lassen JT, Tran D, Kragh MF. Robust and generalizable embryo selection based on artificial intelligence and time-lapse image sequences. *PLoS One* 2022;**17**:e0262661.

Berntsen S, Söderström-Anttila V, Wennerholm UB, Laivuori H, Loft A, Oldereid NB, Romundstad LB, Bergh C, Pinborg A. The health of children conceived by ART: 'the chicken or the egg?'. *Hum Reprod Update* 2019;**25**:137–158.

Bertrand E, Van den Bergh M, Englert Y. Does zona pellucida thickness influence the fertilization rate? *Hum Reprod* 1995; **10**:1189–1193.

Bickendorf K, Qi F, Peirce K, Natalwala J, Chapple V, Liu Y. Spontaneous collapse as a prognostic marker for human blastocysts: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2023; **38**:1891–1900.

Bodri D, Kato R, Kondo M, Hosomi N, Katsumata Y, Kawachiya S, Matsumoto T. Time-lapse monitoring of zona pellucida-free embryos obtained through in vitro fertilization: a retrospective case series. *Fertil Steril* 2015;**103**:e35.

Bodri D, Kawachiya S, Sugimoto T, Yao Serna J, Kato R, Matsumoto T. Time-lapse variables and embryo gender: a retrospective analysis of 81 live births obtained following minimal stimulation and single embryo transfer. *J Assist Reprod Genet* 2016;**33**:589–596.

Bormann CL, Thirumalaraju P, Kanakasabapathy MK, Kandula H, Souter I, Dimitriadis I, Gupta R, Pooniwala R, Shafiee H. Consistency and objectivity of automated embryo assessments using deep neural networks. *Fertil Steril* 2020;**113**:781–787.e1.

Boucret L, Tramon LÉA, Riou J, Ferré-L'Hôtellier V, Bouet P-E, May-Panloup P. Influence of diminished ovarian reserve on early embryo morphokinetics during in vitro fertilization: a time-lapse study. *JCM* 2022;**11**:7173.

Bourdon M, Pocate-Cheriet K, Finet de Bantel A, Grzegorczyk-Martin V, Amar Hoffet A, Arbo E, Poulain M, Santulli P. Day 5 versus Day 6 blastocyst transfers: a systematic review and meta-analysis of clinical outcomes. *Hum Reprod* 2019;**34**:1948–1964.

Bradley CK, Traversa MV, Hobson N, Gee AJ, McArthur SJ. Clinical use of monopronucleated zygotes following blastocyst culture and preimplantation genetic screening, including verification of biparental chromosome inheritance. *Reprod Biomed Online* 2017; **34**:567–574.

Braga DP, Halpern G, Setti AS, Figueira RC, Iaconelli A Jr, Borges E Jr. The impact of food intake and social habits on embryo quality and the likelihood of blastocyst formation. *Reprod Biomed Online* 2015;**31**:30–38.

Braga DPAF, Setti AS, Figueira R, Iaconelli A, Borges E Jr. The combination of pronuclear and blastocyst morphology: a strong prognostic tool for implantation potential. *J Assist Reprod Genet* 2013; **30**:1327–1332.

Braude P, Bolton V, Moore S. Human gene expression first occurs between the four- and eight-cell stages of preimplantation development. *Nature* 1988;**332**:459–461.

Bredbacka P, Capalbo A, Kananen K, Picchetta L, Tomás C. Healthy live birth following embryo transfer of a blastocyst of tetrapronuclear (4PN) origin: a case report. *Hum Reprod* 2023;**38**:1700–1704.

Busnelli A, Dallagiovanna C, Reschini M, Paffoni A, Fedele L, Somigliana E. Risk factors for monozygotic twinning after in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2019;**111**:302–317.

Cameron NJ, Bhattacharya S, McLernon DJ. Cumulative live birth rates following blastocyst- versus cleavage-stage embryo transfer in the first complete cycle of IVF: a population-based retrospective cohort study. *Hum Reprod* 2020;**35**:2365–2374.

Campbell A, Cohen J, Ivani K, Morbeck D, Palmer G, Mortimer S. The in vitro fertilization laboratory: teamwork and teaming. *Fertil Steril* 2022a;**117**:27–32.

Campbell A, Fishel S, Bowman N, Duffy S, Sedler M, Hickman CF. Modelling a risk classification of aneuploidy in human embryos using non-invasive morphokinetics. *Reprod Biomed Online* 2013; **26**:477–485.

Campbell AJ, Petersen Dr BM, Smith R, Barrie A. Prediction of blastulation, embryo utilisation and live birth from single morphological or morphokinetic variables: analysis of 31,323 embryos gives insights for selection and algorithm development. *Fertil Steril* 2022b;**118**:e138.

Capalbo A, Rienzi L, Cimadomo D, Maggiulli R, Elliott T, Wright G, Nagy ZP, Ubaldi FM. Correlation between standard blastocyst morphology, euploidy and implantation: an observational study in two centers involving 956 screened blastocysts. *Hum Reprod* 2014;**29**:1173–1181.

Capalbo A, Treff N, Cimadomo D, Tao X, Ferrero S, Vaiarelli A, Colamaria S, Maggiulli R, Orlando G, Scarica C et al Abnormally fertilized oocytes can result in healthy live births: improved genetic technologies for preimplantation genetic testing can be used to rescue viable embryos in in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril* 2017;**108**:1007–1015.e3.

Castillo CM, Johnstone ED, Horne G, Falconer DA, Troup SA, Cutting R, Sharma V, Brison DR, Roberts SA. Associations of IVF singleton birthweight and gestation with clinical treatment and laboratory factors: a multicentre cohort study. *Hum Reprod* 2020; **35**:2860–2870.

Cauffman G, Verheyen G, Tournaye H, Van de Velde H. Developmental capacity and pregnancy rate of tetrahedral- versus non-tetrahedral-shaped 4-cell stage human embryos. *J Assist Reprod Genet* 2014;**31**:427–434.

Cavazza T, Takeda Y, Politi AZ, Aushev M, Aldag P, Baker C, Choudhary M, Bucevičius J, Lukinavičius G, Elder K et al Parental genome unification is highly error-prone in mammalian embryos. *Cell* 2021;**184**:2860–2877.e22.

Cecchele A, Cermisoni GC, Giacomini E, Pinna M, Vigano P. Cellular and molecular nature of fragmentation of human embryos. *IJMS* 2022;**23**:1349.

Chamayou S, Alecci C, Ragolia C, Storaci G, Maglia E, Russo E, Guglielmino A. Comparison of in-vitro outcomes from cryopreserved oocytes and sibling fresh oocytes. *Reprod Biomed Online* 2006;**12**:730–736.

Chatzimeletiou K, Morrison EE, Prapas N, Prapas Y, Handyside AH. Spindle abnormalities in normally developing and arrested human preimplantation embryos in vitro identified by confocal laser scanning microscopy. *Hum Reprod* 2005;**20**:672–682.

Chavez-Badiola A, Flores-Saiffe-Farías A, Mendizabal-Ruiz G, Drakeley AJ, Cohen J. Embryo Ranking Intelligent Classification Algorithm (ERICA): artificial intelligence clinical assistant predicting embryo ploidy and implantation. *Reprod Biomed Online* 2020;**41**:585–593.

Chavez SL, Loewke KE, Han J, Moussavi F, Colls P, Munne S, Behr B, Reijo Pera RA. Dynamic blastomere behaviour reflects human embryo ploidy by the four-cell stage. *Nat Commun* 2012;**3**:1251.

Chen X, Zhang J, Wu X, Cao S, Zhou L, Wang Y, Chen X, Lu J, Zhao C, Chen M et al Trophectoderm morphology predicts outcomes of pregnancy in vitrified-warmed single-blastocyst transfer cycle in a Chinese population. *J Assist Reprod Genet* 2014;**31**:1475–1481.

Chen ZQ, Wang Y, Ng EHY, Zhao M, Pan JP, Wu HX, Teng XM. A randomized triple blind controlled trial comparing the live birth rate of IVF following brief incubation versus standard incubation of gametes. *Hum Reprod* 2019;**34**:100–108.

Cimadomo D, Capalbo A, Scarica C, Sosa Fernandez L, Rienzi L, Ciriminna R, Minasi MG, Novelli A, De Santis L, Zuccarello D. When embryology meets genetics: the definition of developmentally incompetent preimplantation embryos (DIPE)-the consensus of two Italian scientific societies. *J Assist Reprod Genet* 2021; **38**:319–331.

Cimadomo D, Marconetto A, Trio S, Chiappetta V, Innocenti F, Albricci L, Erlich I, Ben-Meir A, Har-Vardi I, Kantor B et al Human blastocyst spontaneous collapse is associated with worse morphological quality and higher degeneration and aneuploidy rates: a comprehensive analysis standardized through artificial intelligence. *Hum Reprod* 2022a;**37**:2291–2306.

Cimadomo D, Rienzi L, Conforti A, Forman E, Canosa S, Innocenti F, Poli M, Hynes J, Gemmell L, Vaiarelli A et al Opening the black box: why do euploid

blastocysts fail to implant? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2023;**29**:570–633.

Cimadomo D, Soscia D, Casciani V, Innocenti F, Trio S, Chiappetta V, Albricci L, Maggiulli R, Erlich I, Ben-Meir A et al How slow is too slow? A comprehensive portrait of Day 7 blastocysts and their clinical value standardized through artificial intelligence. *Hum Reprod* 2022b;**37**:1134–1147.

Ciotti PM, Notarangelo L, Morselli-Labate AM, Felletti V, Porcu E, Venturoli S. First polar body morphology before ICSI is not related to embryo quality or pregnancy rate. *Hum Reprod* 2004; **19**:2334–2339.

Ciray HN, Campbell A, Agerholm IE, Aguilar J, Chamayou S, Esbert M, Sayed S; Time-Lapse User Group. Proposed guidelines on the nomenclature and annotation of dynamic human embryo monitoring by a time-lapse user group. *Hum Reprod* 2014; **29**:2650–2660.

Cohen J, Levron J, Palermo GD, Munné S, Adler A, Alikani M, Schattman G, Sultan K, Willadsen S. Atypical activation and fertilization patterns in humans. *Theriogenology* 1995;**43**:129–140.

Cornelisse S, Fleischer K, van der Westerlaken L, de Bruin J-P, Vergouw C, Koks C, Derhaag J, Visser J, van Echten-Arends J, Slappendel E et al Cumulative live birth rate of a blastocyst versus cleavage stage embryo transfer policy during in vitro fertilisation in women with a good prognosis: multicentre randomised controlled trial. *BMJ* 2024;**386**:e080133.

Coticchio G, Ezoe K, Lagalla C, Shimazaki K, Ohata K, Ninomiya M, Wakabayashi N, Okimura T, Uchiyama K, Kato K et al Perturbations of morphogenesis at the compaction stage affect blastocyst implantation and live birth rates. *Hum Reprod* 2021; **36**:918–928.

Coticchio G, Ezoe K, Lagalla C, Zacà C, Borini A, Kato K. The destinies of human embryos reaching blastocyst stage between Day 4 and Day 7 diverge as early as fertilization. *Hum Reprod* 2023; **38**:1690–1699.

Coticchio G, Lagalla C, Sturmey R, Pennetta F, Borini A. The enigmatic morula: mechanisms of development, cell fate determination, self-correction and implications for ART. *Hum Reprod Update* 2019;**25**:422–438.

Coticchio G, Mignini Renzini M, Novara PV, Lain M, De Ponti E, Turchi D, Fadini R, Dal Canto M. Focused time-lapse analysis reveals novel aspects of human fertilization and suggests new parameters of embryo viability. *Hum Reprod* 2018;**33**:23–31.

Cuevas Saiz I, Carme Pons Gatell M, Vargas MC, Delgado Mendive A, Rives Enedáguila N, Moragas Solanes M, Carrasco Canal B, Teruel López J, Busquets Bonet A, Hurtado de Mendoza Acosta MV. The Embryology Interest Group: updating ASEBIR's morphological scoring system for early embryos, morulae and blastocysts. *Med Reprod Embriol Clín* 2018;**5**:42–54.

Currie CE, Ford E, Benham Whyte L, Taylor DM, Mihalas BP, Erent M, Marston AL, Hartshorne GM, McAinsh AD. The first mitotic division of human embryos is highly error prone. *Nat Commun* 2022; **13**:6755.

Dal Canto M, Brambillasca F, Mignini Renzini M, Coticchio G, Merola M, Lain M, De Ponti E, Fadini R. Cumulus cell-oocyte complexes retrieved from antral follicles in IVM cycles: relationship between COCs morphology, gonadotropin priming and clinical outcome. *J Assist Reprod Genet* 2012a;**29**:513–519.

Dal Canto M, Coticchio G, Mignini Renzini M, De Ponti E, Novara PV, Brambillasca F, Comi R, Fadini R. Cleavage kinetics analysis of human embryos predicts development to blastocyst and implantation. *Reprod Biomed Online* 2012b;**25**:474–480.

Dal Canto M, Guglielmo MC, Mignini Renzini M, Fadini R, Moutier C, Merola M, De Ponti E, Coticchio G. Dysmorphic patterns are associated with cytoskeletal alterations in human oocytes. *Hum Reprod* 2017;**32**:750–757.

Daya S, Kohut J, Gunby J, Younglai E. Influence of blood clots in the cumulus complex on oocyte fertilization and cleavage. *Hum Reprod* 1990;**5**:744–746.

de Cássia SFR, de Almeida Ferreira Braga DP, Semião-Francisco L, Madaschi C, Iaconelli A Jr, Borges E Jr. Metaphase II human oocyte morphology: contributing factors and effects on fertilization potential and embryo developmental ability in ICSI cycles. *Fertil Steril* 2010;**94**:1115–1117.

De Croo I, De Sutter P, Tilleman K. A stepwise approach to move from a cleavage-stage to a blastocyst-stage transfer policy for all patients in the IVF clinic. *Hum Reprod Open* 2020;**2020**:hoaa034.

De Geyter C, Wyns C, Calhaz-Jorge C, de Mouzon J, Ferraretti AP, Kupka M, Nyboe Andersen A, Nygren KG, Goossens V. 20 years of the European IVF-monitoring Consortium registry: what have we learned? A comparison with registries from two other regions. *Hum Reprod* 2020;**35**:2832–2849.

De los Santos MJ, Apter S, Coticchio G, Debrock S, Lundin K, Plancha CE, Prados F, Rienzi L, Verheyen G, Woodward B et al; ESHRE Guideline Group on Good Practice in IVF Labs. Revised guidelines for good practice in IVF laboratories (2015). *Hum Reprod* 2016; **31**:685–686.

De los Santos MJ, Arroyo G, Busquet A, Calderón G, Cuadros J, Hurtado de Mendoza MV, Moragas M, Herrer R, Ortiz A, Pons C et al; ASEBIR Interest Group in Embryology. A multicenter prospective study to assess the effect of early cleavage on embryo quality, implantation, and live-birth rate. *Fertil Steril* 2014; **101**:981–987.

De Munck N, Bayram A, Elkhatib I, Abdala A, El-Damen A, Arnanz A, Melado L, Lawrenz B, Fatemi HM. Marginal differences in preimplantation morphokinetics between conventional IVF and ICSI in patients with preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A): A sibling oocyte study. *PLoS One* 2022;**17**:e0267241.

De Santis L, Cino I, Rabellotti E, Calzi F, Persico P, Borini A, Coticchio G. Polar body morphology and spindle imaging as predictors of oocyte quality. *Reprod Biomed Online* 2005;**11**:36–42.

De Sutter P, Dozortsev D, Qian C, Dhont M. Oocyte morphology does not correlate with fertilization rate and embryo quality after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1996;**11**:595–597.

De Vos A, Van de Velde H, Joris H, Van Steirteghem A. In-vitro matured metaphase-I oocytes have a lower fertilization rate but similar embryo quality as mature metaphase-II oocytes after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1999; **14**:1859–1863.

De Vos A, Van Landuyt L, Santos-Ribeiro S, Camus M, Van de Velde H, Tournaye H, Verheyen G. Cumulative live birth rates after fresh and vitrified cleavage-stage versus blastocyst-stage embryo transfer in the first treatment cycle. *Hum Reprod* 2016; **31**:2442–2449.

Desai N, Gill P. Blastomere cleavage plane orientation and the tetrahedral formation are associated with increased probability of a good-quality blastocyst for cryopreservation or transfer: a time-lapse study. *Fertil Steril* 2019;**111**:1159–1168.e1.

Desai N, Goldberg JM, Austin C, Falcone T. Are cleavage anomalies, multinucleation, or specific cell cycle kinetics observed with time-lapse imaging predictive of embryo developmental capacity or ploidy? *Fertil Steril* 2018;**109**:665–674.

Desai N, Ploskonka S, Goodman LR, Austin C, Goldberg J, Falcone T. Analysis of embryo morphokinetics, multinucleation and cleavage anomalies using continuous time-lapse monitoring in blastocyst transfer cycles. *Reprod Biol Endocrinol* 2014;**12**:54.

Desch L, Bruno C, Luu M, Barberet J, Choux C, Lamotte M, Schmutz E, Sagot P, Fauque P. Embryo multinucleation at the two-cell stage is an independent predictor of intracytoplasmic sperm injection outcomes. *Fertil Steril* 2017;**107**:97–103.e104.

Destouni A, Dimitriadou E, Masset H, Debrock S, Melotte C, Van Den Bogaert K, Zamani Esteki M, Ding J, Voet T, Denayer E et al Genome-wide haplotyping embryos developing from 0PN and 1PN zygotes increases transferrable embryos in PGT-M. *Hum Reprod* 2018;**33**:2302–2311.

Diakiw SM, Hall JMM, VerMilyea M, Lim AYX, Quangkananurug W, Chanchamroen S, Bankowski B, Stones R, Storr A, Miller A et al An artificial intelligence model correlated with morphological and genetic features of blastocyst quality improves ranking of viable embryos. *Reprod Biomed Online* 2022;**45**:1105–1117.

Dietrich JE, Freis A, Beedgen F, von Horn K, Holschbach V, Liebscher J, Strowitzki T, Germeyer A. Intraindividual embryo morphokinetics are not affected by a switch of the ovarian stimulation protocol between GnRH agonist vs. antagonist regimens in consecutive cycles. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2020;**11**:246.

Dirican EK, Olgan S, Sakinci M, Caglar M. Blastocyst versus cleavage transfers: who benefits? *Arch Gynecol Obstet* 2022;**305**:749–756.

Du QY, Wang EY, Huang Y, Guo XY, Xiong YJ, Yu YP, Yao GD, Shi SL, Sun YP. Blastocoele expansion degree predicts live birth after single blastocyst transfer for fresh and vitrified/warmed single blastocyst transfer cycles. *Fertil Steril* 2016;**105**:910–919.e1.

Du T, Wang Y, Fan Y, Zhang S, Yan Z, Yu W, Xi Q, Chen Q, Mol BW, Lyu Q et al Fertility and neonatal outcomes of embryos achieving blastulation on Day 7: are they of clinical value? *Hum Reprod* 2018;**33**:1038–1051.

Eastick J, Venetis C, Cooke S, Chapman M. The presence of cytoplasmic strings in human blastocysts is associated with the probability of clinical pregnancy with fetal heart. *J Assist Reprod Genet* 2021;**38**:2139–2149.

Eastick J, Venetis C, Cooke S, Chapman M. Detailed analysis of cytoplasmic strings in human blastocysts: new insights. *Zygote* 2023a; **31**:78–84.

Eastick J, Venetis C, Cooke S, Chapman M. Inter- and intra-observer agreement between embryologists for cytoplasmic string assessment in day 5/6 human blastocysts. *Reprod Sci* 2023b; **30**:1917–1926.

Ebner T, Höggerl A, Oppelt P, Radler E, Enzelsberger SH, Mayer RB, Petek E, Shebl O. Time-lapse imaging provides further evidence that planar arrangement of blastomeres is highly abnormal. *Arch Gynecol Obstet* 2017;**296**:1199–1205.

Ebner T, Maurer M, Shebl O, Moser M, Mayer RB, Duba HC, Tews G. Planar embryos have poor prognosis in terms of blastocyst formation and implantation. *Reprod Biomed Online* 2012;**25**:267–272.

Ebner T, Moser M, Shebl O, Sommergruber M, Gaiswinkler U, Tews G. Morphological analysis at compacting stage is a valuable prognostic tool for ICSI patients. *Reprod Biomed Online* 2009;**18**:61–66.

Ebner T, Moser M, Shebl O, Sommergruber M, Yaman C, Tews G. Blood clots in the cumulus-oocyte complex predict poor oocyte quality and post-fertilization development. *Reprod Biomed Online* 2008a;**16**:801–807.

Ebner T, Moser M, Shebl O, Sommerguber M, Tews G. Prognosis of oocytes showing aggregation of smooth endoplasmic reticulum. *Reprod Biomed Online* 2008b;**16**:113–118.

Ebner T, Moser M, Sommergruber M, Gaiswinkler U, Shebl O, Jesacher K, Tews G. Occurrence and developmental consequences of vacuoles throughout preimplantation development. *Fertil Steril* 2005;**83**:1635–1640.

Ebner T, Moser M, Sommergruber M, Gaiswinkler U, Wiesinger R, Puchner M, Tews G. Presence, but not type or degree of extension, of a cytoplasmic halo has a significant influence on preimplantation development and implantation behaviour. *Hum Reprod* 2003; **18**:2406–2412.

Ebner T, Moser M, Tews G. Is oocyte morphology prognostic of embryo developmental potential after ICSI? *Reprod Biomed Online* 2006;**12**:507–512.

Ebner T, Sesli Ö, Kresic S, Enengl S, Stoiber B, Reiter E, Oppelt P, Mayer RB, Shebl O. Time-lapse imaging of cytoplasmic strings at the blastocyst stage suggests their association with spontaneous blastocoel collapse. *Reprod Biomed Online* 2020;**40**:191–199.

Ebner T, Shebl O, Moser M, Sommergruber M, Tews G. Developmental fate of ovoid oocytes. *Hum Reprod* 2008c;**23**:62–66.

Ebner T, Tritscher K, Mayer RB, Oppelt P, Duba HC, Maurer M, Schappacher-Tilp G, Petek E, Shebl O. Quantitative and qualitative trophectoderm grading allows for prediction of live birth and gender. *J Assist Reprod Genet* 2016;**33**:49–57.

Ebner T, Yaman C, Moser M, Sommergruber M, Feichtinger O, Tews G. Prognostic value of first polar body morphology on fertilization rate and embryo quality in intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 2000;**15**:427–430.

Ebner T, Yaman C, Moser M, Sommergruber M, Pölz W, Tews G. Embryo fragmentation in vitro and its impact on treatment and pregnancy outcome. *Fertil Steril* 2001;**76**:281–285.

Edwards RG, Steptoe PC, Purdy JM. Establishing full-term human pregnancies using cleaving embryos grown in vitro. *Br J Obstet Gynaecol* 1980;**87**:737–756.

Ergin EG, Calişkan E, Yalçinkaya E, Oztel Z, Cökelez K, Ozay A, Ozörnek HM. Frequency of embryo multinucleation detected by time-lapse system and its impact on pregnancy outcome. *Fertil Steril* 2014;**102**:1029–1033.e1.

Escrich L, Galiana Y, Grau N, Insua F, Soler N, Pellicer A, Escribá MJ. Do immature and mature sibling oocytes recovered from stimulated cycles have the same reproductive potential? *Reprod Biomed Online* 2018;**37**:667–676.

Esfandiari N, Burjaq H, Gotlieb L, Casper RF. Brown oocytes: implications for assisted reproductive technology. *Fertil Steril* 2006; **86**:1522–1525.

ESHRE Campus Course Report. Prevention of twin pregnancies after IVF/ICSI by single embryo transfer. *Hum Reprod* 2001;**16**:790–800.

ESHRE Clinic PI Working Group, Vlaisavljevic V, Apter S, Capalbo A, D'Angelo A, Gianaroli L, Griesinger G, Kolibianakis EM, Lainas G, Mardesic T, Motrenko T. The Maribor consensus: report of an expert meeting on the development of performance indicators for clinical practice in ART. *Hum Reprod Open* 2021;**2021**:hoab022.

ESHRE guideline group on the number of embryos to transfer. ESHRE Guideline: number of embryos to transfer during IVF/ICSI. Hum Reprod 2024;**39**:647–657.

ESHRE PGT Consortium and SIG-Embryology Biopsy Working Group. ESHRE PGT Consortium and SIG Embryology good practice recommendations for polar body and embryo biopsy for PGT. *Human Reproduction Open* 2020;**2020**:hoaa020.

ESHRE Special Interest Group of Embryology and Alpha Scientists in Reproductive Medicine.The Vienna consensus:report of an expert meeting on the development of art laboratory performance indicators. *Hum Reprod Open* 2017;**2017**:hox011.

ESHRE Working group on Time-lapse technology, Apter S, Ebner T, Freour T, Guns Y, Kovacic B, Le Clef N, Marques M, Meseguer M, Montjean D, Sfontouris I. Good practice recommendations for the use of time-lapse technology. *Hum Reprod Open* 2020; **2020**:hoaa008.

Ezoe K, Coticchio G, Takenouchi H, Taoda S, Namerikawa S, Honda K, Miki T, Okimura T, Kobayashi T, Borini A et al Spatiotemporal perturbations of pronuclear breakdown preceding syngamy affect early human embryo development: a retrospective observational study. *J Assist Reprod Genet* 2022a;**39**:75–84.

Ezoe K, Hickman C, Miki T, Okimura T, Uchiyama K, Yabuuchi A, Kobayashi T, Coticchio G, Kato K. Cytoplasmic halo characteristics during fertilization and their implications for human preimplantation embryo development and pregnancy outcome. *Reprod Biomed Online* 2020;**41**:191–202.

Ezoe K, Miki T, Akaike H, Shimazaki K, Takahashi T, Tanimura Y, Amagai A, Sawado A, Mogi M, Kaneko S et al Maternal age affects pronuclear and chromatin dynamics, morula compaction and cell polarity, and blastulation of human embryos. *Hum Reprod* 2023;**38**:387–399.

Ezoe K, Shimazaki K, Miki T, Takahashi T, Tanimura Y, Amagai A, Sawado A, Akaike H, Mogi M, Kaneko S et al Association between a deep learning-based scoring system with morphokinetics and morphological alterations in human embryos. *Reprod Biomed Online* 2022b;**45**:1124–1132.

Ezoe K, Takahashi T, Shimazaki K, Miki T, Tanimura Y, Amagai A, Sawado A, Akaike H, Mogi M, Kaneko S et al Human 1PN and 3PN zygotes recapitulate all morphokinetic events of normal fertilization but reveal novel developmental errors. *Hum Reprod* 2022c; **37**:2307–2319.

Fabozzi G, Alteri A, Rega E, Starita MF, Piscitelli C, Giannini P, Colicchia A. Morphological assessment on day 4 and its prognostic power in selecting viable embryos for transfer. *Zygote* 2016; **24**:477–484.

Fancsovits P, Murber A, Gilán ZT, Rigó J Jr, Urbancsek J. Human oocytes containing large cytoplasmic vacuoles can result in pregnancy and viable offspring. *Reprod Biomed Online* 2011;**23**:513–516.

Fancsovits P, Tóthné ZG, Murber A, Takács FZ, Papp Z, Urbancsek J. Correlation between first polar body morphology and further embryo development. *Acta Biol Hung* 2006;**57**:331–338.

Fang T, Yu W, Ou S, Lu J, Li R, Zhao M, Chan YL, Wang W. The impact of oocytes containing smooth endoplasmic reticulum aggregates on assisted reproductive outcomes: a cohort study. *BMC Pregnancy Childbirth* 2022;**22**:838.

Faramarzi A, Khalili MA, Ashourzadeh S. Oocyte morphology and embryo morphokinetics in an intra-cytoplasmic sperm injection programme. Is there a relationship? *Zygote* 2017;**25**:190–196.

Faramarzi A, Khalili MA, Ashourzadeh S, Palmerini MG. Does rescue in vitro maturation of germinal vesicle stage oocytes impair embryo morphokinetics development? *Zygote* 2018;**26**:430–434.

Faramarzi A, Khalili MA, Omidi M. Morphometric analysis of human oocytes using time lapse: does it predict embryo developmental outcomes? *Hum Fertil (Camb)* 2019;**22**:171–176.

Farhi J, Nahum H, Weissman A, Zahalka N, Glezerman M, Levran D. Coarse granulation in the perivitelline space and IVF-ICSI outcome. *J Assist Reprod Genet* 2002;**19**:545–549.

Feil D, Henshaw RC, Lane M. Day 4 embryo selection is equal to Day 5 using a new embryo scoring system validated in single embryo transfers. *Hum Reprod* 2008;**23**:1505–1510.

Ferrarini Zanetti B, Paes de Almeida Ferreira Braga D, Souza Setti A, de Cássia Sávio Figueira R, Iaconelli A Jr, Borges E Jr. Is perivitelline space morphology of the oocyte associated with pregnancy outcome in intracytoplasmic sperm injection cycles? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2018;**231**:225–229.

Firmin J, Ecker N, Rivet Danon D, Özgüç Ö, Barraud Lange V, Turlier H, Patrat C, Maître JL. Mechanics of human embryo compaction. *Nature* 2024;**629**:646–651.

Fishel S, Campbell A, Foad F, Davies L, Best L, Davis N, Smith R, Duffy S, Wheat S, Montgomery S et al Evolution of embryo selection for IVF from subjective morphology assessment to objective time-lapse algorithms improves chance of live birth. *Reprod Biomed Online* 2020;**40**:61–70.

Fishel S, Campbell A, Montgomery S, Smith R, Nice L, Duffy S, Jenner L, Berrisford K, Kellam L, Smith R et al Time-lapse imaging algorithms rank human preimplantation embryos according to the probability of live birth. *Reprod Biomed Online* 2018;**37**:304–313.

Fitz VW, Kanakasabapathy MK, Thirumalaraju P, Kandula H, Ramirez LB, Boehnlein L, Swain JE, Curchoe CL, James K, Dimitriadis I et al Should there be an "AI" in TEAM? Embryologists selection of high implantation potential embryos improves with the aid of an artificial intelligence algorithm. *J Assist Reprod Genet* 2021;**38**:2663–2670.

Forman EJ, Upham KM, Cheng M, Zhao T, Hong KH, Treff NR, Scott RT Jr. Comprehensive chromosome screening alters traditional morphology-based embryo selection: a prospective study of 100 consecutive cycles of planned fresh euploid blastocyst transfer. *Fertil Steril* 2013;**100**:718–724.

Fouks Y, Yogev Y. Twinning in ART: single embryo transfer policy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2022;**84**:88–95.

Fraire-Zamora JJ, Serdarogullari M, Sharma K, Ammar OF, Mincheva M, Macklon N, Pujol A, Capalbo A, Meseguer M, Liperis G. Better late than never: the clinical value of Day 7 blastocysts. *Hum Reprod* 2023;**38**:520–524.

Fu L, Chen S, Wang M, Huang G, Wang F, Lan Y, Liu S, Jiang X. Live birth from a blastocyst derived from a conjoined oocyte in a frozen embryo transfer cycle: a case report and a literature review. *J Assist Reprod Genet* 2022a;**39**:1351–1357.

Fu L, Chu D, Zhou W, Li Y. Strictly selected mono- and non-pronuclear blastocysts could result in appreciable clinical outcomes in IVF cycles. *Hum Fertil (Camb)* 2022b;**25**:470–477.

Fu L, Zhou W, Li Y. Development and frozen-thawed transfer of non-pronuclear zygotes-derived embryos in IVF cycles. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2021;**264**:206–211.

Gardner DK. The impact of physiological oxygen during culture, and vitrification for cryopreservation, on the outcome of extended culture in human IVF. *Reprod Biomed Online* 2016;**32**:137–141.

Gardner DK, Kelley RL. Impact of the IVF laboratory environment on human preimplantation embryo phenotype. *J Dev Orig Health Dis* 2017;**8**:418–435.

Gardner DK, Lane M. Alleviation of the '2-cell block' and development to the blastocyst of CF1 mouse embryos: role of amino acids, EDTA and physical parameters. *Hum Reprod* 1996; **11**:2703–2712.

Gardner DK, Lane M. Culture and selection of viable blastocysts: a feasible proposition for human IVF? *Hum Reprod Update* 1997; **3**:367–382.

Gardner DK, Lane M. Culture Systems for the Human Embryo. In: Gardner DK, Weissman A, Howles C, Shoham Z (eds). *Textbook of Assisted Reproductive Techniques*, 5th edn. Boca Raton, USA: CRC Press, 2018, 200–224.

Gardner DK, Schoolcraft WB. In-vitro culture of human blastocysts. In: Jansen R, Mortimer D (eds). *Towards Reproductive Certainty: Fertility and Genetics Beyond 1999*. Carnforth, UK: Parthenon Press, 1999, 378–388.

Ghosh J, Coutifaris C, Sapienza C, Mainigi M. Global DNA methylation levels are altered by modifiable clinical manipulations in assisted reproductive technologies. *Clin Epigenetics* 2017;**9**:14.

Giorgetti C, Terriou P, Auquier P, Hans E, Spach JL, Salzmann J, Roulier R. Embryo score to predict implantation after in-vitro fertilization: based on 957 single embryo transfers. *Hum Reprod* 1995;**10**:2427–2431.

Goodman LR, Goldberg J, Falcone T, Austin C, Desai N. Does the addition of time-lapse morphokinetics in the selection of embryos for transfer improve pregnancy rates? A randomized controlled trial. *Fertil Steril* 2016;**105**:275–285.e10.

Grøndahl ML, Christiansen SL, Kesmodel US, Agerholm IE, Lemmen JG, Lundstrøm P, Bogstad J, Raaschou-Jensen M, Ladelund S. Effect of women's age on embryo morphology, cleavage rate and competence—a multicenter cohort study. *PLoS One* 2017; **12**:e0172456.

Gurunath S, Biliangady R, Sundhararaj UM, Gangadharswamy A, Gundlapalli S, Reddy GMM. Live birth rates in in vitro fertilization cycles with oocytes containing smooth endoplasmic reticulum aggregates and normal oocytes. *J Hum Reprod Sci* 2019;**12**:156–163.

Halim B, Lubis HP, Adenin I, Angellee J, Samoedra RS. Meiotic spindle view improves the outcome of IVF in poor responders: a retrospective analytical study from an Indonesian IVF Center. *JBRA Assist Reprod* 2024;**28**:39–46.

Hammond ER, Cree LM, Morbeck DE. Should extended blastocyst culture include Day 7? *Hum Reprod* 2018;**33**:991–997.

Hammond ER, Foong AKM, Rosli N, Morbeck DE. Should we freeze it? Agreement on fate of borderline blastocysts is poor and does not improve with a modified blastocyst grading system. *Hum Reprod* 2020;**35**:1045–1053.

Harbottle S, Hughes C, Cutting R, Roberts S, Brison D; Association Of Clinical Embryologists (ACE) & The British Fertility Society (BFS). Elective single embryo transfer: an update to UK Best Practice Guidelines. *Hum Fertil (Camb)* 2015;**18**:165–183.

Hardarson T, Hanson C, Sjögren A, Lundin K. Human embryos with unevenly sized blastomeres have lower pregnancy and implantation rates: indications for aneuploidy and multinucleation. *Hum Reprod* 2001;**16**:313–318.

Hassan-Ali H, Hisham-Saleh A, El-Gezeiry D, Baghdady I, Ismaeil I, Mandelbaum J. Perivitelline space granularity: a sign of human menopausal gonadotrophin overdose in intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1998;**13**:3425–3430.

Hattori H, Nakamura Y, Nakajo Y, Araki Y, Kyono K. Deliveries of babies with normal health derived from oocytes with smooth endoplasmic reticulum clusters. *J Assist Reprod Genet* 2014; **31**:1461–1467.

Herrero J, Tejera A, Albert C, Vidal C, de los Santos MJ, Meseguer M. A time to look back: analysis of morphokinetic characteristics of human embryo development. *Fertil Steril* 2013;**100**:1602–1609.

Hill MJ, Richter KS, Heitmann RJ, Graham JR, Tucker MJ, DeCherney AH, Browne PE, Levens ED. Trophectoderm grade predicts outcomes of single-blastocyst transfers. *Fertil Steril* 2013;**99**: 1283–1289.e1281.

Hoek J, Schoenmakers S, van Duijn L, Willemsen SP, van Marion ES, Laven JSE, Baart EB, Steegers-Theunissen RPM. A higher preconceptional paternal body mass index influences fertilization rate and preimplantation embryo development. *Andrology* 2022; **10**:486–494.

Holte J, Berglund L, Milton K, Garello C, Gennarelli G, Revelli A, Bergh T. Construction of an evidence-based integrated morphology cleavage embryo score for implantation potential of embryos scored and transferred on day 2 after oocyte retrieval. *Hum Reprod* 2007;**22**:548–557.

Holubcová Z, Kyjovská D, Martonová M, Páralová D, Klenková T, Otevřel P, Štěpánová R, Kloudová S, Hampl A. Egg maturity assessment prior to ICSI prevents premature fertilization of late-maturing oocytes. *J Assist Reprod Genet* 2019;**36**:445–452.

Hondo S, Arichi A, Muramatsu H, Omura N, Ito K, Komine H, Monzen S, Mukai N, Endo M, Katase S et al Clinical outcomes of transfer of frozen and thawed single blastocysts derived from nonpronuclear and monopronuclear zygotes. *Reprod Med Biol* 2019;**18**:278–283.

Honnma H, Baba T, Sasaki M, Hashiba Y, Ohno H, Fukunaga T, Endo T, Saito T, Asada Y. Trophectoderm morphology significantly affects the rates of ongoing pregnancy and miscarriage in frozen-thawed single-blastocyst transfer cycle in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2012;**98**:361–367.

Hori K, Hori K, Kosasa T, Walker B, Ohta A, Ahn HJ, Huang TTF. Comparison of euploid blastocyst expansion with subgroups of single chromosome,

multiple chromosome, and segmental aneuploids using an AI platform from donor egg embryos. *J Assist Reprod Genet* 2023;**40**:1407–1416.

Huang TT, Huang DH, Ahn HJ, Arnett C, Huang CT. Early blastocyst expansion in euploid and aneuploid human embryos: evidence for a non-invasive and quantitative marker for embryo selection. *Reprod Biomed Online* 2019;**39**:27–39.

Huang TTF, Kosasa T, Walker B, Arnett C, Huang CTF, Yin C, Harun Y, Ahn HJ, Ohta A. Deep learning neural network analysis of human blastocyst expansion from time-lapse image files. *Reprod Biomed Online* 2021;**42**:1075–1085.

Hung TY, Lee RK, Hwu YM, Lin MH, Li RS, Weng YW. Early blastulation of day 4 embryo correlates with the increased euploid rate of preimplantation genetic screening cycles. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2018;**57**:858–861.

Hur C, Nanavaty V, Yao M, Desai N. The presence of partial compaction patterns is associated with lower rates of blastocyst formation, sub-optimal morphokinetic parameters and poorer morphologic grade. *Reprod Biol Endocrinol* 2023;**21**:12.

Hviid KVR, Malchau SS, Pinborg A, Nielsen HS. Determinants of monozygotic twinning in ART: a systematic review and a meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2018;**24**:468–483.

Illingworth PJ, Venetis C, Gardner DK, Nelson SM, Berntsen J, Larman MG, Agresta F, Ahitan S, Ahlström A, Cattrall F *et al.* Deep learning versus manual morphology-based embryo selection in IVF: a randomized, double-blind noninferiority trial. *Nat Med* 2024;**30**:3114–3120.

Inoue T, Taguchi S, Uemura M, Tsujimoto Y, Kokunai K, Ikawa K, Yamashita Y. The migration speed of nucleolar precursor bodies in pronuclei affects in vitro fertilization-derived human embryo ploidy status and live birth. *Reprod Med Biol* 2023;**22**:e12497.

Inoue T, Taguchi S, Uemura M, Tsujimoto Y, Miyazaki K, Yamashita Y. Migration speed of nucleolus precursor bodies in human male pronuclei: a novel parameter for predicting live birth. *J Assist Reprod Genet* 2021;**38**:1725–1736.

Irani M, Reichman D, Robles A, Melnick A, Davis O, Zaninovic N, Xu K, Rosenwaks Z. Morphologic grading of euploid blastocysts influences implantation and ongoing pregnancy rates. *Fertil Steril* 2017;**107**:664–670.

Itoi F, Asano Y, Shimizu M, Honnma H, Murata Y. Birth of nine normal healthy babies following transfer of blastocysts derived from human single-pronucleate zygotes. *J Assist Reprod Genet* 2015; **32**:1401–1407.

Itoi F, Asano Y, Shimizu M, Nagai R, Saitou K, Honnma H, Murata Y. Clinical outcomes after IVF or ICSI using human blastocysts derived from oocytes containing aggregates of smooth endoplasmic reticulum. *Reprod Biomed Online* 2017;**34**:337–344.

Ivec M, Kovacic B, Vlaisavljevic V. Prediction of human blastocyst development from morulas with delayed and/or incomplete compaction. *Fertil Steril* 2011;**96**:1473–1478.e2.

Iwata K, Yumoto K, Sugishima M, Mizoguchi C, Kai Y, Iba Y, Mio Y. Analysis of compaction initiation in human embryos by using time-lapse cinematography. *J Assist Reprod Genet* 2014; **31**:421–426.

Jackson KV, Ginsburg ES, Hornstein MD, Rein MS, Clarke RN. Multinucleation in normally fertilized embryos is associated with an accelerated ovulation induction response and lower implantation and pregnancy rates in in vitro fertilization-embryo transfer cycles. *Fertil Steril* 1998;**70**:60–66.

Ji M, Wang X, Wu W, Guan Y, Liu J, Wang J, Liu W, Shen C. ART manipulation after controlled ovarian stimulation may not increase the risk of abnormal expression and DNA methylation at some CpG sites of H19,IGF2 and SNRPN in foetuses: a pilot study. *Reprod Biol Endocrinol* 2018;**16**:63.

Johansson M, Hardarson T, Lundin K. There is a cutoff limit in diameter between a blastomere and a small anucleate fragment. *J Assist Reprod Genet* 2003;**20**:309–313.

Joo K, Nemes A, Dudas B, Berkes-Bara E, Murber A, Urbancsek J, Fancsovits P. The importance of cytoplasmic strings during early human embryonic development. *Front Cell Dev Biol* 2023; **11**:1177279.

Kadam N, Woodhead G, Kellam L, Campbell A, Jayaprakasan K. Odds and predictors of monozygotic twinning in a multicentre cohort of 25,794 IVF cycles. *JCM* 2023;**12**:2593.

Kahraman S, Yakin K, Dönmez E, Samli H, Bahçe M, Cengiz G, Sertyel S, Samli M, Imirzalioğlu N. Relationship between granular cytoplasm of oocytes and pregnancy outcome following intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 2000;**15**:2390–2393.

Kai Y, Iwata K, Iba Y, Mio Y. Diagnosis of abnormal human fertilization status based on pronuclear origin and/or centrosome number. *J Assist Reprod Genet* 2015;**32**:1589–1595.

Kai Y, Moriwaki H, Yumoto K, Iwata K, Mio Y. Assessment of developmental potential of human single pronucleated zygotes derived from conventional in vitro fertilization. *J Assist Reprod Genet* 2018;**35**:1377–1384.

Kato K, Ueno S, Berntsen J, Kragh MF, Okimura T, Kuroda T. Does embryo categorization by existing artificial intelligence, morphokinetic or morphological embryo selection models correlate with blastocyst euploidy rates? *Reprod Biomed Online* 2023;**46**:274–281.

Kemper JM, Liu Y, Afnan M, Hammond ER, Morbeck DE, Mol BW. Should we look for a low-grade threshold for blastocyst transfer? A scoping review. *Reprod Biomed Online* 2021;**42**:709–716.

Kemper JM, Liu Y, Afnan M, Mol BWJ, Morbeck DE. What happens to abnormally fertilized embryos? A scoping review. *Reprod Biomed Online* 2023;**46**:802–807.

Khosravi P, Kazemi E, Zhan Q, Malmsten JE, Toschi M, Zisimopoulos P, Sigaras A, Lavery S, Cooper LAD, Hickman C et al Deep learning enables robust assessment and selection of human blastocysts after in vitro fertilization. *NPJ Digit Med* 2019;**2**:21.

Kieslinger DC, Vergouw CG, Ramos L, Arends B, Curfs M, Slappendel E, Kostelijk EH, Pieters M, Consten D, Verhoeven MO et al Clinical outcomes of uninterrupted embryo culture with or without time-lapse-based embryo selection versus interrupted standard culture (SelecTIMO): a three-armed, multicentre, double-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 2023;**401**:1438–1446.

Kirkegaard K, Hindkjaer JJ, Ingerslev HJ. Effect of oxygen concentration on human embryo development evaluated by time-lapse monitoring. *Fertil Steril* 2013;**99**:738–744.e734.

Kirkegaard K, Sundvall L, Erlandsen M, Hindkjær JJ, Knudsen UB, Ingerslev HJ. Timing of human preimplantation embryonic development is confounded by embryo origin. *Hum Reprod* 2016; **31**:324–331.

Kitasaka H, Konuma Y, Tokoro M, Fukunaga N, Asada Y. Oocyte cytoplasmic diameter of ⩾30 μm can be used to determine human giant oocytes. *F S Sci* 2022;**3**:10–17.

Kligman I, Benadiva C, Alikani M, Munne S. The presence of multinucleated blastomeres in human embryos is correlated with chromosomal abnormalities. *Hum Reprod* 1996;**11**:1492–1498.

Kljajic M, Saymé N, Krebs T, Wagenpfeil G, Baus S, Solomayer EF, Kasoha M. Zygote diameter and total cytoplasmic volume as useful predictive tools of blastocyst quality. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 2023;**83**:97–105.

Knez J, Kovačič B, Vlaisavljević V. Comparison of embryo transfer strategies and assisted reproduction outcome in Slovenian and cross-border patients. *Reprod Biomed Online* 2013;**27**:310–315.

Kong X, Yang S, Gong F, Lu C, Zhang S, Lu G, Lin G. The relationship between cell number, division behavior and developmental potential of cleavage stage human embryos: a time-lapse study. *PLoS One* 2016;**11**:e0153697.

Kovačič B. Culture systems: low-oxygen culture. *Methods Mol Biol* 2012;**912**:249–272.

Kovačič B. Incubators for embryo culture. In: Ahlström A, Lundin K (eds). *Manual of Embryo Culture in Human Assisted Reproduction*. Cambridge: Cambridge University Press, 2021, 7–19.

Kovacic B, Vlaisavljevic V, Reljic M, Cizek-Sajko M. Developmental capacity of different morphological types of day 5 human morulae and blastocysts. *Reprod Biomed Online* 2004;**8**:687–694.

Kramer YG, Kofinas JD, Melzer K, Noyes N, McCaffrey C, Buldo-Licciardi J, McCulloh DH, Grifo JA. Assessing morphokinetic parameters via time lapse microscopy (TLM) to predict euploidy: are aneuploidy risk classification models universal? *J Assist Reprod Genet* 2014;**31**:1231–1242.

Kroener LL, Ambartsumyan G, Pisarska MD, Briton-Jones C, Surrey M, Hill D. Increased blastomere number in cleavage-stage embryos is associated with higher aneuploidy. *Fertil Steril* 2015; **103**:694–698.

La Sala GB, Nicoli A, Villani MT, Di Girolamo R, Capodanno F, Blickstein I. The effect of selecting oocytes for insemination and transferring all resultant embryos without selection on outcomes of assisted reproduction. *Fertil Steril* 2009;**91**:96–100.

Lagalla C, Coticchio G, Sciajno R, Tarozzi N, Zacà C, Borini A. Alternative patterns of partial embryo compaction: prevalence, morphokinetic history and possible implications. *Reprod Biomed Online* 2020;**40**:347–354.

Lagalla C, Tarozzi N, Sciajno R, Wells D, Di Santo M, Nadalini M, Distratis V, Borini A. Embryos with morphokinetic abnormalities may develop into euploid blastocysts. *Reprod Biomed Online* 2017; **34**:137–146.

Lane SL, Reed L, Schoolcraft WB, Katz-Jaffe MG. Euploid day 7 blastocysts of infertility patients with only slow embryo development have reduced implantation potential. *Reprod Biomed Online* 2022; **44**:858–865.

Langley MT, Marek DM, Gardner DK, Doody KM, Doody KJ. Extended embryo culture in human assisted reproduction treatments. *Hum Reprod* 2001;**16**:902–908.

Le Cruguel S, Ferré-L'Hôtellier V, Morinière C, Lemerle S, Reynier P, Descamps P, May-Panloup P. Early compaction at day 3 may be a useful additional criterion for embryo transfer. *J Assist Reprod Genet* 2013;**30**:683–690.

Lebovitz O, Michaeli M, Aslih N, Poltov D, Estrada D, Atzmon Y, Shalom-Paz E. Embryonic development in relation to maternal age and conception probability. *Reprod Sci* 2021;**28**:2292–2300.

Lehner A, Kaszas Z, Murber A, Rigo J Jr, Urbancsek J, Fancsovits P. Giant oocytes in human in vitro fertilization treatments. *Arch Gynecol Obstet* 2015;**292**:697–703.

Li M, Dang Y, Wang Y, Li J, Liu P. Value of transferring embryos derived from monopronucleated (1PN) zygotes at the time of fertilization assessment. *Zygote* 2020;**28**:241–246.

Li M, Huang J, Zhuang X, Lin S, Dang Y, Wang Y, Liu D, Li R, Liu P, Qiao J. Obstetric and neonatal outcomes after the transfer of vitrified-warmed blastocysts developing from nonpronuclear and monopronuclear zygotes: a retrospective cohort study. *Fertil Steril* 2021;**115**:110–117.

Licciardi F, McCaffrey C, Oh C, Schmidt-Sarosi C, McCulloh DH. Birth weight is associated with inner cell mass grade of blastocysts. *Fertil Steril* 2015;**103**:382–387.e382.

Lin YC, Chang SY, Lan KC, Huang HW, Chang CY, Tsai MY, Kung FT, Huang FJ. Human oocyte maturity in vivo determines the outcome of blastocyst development in vitro. *J Assist Reprod Genet* 2003;**20**:506–512.

Liu J, Wang XL, Zhang X, Shen CY, Zhang Z. Live births resulting from 0PN-derived embryos in conventional IVF cycles. *J Assist Reprod Genet* 2016;**33**:373–378.

Liu Y, Chapple V, Roberts P, Ali J, Matson P. Time-lapse videography of human oocytes following intracytoplasmic sperm injection: events up to the first cleavage division. *Reprod Biol* 2014; **14**:249–256.

Liu Y, Peng X, Liu C, Zhang S, Weng Z, Yu L, Zhou S, Huang X. Live birth derived from a markedly large polar body oocyte: a rare case report. *Zygote* 2024;**32**:170–174.

Liu Z, Jiang M, He L, Liu Y. Cell number considerations for blastocyst transfer in younger patients. *J Assist Reprod Genet* 2020; **37**:619–627.

Loutradis D, Drakakis P, Kallianidis K, Milingos S, Dendrinos S, Michalas S. Oocyte morphology correlates with embryo quality and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1999;**72**:240–244.

Lundin K, Ahlström A. Quality control and standardization of embryo morphology scoring and viability markers. *Reprod Biomed Online* 2015;**31**:459–471.

Lundin K, Bergh C, Hardarson T. Early embryo cleavage is a strong indicator of embryo quality in human IVF. *Hum Reprod* 2001; **16**:2652–2657.

Ma BX, Yang L, Tian Y, Jin L, Huang B. Cytoplasmic strings between ICM and mTE are a positive predictor of clinical pregnancy and live birth outcomes: a time-lapse study. *Front Med (Lausanne)* 2022;**9**:934327.

Machtinger R, Politch JA, Hornstein MD, Ginsburg ES, Racowsky C. A giant oocyte in a cohort of retrieved oocytes: does it have any effect on the in vitro fertilization cycle outcome? *Fertil Steril* 2011; **95**:573–576.

Machtinger R, Racowsky C. Morphological systems of human embryo assessment and clinical evidence. *Reprod Biomed Online* 2013; **26**:210–221.

Madaschi C, Aoki T, de Almeida Ferreira Braga DP, de Cássia Sávio Figueira R, Semião Francisco L, Iaconelli A Jr, Borges E Jr. Zona pellucida birefringence score and meiotic spindle visualization in relation to embryo development and ICSI outcomes. *Reprod Biomed Online* 2009;**18**:681–686.

Magdi Y. Dizygotic twin from conjoined oocytes: a case report. *J Assist Reprod Genet* 2020;**37**:1367–1370.

Magli MC, Gianaroli L, Ferraretti AP, Lappi M, Ruberti A, Farfalli V. Embryo morphology and development are dependent on the chromosomal complement. *Fertil Steril* 2007;**87**:534–541.

Magli M C, Jones G M, Lundin K, Van Den Abbeel E. The Atlas of Human Embryology: from Oocytes to Preimplantation Embryos. Preface. *Hum Reprod* 2012;**27**:i1–i1.

Marconi N, Raja EA, Bhattacharya S, Maheshwari A. Perinatal outcomes in singleton live births after blastocyst transfer: an analysis of 60,926 in vitro fertilization cycles from the United Kingdom. *Fertil Steril* 2023;**120**:312–320.

Marcos J, Pérez-Albalá S, Mifsud A, Molla M, Landeras J, Meseguer M. Collapse of blastocysts is strongly related to lower implantation success: a time-lapse study. *Hum Reprod* 2015;**30**:2501–2508.

Margalit T, Ben-Haroush A, Garor R, Kotler N, Shefer D, Krasilnikov N, Tzabari M, Oron G, Shufaro Y, Sapir O. Morphokinetic characteristics of embryos derived from in-vitro-matured oocytes and their in-vivo-matured siblings after ovarian stimulation. *Reprod Biomed Online* 2019;**38**:7–11.

Martínez-Granados L, Serrano M, González-Utor A, Ortíz N, Badajoz V, Olaya E, Prados N, Boada M, Castilla JA; Special Interest Group in Quality of ASEBIR (Spanish Society for the Study of Reproductive Biology). Inter-laboratory agreement on embryo classification and clinical decision: Conventional morphological assessment vs. time lapse. *PLoS One* 2017;**12**:e0183328.

Martins WP, Nastri CO, Rienzi L, van der Poel SZ, Gracia CR, Racowsky C. Obstetrical and perinatal outcomes following blastocyst transfer compared to cleavage transfer: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2016;**31**:2561–2569.

Massarotti C, Stigliani S, Ramone A, Bovis F, Sozzi F, Remorgida V, Cagnacci A, Anserini P, Scaruffi P. Occurrence of smooth endoplasmic reticulum aggregates in metaphase II oocytes: relationship with stimulation protocols and outcome of ICSI and IVF cycles. *Hum Reprod* 2021;**36**:907–917.

Mateizel I, Van Landuyt L, Tournaye H, Verheyen G. Deliveries of normal healthy babies from embryos originating from oocytes showing the presence of smooth endoplasmic reticulum aggregates. *Hum Reprod* 2013;**28**:2111–2117.

Mayer RB, Shebl O, Oppelt P, Reiter E, Altmann R, Enengl S, Allerstorfer C, Ebner T. Good-quality blastocysts derived from vacuolized morulas show reduced viability. *Fertil Steril* 2018; **109**:1025–1029.

Meseguer M, Herrero J, Tejera A, Hilligsøe KM, Ramsing NB, Remohí J. The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. *Hum Reprod* 2011;**26**:2658–2671.

Meseguer M, Rubio I, Cruz M, Basile N, Marcos J, Requena A. Embryo incubation and selection in a time-lapse monitoring system improves pregnancy outcome compared with a standard incubator: a retrospective cohort study. *Fertil Steril* 2012;**98**: 1481–1489.e10.

Milewski R, Kuć P, Kuczyńska A, Stankiewicz B, Łukaszuk K, Kuczyński W. A predictive model for blastocyst formation based on morphokinetic parameters in time-lapse monitoring of embryo development. *J Assist Reprod Genet* 2015;**32**:571–579.

Minasi MG, Colasante A, Riccio T, Ruberti A, Casciani V, Scarselli F, Spinella F, Fiorentino F, Varricchio MT, Greco E. Correlation between aneuploidy, standard morphology evaluation and morphokinetic development in 1730 biopsied blastocysts: a consecutive case series study. *Hum Reprod* 2016;**31**:2245–2254.

Mio Y, Maeda K. Time-lapse cinematography of dynamic changes occurring during in vitro development of human embryos. *Am J Obstet Gynecol* 2008;**199**:660.e1–660.e5.

Mizobe Y, Kuwatsuru Y, Kuroki Y, Fukumoto Y, Tokudome M, Moewaki H, Tabira M, Iwakawa T, Takeuchi K. Smooth endoplasmic reticulum cluster presence does not affect embryo ploidy. *Arch Gynecol Obstet* 2023;**307**:1607–1612.

Montag M, Liebenthron J, Köster M. Which morphological scoring system is relevant in human embryo development? *Placenta* 2011;**32** Suppl 3:S252–S256.

Montag M, Schimming T, Köster M, Zhou C, Dorn C, Rösing B, van der Ven H, Ven der Ven K. Oocyte zona birefringence intensity is associated with embryonic implantation potential in ICSI cycles. *Reprod Biomed Online* 2008;**16**:239–244.

Montjean D, Geoffroy-Siraudin C, Gervoise-Boyer M-J, Boyer P. Competence of embryos showing transient developmental arrest during in vitro culture. *J Assist Reprod Genet* 2021;**38**:857–863.

Moon JH, Zhao Q, Zhang J, Reddy V, Han J, Cheng Y, Zhang N, Dasig J, Nel-Themaat L, Behr B et al The developmental competence of human metaphase I oocytes with delayed maturation in vitro. *Fertil Steril* 2023;**119**:690–696.

Morbeck DE. Blastocyst culture in the Era of PGS and FreezeAlls: Is a 'C' a failing grade? *Hum Reprod Open* 2017;**2017**:hox017.

Motato Y, de los Santos MJ, Escriba MJ, Ruiz BA, Remohí J, Meseguer M. Morphokinetic analysis and embryonic prediction for blastocyst formation through an integrated time-lapse system. *Fertil Steril* 2016;**105**:376–384.e9.

Múgica A, Martín M, Soydan E, Esbert M, Ballesteros A, Calderón G. Relationship between day-3 embryo blastomere symmetry and implantation rate. *Fertil Steril* 2008;**90**:S342–S343.

Mumusoglu S, Yarali I, Bozdag G, Ozdemir P, Polat M, Sokmensuer LK, Yarali H. Time-lapse morphokinetic assessment has low to moderate ability to predict euploidy when patient- and ovarian stimulation-related factors are taken into account with the use of clustered data analysis. *Fertil Steril* 2017;**107**:413–421.e4.

Munné S, Alikani M, Tomkin G, Grifo J, Cohen J. Embryo morphology, developmental rates, and maternal age are correlated with chromosome abnormalities. *Fertil Steril* 1995;**64**:382–391.

Munné S, Sandalinas M, Magli C, Gianaroli L, Cohen J, Warburton D. Increased rate of aneuploid embryos in young women with previous aneuploid conceptions. *Prenat Diagn* 2004;**24**:638–643.

Mutia K, Wiweko B, Iffanolida PA, Febri RR, Muna N, Riayati O, Jasirwan SO, Yuningsih T, Mansyur E, Hestiantoro A. The Frequency of Chromosomal Euploidy Among 3PN Embryos. *J Reprod Infertil* 2019;**20**:127–131.

Nagy ZP, Janssenswillen C, Janssens R, De Vos A, Staessen C, Van de Velde H, Van Steirteghem AC. Timing of oocyte activation, pronucleus formation and cleavage in humans after intracytoplasmic sperm injection (ICSI) with testicular spermatozoa and after ICSI or in-vitro fertilization on sibling oocytes with ejaculated spermatozoa. *Hum Reprod* 1998;**13**:1606–1612.

Navarro PA, de Araújo MM, de Araújo CM, Rocha M, dos Reis R, Martins W. Relationship between first polar body morphology before intracytoplasmic sperm injection and fertilization rate, cleavage rate, and embryo quality. *Int J Gynaecol Obstet* 2009; **104**:226–229.

Nazem TG, Sekhon L, Lee JA, Overbey J, Pan S, Duke M, Briton-Jones C, Whitehouse M, Copperman AB, Stein DE. The correlation between morphology and implantation of euploid human blastocysts. *Reprod Biomed Online* 2019;**38**:169–176.

Ng ST, Chang TH, Wu TC. Prediction of the rates of fertilization, cleavage, and pregnancy success by cumulus-coronal morphology in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril* 1999; **72**:412–417.

Nguyen Q, Sommer S, Greene B, Wrenzycki C, Wagner U, Ziller V. Effects of opening the incubator on morphokinetics in mouse embryos. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2018;**229**:64–69.

Noli L, Dajani Y, Capalbo A, Bvumbe J, Rienzi L, Ubaldi FM, Ogilvie C, Khalaf Y, Ilic D. Developmental clock compromises human twin model created by embryo splitting. *Hum Reprod* 2015; **30**:2774–2784.

Orevich LS, Watson K, Ong K, Korman I, Turner R, Shaker D, Liu Y. Morphometric and morphokinetic differences in the sperm- and oocyte-originated pronuclei of male and female human zygotes: a time-lapse study. *J Assist Reprod Genet* 2022;**39**:97–106.

Otsuki J, Iwasaki T, Enatsu N, Katada Y, Furuhashi K, Shiotani M. Noninvasive embryo selection: kinetic analysis of female and male pronuclear development to predict embryo quality and potential to produce live birth. *Fertil Steril* 2019;**112**:874–881.

Otsuki J, Iwasaki T, Katada Y, Tsutsumi Y, Tsuji Y, Furuhashi K, Kokeguchi S, Shiotani M. A higher incidence of cleavage failure in oocytes containing smooth endoplasmic reticulum clusters. *J Assist Reprod Genet* 2018;**35**:899–905.

Otsuki J, Iwasaki T, Tsuji Y, Katada Y, Sato H, Tsutsumi Y, Hatano K, Furuhashi K, Matsumoto Y, Kokeguchi S et al Potential of zygotes to produce live births can be identified by the size of the male and female pronuclei just before their membranes break down. *Reprod Med Biol* 2017;**16**:200–205.

Otsuki J, Nagai Y, Chiba K. Lipofuscin bodies in human oocytes as an indicator of oocyte quality. *J Assist Reprod Genet* 2007;**24**:263–270.

Otsuki J, Okada A, Morimoto K, Nagai Y, Kubo H. The relationship between pregnancy outcome and smooth endoplasmic reticulum clusters in MII human oocytes. *Hum Reprod* 2004;**19**:1591–1597.

Pan C, Zhang H. Embryological characteristics and clinical outcomes of oocytes with heterogeneous zona pellucida during assisted reproduction treatment: a retrospective study. *Med Sci Monit* 2020; **26**:e924316.

Parriego M, Coll L, Carrasco B, Garcia S, Boada M, Polyzos NP, Vidal F, Veiga A. Blastocysts from partial compaction morulae are not defined by their early mistakes. *Reprod Biomed Online* 2024; **48**:103729.

Payne D, Flaherty SP, Barry MF, Matthews CD. Preliminary observations on polar body extrusion and pronuclear formation in human oocytes using time-lapse video cinematography. *Hum Reprod* 1997;**12**:532–541.

Payne D, Okuda A, Wakatsuki Y, Takeshita C, Iwata K, Shimura T, Yumoto K, Ueno Y, Flaherty S, Mio Y. Time-lapse recording identifies human blastocysts at risk of producing monozygotic twins. *Hum Reprod* 2007;**22**:I9–I10.

Paz MV, Chiera M, Hovanyecz P, Cicaré J, Perfumo P, Domenech L, Ventura V. Blastocysts derived from 0PN oocytes: genetic and clinical results. *JBRA Assist Reprod* 2020;**24**:143–146.

Petersen BM, Boel M, Montag M, Gardner DK. Development of a generally applicable morphokinetic algorithm capable of predicting the implantation potential of embryos transferred on Day 3. *Hum Reprod* 2016;**31**:2231–2244.

Petersen CG, Oliveira JB, Mauri AL, Massaro FC, Baruffi RL, Pontes A, Franco JG Jr. Relationship between visualization of meiotic spindle in human oocytes and ICSI outcomes: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2009;**18**:235–243.

Pierson HE, Invik J, Meriano J, Pierson RA. A novel system for rapid conversion of Gardner embryo grades to linear scale numeric variables. *Reprod Biomed Online* 2023;**46**:808–818.

Pons MC, Carrasco B, Parriego M, Boada M, González-Foruria I, Garcia S, Coroleu B, Barri PN, Veiga A. Deconstructing the myth of poor prognosis for fast-cleaving embryos on day 3. Is it time to change the consensus? *J Assist Reprod Genet* 2019;**36**:2299–2305.

Pons MC, Carrasco B, Rives N, Delgado A, Martínez-Moro A, Martínez-Granados L, Rodriguez I, Cairó O, Cuevas-Saiz I; SIG Embryology of ASEBIR. Predicting the likelihood of live birth: an objective and user-friendly blastocyst grading system. *Reprod Biomed Online* 2023;**47**:103243.

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Blastocyst culture and transfer in clinically assisted reproduction: a committee opinion. *Fertility and Sterility* 2018; **110**:1246–1252.

Practice Committee of Society for Assisted Reproductive Technology; Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Elective single-embryo transfer. *Fertil Steril* 2012;**97**:835–842.

Pribenszky C, Nilselid AM, Montag M. Time-lapse culture with morphokinetic embryo selection improves pregnancy and live birth chances and reduces early pregnancy loss: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2017;**35**:511–520. *and reproductive biology* 2018;230: 96–102.

Puissant F, Van Rysselberge M, Barlow P, Deweze J, Leroy F. Embryo scoring as a prognostic tool in IVF treatment. *Hum Reprod* 1987; **2**:705–708.

Quinn P, Harlow GM. The effect of oxygen on the development of preimplantation mouse embryos in vitro. *J Exp Zool* 1978; **206**:73–80.

Racowsky C, Stern JE, Gibbons WE, Behr B, Pomeroy KO, Biggers JD. National collection of embryo morphology data into Society for Assisted Reproductive Technology Clinic Outcomes Reporting System: associations

among day 3 cell number, fragmentation and blastomere asymmetry, and live birth rate. *Fertil Steril* 2011; **95**:1985–1989.

Raja EA, Bhattacharya S, Maheshwari A, McLernon DJ. A comparison of perinatal outcomes following fresh blastocyst or cleavage stage embryo transfer in singletons and twins and between singleton siblings. *Hum Reprod Open* 2023;**2023**:hoad003.

Rama Raju GA, Prakash GJ, Krishna KM, Madan K. Meiotic spindle and zona pellucida characteristics as predictors of embryonic development: a preliminary study using PolScope imaging. *Reprod Biomed Online* 2007;**14**:166–174.

Rattanachaiyanont M, Leader A, Léveillé MC. Lack of correlation between oocyte-corona-cumulus complex morphology and nuclear maturity of oocytes collected in stimulated cycles for intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1999;**71**:937–940.

Regin M, Spits C, Sermon K. On the origins and fate of chromosomal abnormalities in human preimplantation embryos: an unsolved riddle. *Mol Hum Reprod* 2022;**28**:gaac011. https://doi.org/10.1093/molehr/gaac011

Rhenman A, Berglund L, Brodin T, Olovsson M, Milton K, Hadziosmanovic N, Holte J. Which set of embryo variables is most predictive for live birth? A prospective study in 6252 single embryo transfers to construct an embryo score for the ranking and selection of embryos. *Hum Reprod* 2015;**30**:28–36.

Rienzi L, Balaban B, Ebner T, Mandelbaum J. The oocyte. *Hum Reprod* 2012;**27** Suppl 1:i2–i21.

Rienzi L, Capalbo A, Stoppa M, Romano S, Maggiulli R, Albricci L, Scarica C, Farcomeni A, Vajta G, Ubaldi FM. No evidence of association between blastocyst aneuploidy and morphokinetic assessment in a selected population of poor-prognosis patients: a longitudinal cohort study. *Reprod Biomed Online* 2015;**30**:57–66.

Rienzi L, Cimadomo D, Delgado A, Minasi MG, Fabozzi G, Gallego RD, Stoppa M, Bellver J, Giancani A, Esbert M et al Time of morulation and trophectoderm quality are predictors of a live birth after euploid blastocyst transfer: a multicenter study. *Fertil Steril* 2019; **112**:1080–1093.e1081.

Rienzi L, Ubaldi F, Minasi MG, Iacobelli M, Martinez F, Tesarik J, Greco E. Blastomere cytoplasmic granularity is unrelated to developmental potential of day 3 human embryos. *J Assist Reprod Genet* 2003;**20**:314–317.

Rienzi L, Ubaldi FM, Iacobelli M, Minasi MG, Romano S, Ferrero S, Sapienza F, Baroni E, Litwicka K, Greco E. Significance of metaphase II human oocyte morphology on ICSI outcome. *Fertil Steril* 2008;**90**:1692–1700.

Rienzi L, Vajta G, Ubaldi F. Predictive value of oocyte morphology in human IVF: a systematic review of the literature. *Hum Reprod Update* 2011;**17**:34–45.

Rosenbusch B, Schneider M, Gläser B, Brucker C. Cytogenetic analysis of giant oocytes and zygotes to assess their relevance for the development of digynic triploidy. *Hum Reprod* 2002;**17**:2388–2393.

Rubino P, Viganò P, Luddi A, Piomboni P. The ICSI procedure from past to future: a systematic review of the more controversial aspects. *Hum Reprod Update* 2016;**22**:194–227.

Sá R, Cunha M, Silva J, Luís A, Oliveira C, Teixeira da Silva J, Barros A, Sousa M. Ultrastructure of tubular smooth endoplasmic reticulum aggregates in human metaphase II oocytes and clinical implications. *Fertil Steril* 2011;**96**:143–149.e147.

Sacha CR, Kaser DJ, Farland LV, Srouji S, Missmer SA, Racowsky C. The effect of short-term exposure of cumulus-oocyte complexes to in vitro maturation medium on yield of mature oocytes and usable embryos in stimulated cycles. *J Assist Reprod Genet* 2018; **35**:841–849.

Salas-Vidal E, Lomelí H. Imaging filopodia dynamics in the mouse blastocyst. *Dev Biol* 2004;**265**:75–89.

Salumets A, Hydén-Granskog C, Mäkinen S, Suikkari AM, Tiitinen A, Tuuri T. Early cleavage predicts the viability of human embryos in elective single embryo transfer procedures. *Hum Reprod* 2003;**18**:821–825.

Sathananthan AH. Ultrastructural changes during meiotic maturation in mammalian oocytes: unique aspects of the human oocyte. *Microsc Res Tech* 1994;**27**:145–164.

Sauerbrun-Cutler MT, Vega M, Breborowicz A, Gonzales E, Stein D, Lederman M, Keltz M. Oocyte zona pellucida dysmorphology is associated with diminished in-vitro fertilization success. *J Ovarian Res* 2015;**8**:5.

Savio Figueira Rde C, Setti AS, Braga DP, Iaconelli A Jr, Borges E Jr. Blastocyst morphology holds clues concerning the chromosomal status of the embryo. *Int J Fertil Steril* 2015;**9**:215–220.

Sawada Y, Sato T, Nagaya M, Saito C, Yoshihara H, Banno C, Matsumoto Y, Matsuda Y, Yoshikai K, Sawada T et al Evaluation of artificial intelligence using time-lapse images of IVF embryos to predict live birth. *Reprod Biomed Online* 2021;**43**:843–852.

Sayed S, Reigstad MM, Petersen BM, Schwennicke A, Hausken JW, Storeng R. Nucleation status of Day 2 pre-implantation embryos, acquired by time-lapse imaging during IVF, is associated with live birth. *PLoS One* 2022;**17**:e0274502.

Sayed S, Reigstad MM, Petersen BM, Schwennicke A, Wegner Hausken J, Storeng R. Time-lapse imaging derived morphokinetic variables reveal association with implantation and live birth following in vitro fertilization: a retrospective study using data from transferred human embryos. *PLoS One* 2020;**15**:e0242377.

Sciorio R, Herrer Saura R, Thong KJ, Esbert Algam M, Pickering SJ, Meseguer M. Blastocyst collapse as an embryo marker of low implantation potential: a time-lapse multicentre study. *Zygote* 2020; **28**:1–9.

Scott KL, Hong KH, Scott RT Jr. Selecting the optimal time to perform biopsy for preimplantation genetic testing. *Fertil Steril* 2013; **100**:608–614.

Scott L, Finn A, O'Leary T, McLellan S, Hill J. Morphologic parameters of early cleavage-stage embryos that correlate with fetal development and delivery: prospective and applied data for increased pregnancy rates. *Hum Reprod* 2007;**22**:230–240.

Serdarogullari M, Findikli N, Goktas C, Sahin O, Ulug U, Yagmur E, Bahceci M. Comparison of gender-specific human embryo development characteristics by time-lapse technology. *Reprod Biomed Online* 2014;**29**:193–199.

Serhal PF, Ranieri DM, Kinis A, Marchant S, Davies M, Khadum IM. Oocyte morphology predicts outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1997;**12**:1267–1270.

Setti AS, Braga D, Vingris L, Iaconelli A Jr, Borges E Jr. Early and late paternal contribution to cell division of embryos in a time-lapse imaging incubation system. *Andrologia* 2021;**53**:e14211.

Setti AS, Figueira RC, Braga DP, Colturato SS, Iaconelli A Jr, Borges E Jr. Relationship between oocyte abnormal morphology and intracytoplasmic sperm injection outcomes: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011;**159**:364–370.

Setti AS, Figueira RC, de Almeida Ferreira Braga DP, Azevedo MC, Iaconelli A Jr, Borges E Jr. Oocytes with smooth endoplasmic reticulum clusters originate blastocysts with impaired implantation potential. *Fertil Steril* 2016;**106**:1718–1724.

Sfontouris IA, Lainas GT, Lainas TG, Faros E, Banti M, Kardara K, Anagnostopoulou K, Kontos H, Petsas GK, Kolibianakis EM. Complex chromosomal aberrations in a fetus originating from oocytes with smooth endoplasmic reticulum (SER) aggregates. *Syst Biol Reprod Med* 2018;**64**:283–290.

Sha QQ, Zheng W, Wu YW, Li S, Guo L, Zhang S, Lin G, Ou XH, Fan HY. Dynamics and clinical relevance of maternal mRNA clearance during the oocyte-to-embryo transition in humans. *Nat Commun* 2020;**11**:4917.

Shani AK, Haham LM, Balakier H, Kuznyetsova I, Bashar S, Day EN, Librach CL. The developmental potential of mature oocytes derived from rescue in vitro maturation. *Fertil Steril* 2023; **120**:860–869.

Shaw-Jackson C, Thomas AL, Van Beirs N, Ameye L, Colin J, Bertrand E, Becker B, Rozenberg S, Autin C. Oocytes affected by smooth endoplasmic reticulum aggregates: to discard or not to discard? *Arch Gynecol Obstet* 2016;**294**:175–184.

Shebl O, Haslinger C, Kresic S, Enengl S, Reiter E, Oppelt P, Ebner T. The hare and the tortoise: extreme mitotic rates and how these affect live birth. *Reprod Biomed Online* 2021;**42**:332–339.

Shenoy CC, Khan Z, Coddington CC, Stewart EA, Morbeck DE. Symmetry at the 4-cell stage is associated with embryo aneuploidy. *Reprod Sci* 2021;**28**:3473–3479.

Shi W, Xu B, Wu LM, Jin RT, Luan HB, Luo LH, Zhu Q, Johansson L, Liu YS, Tong XH. Oocytes with a dark zona pellucida demonstrate lower

fertilization, implantation and clinical pregnancy rates in IVF/ICSI cycles. *PLoS One* 2014;**9**:e89409.

Shoukir Y, Campana A, Farley T, Sakkas D. Early cleavage of in-vitro fertilized human embryos to the 2-cell stage: a novel indicator of embryo quality and viability. *Hum Reprod* 1997;**12**:1531–1536.

Shu Y, Gebhardt J, Watt J, Lyon J, Dasig D, Behr B. Fertilization, embryo development, and clinical outcome of immature oocytes from stimulated intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril* 2007;**87**:1022–1027.

Si J, Zhu X, Lyu Q, Kuang Y. Obstetrical and neonatal outcomes after transfer of cleavage-stage and blastocyst-stage embryos derived from monopronuclear zygotes: a retrospective cohort study. *Fertil Steril* 2019;**112**:527–533.

Siristatidis C, Papapanou M, Karageorgiou V, Martins WP, Bellos I, Teixeira DM, Vlahos N. Congenital anomaly and perinatal outcome following blastocyst- vs cleavage-stage embryo transfer: systematic review and network meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2023;**61**:12–25.

Skiadas CC, Jackson KV, Racowsky C. Early compaction on day 3 may be associated with increased implantation potential. *Fertil Steril* 2006;**86**:1386–1391.

Smith R, Barrie A, Berrisford K, Corcoran S, Davis N, Montgomery S, Oakley R, Owen S, Campbell A. Does the use of an in-house derived statistical morphokinetic algorithm, predictive of live birth, introduce any sex-ratio bias? A review of 3009 live birth outcomes. *Reproductive Biomedicine Online* 2024;**48**:104027.

Sousa M, Cunha M, Silva J, Oliveira E, Pinho MJ, Almeida C, Sá R, da Silva JT, Oliveira C, Barros A. Ultrastructural and cytogenetic analyses of mature human oocyte dysmorphisms with respect to clinical outcomes. *J Assist Reprod Genet* 2016;**33**:1041–1057.

Sousa M, Teixeira da Silva J, Silva J, Cunha M, Viana P, Oliveira E, Sá R, Soares C, Oliveira C, Barros A. Embryological, clinical and ultrastructural study of human oocytes presenting indented zona pellucida. *Zygote* 2015;**23**:145–157.

Squirrell JM, Schramm RD, Paprocki AM, Wokosin DL, Bavister BD. Imaging mitochondrial organization in living primate oocytes and embryos using multiphoton microscopy. *Microsc Microanal* 2003;**9**:190–201.

Storr A, Bilir E, Cooke S, Garrett D, Venetis CA. Fine-tuning blastocyst selection based on morphology: a multicentre analysis of 2461 single blastocyst transfers. *Reprod Biomed Online* 2019;**39**:588–598.

Storr A, Venetis CA, Cooke S, Kilani S, Ledger W. Inter-observer and intra-observer agreement between embryologists during selection of a single Day 5 embryo for transfer: a multicenter study. *Hum Reprod* 2017;**32**:307–314.

Strassburger D, Goldstein A, Friedler S, Raziel A, Kasterstein E, Mashevich M, Schachter M, Ron-El R, Reish O. The cytogenetic constitution of embryos derived from immature (metaphase I) oocytes obtained after ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril* 2010;**94**:971–978.

Subira J, Craig J, Turner K, Bevan A, Ohuma E, McVeigh E, Child T, Fatum M. Grade of the inner cell mass, but not trophectoderm, predicts live birth in fresh blastocyst single transfers. *Hum Fertil (Camb)* 2016;**19**:254–261.

Sundström P, Saldeen P. Early embryo cleavage and day 2 mononucleation after intracytoplasmatic sperm injection for predicting embryo implantation potential in single embryo transfer cycles. *Fertil Steril* 2008;**89**:475–477.

Swain JE. Decisions for the IVF laboratory: comparative analysis of embryo culture incubators. *Reprod Biomed Online* 2014;**28**:535–547.

Swain JE. Optimal human embryo culture. *Semin Reprod Med* 2015; **33**:103–117.

Swain JE. Controversies in ART: considerations and risks for uninterrupted embryo culture. *Reprod Biomed Online* 2019;**39**:19–26.

Tabibnejad N, Soleimani M, Aflatoonian A. Zona pellucida birefringence and meiotic spindle visualization are not related to the time-lapse detected embryo morphokinetics in women with polycystic ovarian syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2018; **230**:96–102.

Takahashi H, Otsuki J, Yamamoto M, Saito H, Hirata REI, Habara T, Hayashi N. Clinical outcomes of MII oocytes with refractile bodies in patients undergoing ICSI and single frozen embryo transfer. *Reprod Med Biol* 2020;**19**:75–81.

Talbot AL, Alexopoulou E, Kallemose T, Freiesleben NC, Nielsen HS, Zedeler A. Binucleated embryos at the two-cell stage show higher blastocyst formation rates and higher pregnancy and live birth rates compared to non-multinucleated embryos. *Hum Reprod Open* 2022;**2022**:hoac049.

Tannus S, Cohen Y, Henderson S, Al Ma'mari N, Shavit T, Son WY, Dahan MH. Fresh transfer of Day 5 slow-growing embryos versus deferred transfer of vitrified, fully expanded Day 6 blastocysts: which is the optimal approach? *Hum Reprod* 2019;**34**:44–51.

Tao J, Tamis R, Fink K, Williams B, Nelson-White T, Craig R. The neglected morula/compact stage embryo transfer. *Hum Reprod* 2002;**17**:1513–1518.

Ten J, Mendiola J, Vioque J, de Juan J, Bernabeu R. Donor oocyte dysmorphisms and their influence on fertilization and embryo quality. *Reprod Biomed Online* 2007;**14**:40–48.

Tesarik J, Greco E. The probability of abnormal preimplantation development can be predicted by a single static observation on pronuclear stage morphology. *Hum Reprod* 1999;**14**:1318–1323.

The Cairo Consensus Group. 'There is only one thing that is truly important in an IVF laboratory: everything' Cairo Consensus Guidelines on IVF Culture Conditions. *Reprod Biomed Online* 2020; **40**:33–60.

Thompson SM, Onwubalili N, Brown K, Jindal SK, McGovern PG. Blastocyst expansion score and trophectoderm morphology strongly predict successful clinical pregnancy and live birth following elective single embryo blastocyst transfer (eSET): a national study. *J Assist Reprod Genet* 2013;**30**:1577–1581.

Thurin A, Hardarson T, Hausken J, Jablonowska B, Lundin K, Pinborg A, Bergh C. Predictors of ongoing implantation in IVF in a good prognosis group of patients. *Hum Reprod* 2005;**20**:1876–1880.

Tian L, Xia L, Liu H, Kou YAN, Huang Z, Wu X, Fan LU, Huang J, Wu Q. Increased blastomere number is associated with higher live birth rate in day 3 embryo transfer. *BMC Pregnancy Childbirth* 2022;**22**:198.

Tiegs AW, Sun L, Patounakis G, Scott RT. Worth the wait? Day 7 blastocysts have lower euploidy rates but similar sustained implantation rates as Day 5 and Day 6 blastocysts. *Hum Reprod* 2019; **34**:1632–1639.

Tiegs AW, Tao X, Zhan Y, Whitehead C, Kim J, Hanson B, Osman E, Kim TJ, Patounakis G, Gutmann J et al A multicenter, prospective, blinded, nonselection study evaluating the predictive value of an aneuploid diagnosis using a targeted next-generation sequencing-based preimplantation genetic testing for aneuploidy assay and impact of biopsy. *Fertil Steril* 2021;**115**:627–637.

Tran D, Cooke S, Illingworth PJ, Gardner DK. Deep learning as a predictive tool for fetal heart pregnancy following time-lapse incubation and blastocyst transfer. *Hum Reprod* 2019;**34**:1011–1018.

Ubaldi FM, Capalbo A, Vaiarelli A, Cimadomo D, Colamaria S, Alviggi C, Trabucco E, Venturella R, Vajta G, Rienzi L. Follicular versus luteal phase ovarian stimulation during the same menstrual cycle (DuoStim) in a reduced ovarian reserve population results in a similar euploid blastocyst formation rate: new insight in ovarian reserve exploitation. *Fertil Steril* 2016;**105**:1488–1495.e1481.

Ueno S, Bodri D, Uchiyama K, Okimura T, Okuno T, Kobayashi T, Kato K. Developmental potential of zona pellucida-free oocytes obtained following mild in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2014; **102**:1602–1607.

Van de Velde H, De Vos A, Sermon K, Staessen C, De Rycke M, Van Assche E, Lissens W, Vandervorst M, Van Ranst H, Liebaers I et al Embryo implantation after biopsy of one or two cells from cleavage-stage embryos with a view to preimplantation genetic diagnosis. *Prenat Diagn* 2000;**20**:1030–1037.

Van den Abbeel E, Balaban B, Ziebe S, Lundin K, Cuesta MJ, Klein BM, Helmgaard L, Arce JC. Association between blastocyst morphology and outcome of single-blastocyst transfer. *Reprod Biomed Online* 2013;**27**:353–361.

Van Montfoort AP, Dumoulin JC, Kester AD, Evers JL. Early cleavage is a valuable addition to existing embryo selection parameters: a study using single embryo transfers. *Hum Reprod* 2004; **19**:2103–2108.

Van Royen E, Mangelschots K, De Neubourg D, Laureys I, Ryckaert G, Gerris J. Calculating the implantation potential of day 3 embryos in women younger than 38 years of age: a new model. *Hum Reprod* 2001;**16**:326–332.

Van Royen E, Mangelschots K, Vercruyssen M, De Neubourg D, Valkenburg M, Ryckaert G, Gerris J. Multinucleation in cleavage stage embryos. *Hum Reprod* 2003;**18**:1062–1069.

Vassena R, Boué S, González-Roca E, Aran B, Auer H, Veiga A, Izpisua Belmonte JC. Waves of early transcriptional activation and pluripotency program initiation during human preimplantation development. *Development* 2011;**138**:3699–3709.

Veeck LL, Zaninovic N. *An Atlas of Human Blastocysts*. Boca Raton, USA: CRC Press, 2003.

Vera-Rodriguez M, Chavez SL, Rubio C, Reijo Pera RA, Simon C. Prediction model for aneuploidy in early human embryo development revealed by single-cell analysis. *Nat Commun* 2015;**6**:7601.

Verlinsky Y, Lerner S, Illkevitch N, Kuznetsov V, Kuznetsov I, Cieslak J, Kuliev A. Is there any predictive value of first polar body morphology for embryo genotype or developmental potential? *Reprod Biomed Online* 2003;**7**:336–341.

Vitthala S, Gelbaya TA, Brison DR, Fitzgerald CT, Nardo LG. The risk of monozygotic twins after assisted reproductive technology: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2009; **15**:45–55.

Wale PL, Gardner DK. Time-lapse analysis of mouse embryo development in oxygen gradients. *Reprod Biomed Online* 2010;**21**:402–410.

Wale PL, Gardner DK. The effects of chemical and physical factors on mammalian embryo culture and their importance for the practice of assisted human reproduction. *Hum Reprod Update* 2016;**22**:2–22.

Wallbutton S, Kasraie J. Vacuolated oocytes: fertilization and embryonic arrest following intra-cytoplasmic sperm injection in a patient exhibiting persistent oocyte macro vacuolization—case report. *J Assist Reprod Genet* 2010;**27**:183–188.

Wang M, Gao L, Yang Q, Long R, Zhang Y, Jin L, Zhu L. Does smooth endoplasmic reticulum aggregation in oocytes impact the chromosome aneuploidy of the subsequent embryos? A propensity score matching study. *J Ovarian Res* 2023;**16**:59.

Wang Q, Ulker A, Wang H, Wu B, Yang A, Attia GR. Single live birth derived from conjoined oocytes using laser-cutting technique: a case report. *Zygote* 2022;**30**:217–220.

Wang X, Du M, Guan Y, Wang B, Zhang J, Liu Z. Comparative neonatal outcomes in singleton births from blastocyst transfers or cleavage-stage embryo transfers: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol* 2017;**15**:36.

Wang X, Xiao Y, Sun Z, Zhen J, Yu Q. Smooth endoplasmic reticulum clusters in oocytes from patients who received intracytoplasmic sperm injections negatively affect blastocyst quality and speed of blastocyst development. *Front Physiol* 2021;**12**:732547.

Weghofer A, Kushnir VA, Darmon SK, Jafri H, Lazzaroni-Tealdi E, Zhang L, Albertini DF, Barad DH, Gleicher N. Age, body weight and ovarian function affect oocyte size and morphology in non-PCOS patients undergoing intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *PLoS One* 2019;**14**:e0222390.

Wei X, Enatsu N, Furuhashi K, Iwasaki T, Kokeguchi S, Shiotani M, Otsuki J. Developmental trajectory of monopronucleated zygotes after in vitro fertilization when they include both male and female genomes. *Fertil Steril* 2022;**117**:213–220.

White CR, Denomme MM, Tekpetey FR, Feyles V, Power SG, Mann MR. High frequency of imprinted methylation errors in human preimplantation embryos. *Sci Rep* 2015;**5**:17311.

Wilding M, Di Matteo L, D'Andretti S, Montanaro N, Capobianco C, Dale B. An oocyte score for use in assisted reproduction. *J Assist Reprod Genet* 2007;**24**:350–358.

Wu J, Zhang J, Kuang Y, Chen Q, Wang Y. The effect of Day 3 cell number on pregnancy outcomes in vitrified-thawed single blastocyst transfer cycles. *Hum Reprod* 2020;**35**:2478–2487.

Wyns C, De Geyter C, Calhaz-Jorge C, Kupka MS, Motrenko T, Smeenk J, Bergh C, Tandler-Schneider A, Rugescu IA, Goossens V; European IVF Monitoring Consortium (EIM), for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). ART in Europe, 2018: results generated from European registries by ESHRE. *Hum Reprod Open* 2022;**2022**:hoac022.

Xia P. Intracytoplasmic sperm injection: correlation of oocyte grade based on polar body, perivitelline space and cytoplasmic inclusions with fertilization rate and embryo quality. *Hum Reprod* 1997;**12**:1750–1755.

Xie PY, Tang Y, Hu L, Ouyang Q, Gu YF, Gong F, Leng LZ, Zhang SP, Xiong B, Lu GX et al Identification of biparental and diploid blastocysts from monopronuclear zygotes with the use of a single-nucleotide polymorphism array. *Fertil Steril* 2018;**110**:545–554.e5.

Xu J, Yang L, Chen ZH, Yin MN, Chen J, Sun L. Oocytes with smooth endoplasmic reticulum aggregates may not impact blastocyst euploidy rate. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2022;**13**:851370.

Yakin K, Balaban B, Isiklar A, Urman B. Oocyte dysmorphism is not associated with aneuploidy in the developing embryo. *Fertil Steril* 2007;**88**:811–816.

Yalçınkaya E, Özay A, Ergin EG, Öztel Z, Özörnek H. Live birth after transfer of a tripronuclear embryo: An intracytoplasmic sperm injection as a combination of microarray and time-lapse technology. *Turk J Obstet Gyneco l* 2016;**13**:95–98.

Yan L, Huang L, Xu L, Huang J, Ma F, Zhu X, Tang Y, Liu M, Lian Y, Liu P et al Live births after simultaneous avoidance of monogenic diseases and chromosome abnormality by next-generation sequencing with linkage analyses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; **112**:15964–15969.

Yang D, Yang H, Yang B, Wang K, Zhu Q, Wang J, Ding F, Rao B, Xue R, Peng J et al Embryological characteristics of human oocytes with agar-like zona pellucida and its clinical treatment strategy. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2022;**13**:859361.

Yang Q, Zhu L, Wang M, Huang B, Li Z, Hu J, Xi Q, Liu J, Jin L. Analysis of maturation dynamics and developmental competence of in vitro matured oocytes under time-lapse monitoring. *Reprod Biol Endocrinol* 2021;**19**:183.

Yerushalmi GM, Shavit T, Avraham S, Youngster M, Kedem A, Gat I, Dorofeyeva US, Mashiach S, Schiff E, Shulman A *et al.* Day 5 vitrified blastocyst transfer versus day 6 vitrified blastocyst transfer in oocyte donation program. *Sci Rep* 2021;**11**:10715.

Yang ST, Shi JX, Gong F, Zhang SP, Lu CF, Tan K, Leng LZ, Hao M, He H, Gu YF et al Cleavage pattern predicts developmental potential of day 3 human embryos produced by IVF. *Reprod Biomed Online* 2015;**30**:625–634.

Yang Z, Zhang J, Salem SA, Liu X, Kuang Y, Salem RD, Liu J. Selection of competent blastocysts for transfer by combining time-lapse monitoring and array CGH testing for patients undergoing preimplantation genetic screening: a prospective study with sibling oocytes. *BMC Med Genomics* 2014;**7**:38.

Yi XF, Xi HL, Zhang SL, Yang J. Relationship between the positions of cytoplasmic granulation and the oocytes developmental potential in human. *Sci Rep* 2019;**9**:7215.

Yu CH, Zhang RP, Li J, A ZC. A predictive model for high-quality blastocyst based on blastomere number, fragmentation, and symmetry. *J Assist Reprod Genet* 2018;**35**:809–816.

Yuan S, Zhan J, Zhang J, Liu Z, Hou Z, Zhang C, Yi L, Gao L, Zhao H, Chen ZJ et al Human zygotic genome activation is initiated from paternal genome. *Cell Discov* 2023;**9**:13.

Zhan Q, Sierra ET, Malmsten J, Ye Z, Rosenwaks Z, Zaninovic N. Blastocyst score, a blastocyst quality ranking tool, is a predictor of blastocyst ploidy and implantation potential. *F S Rep* 2020; **1**:133–141.

Zhan Q, Ye Z, Clarke R, Rosenwaks Z, Zaninovic N. Direct unequal cleavages: embryo developmental competence, genetic constitution and clinical outcome. *PLoS One* 2016;**11**:e0166398.

Zhang H, Hu W, Zhong Y, Guo Z. Meta-analysis of the effects of smooth endoplasmic reticulum aggregation on birth outcome. *BMC Pregnancy Childbirth* 2021;**21**:374.

Zhang JQ, Li XL, Peng Y, Guo X, Heng BC, Tong GQ. Reduction in exposure of human embryos outside the incubator enhances embryo quality and blastulation rate. *Reprod Biomed Online* 2010; **20**:510–515.

Zhang WY, Johal JK, Gardner RM, Bavan B, Milki AA. The impact of euploid blastocyst morphology and maternal age on pregnancy and neonatal

outcomes in natural cycle frozen embryo transfers. *J Assist Reprod Genet* 2022;**39**:647–654.

Zhao H, Liu H, Li M, Wu K. Clinical outcomes following frozen-thawed blastocyst transfers with blastocysts derived from different cell numbers on day 3: a retrospective cohort study. *J Assist Reprod Genet* 2020;**37**:641–648.

Zhao H, Yuan P, Chen X, Lin H, Zhao J, Huang J, Qiu Q, Ji X, Zhang Q, Wang W. The aneuploidy testing of blastocysts developing from 0PN and 1PN zygotes in conventional IVF through TE-biopsy PGT-A and minimally invasive PGT-A. *Front Reprod Health* 2022; **4**:966909.

Zhao YY, Yu Y, Zhang XW. Overall blastocyst quality, trophectoderm grade, and inner cell mass grade predict pregnancy outcome in euploid blastocyst transfer cycles. *Chin Med J (Engl)* 2018; **131**:1261–1267.

Zhou W, Fu L, Sha W, Chu D, Li Y. Relationship of polar bodies morphology to embryo quality and pregnancy outcome. *Zygote* 2016; **24**:401–407.

Zhu M, Shahbazi M, Martin A, Zhang C, Sozen B, Borsos M, Mandelbaum RS, Paulson RJ, Mole MA, Esbert M et al Human embryo polarization requires PLC signaling to mediate trophectoderm specification. *Elife* 2021;**10**:e65068.

Ziebe S. Morphometric analysis of human embryos to predict developmental competence. *Reprod Fertil Dev* 2013;**26**:55–64.

Ziebe S, Lundin K, Loft A, Bergh C, Nyboe Andersen A, Selleskog U, Nielsen D, Grøndahl C, Kim H, Arce JC; CEMAS II and Study Group. FISH analysis for chromosomes 13, 16, 18, 21, 22, X and Y in all blastomeres of IVF pre-embryos from 144 randomly selected donated human oocytes and impact on pre-embryo morphology. *Hum Reprod* 2003;**18**:2575–2581.

Ziebe S, Petersen K, Lindenberg S, Andersen AG, Gabrielsen A, Andersen AN. Embryo morphology or cleavage stage: how to select the best embryos for transfer after in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1997;**12**:1545–1549.

Zou H, Kemper JM, Hammond ER, Xu F, Liu G, Xue L, Bai X, Liao H, Xue S, Zhao S et al Blastocyst quality and reproductive and perinatal outcomes: a multinational multicentre observational study. *Hum Reprod* 2023;**38**:2391–2399.

Zou Y, Pan Y, Ge N, Xu Y, Gu R, Li Z, Fu J, Gao J, Sun X, Sun Y. Can the combination of time-lapse parameters and clinical features predict embryonic ploidy status or implantation? *Reprod Biomed Online* 2022;**45**:643–651.

© The Author(s) 2025. Oxford University Press tarafından European Society of Human Reproduction and Embryology adına yayımlanmıştır.
Bu makale, özgün çalışmaya usulüne uygun atıf yapılması kaydıyla ticari olmayan yeniden kullanıma, dağıtıma ve çoğaltmaya her ortamda izin veren Creative Commons Attribution-NonCommercial License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) koşulları altında dağıtılan bir Açık Erişim makalesidir. Ticari yeniden kullanım için, baskılar ve baskı çeviri hakları konusunda lütfen reprints@oup.com adresine başvurun. Diğer tüm izinler, sitemizdeki makale sayfasında yer alan Permissions bağlantısı aracılığıyla RightsLink hizmetimizden alınabilir; ayrıntılı bilgi için lütfen journals.permissions@oup.com adresiyle iletişime geçin.
Human Reproduction, 2025, 40, 989–1035
https://doi.org/10.1093/humrep/deaf021
ESHRE Pages