

La stratégie du *freeze all*

Avantages et inconvénients

À qui la proposer ?

Advantages and disadvantages of freeze-all strategy
Who can benefit?

Khaled Mahmoud
Hanene Elloumi
Sonia Mnallah
Mohamed Khrouf
Khaled Terras

Centre Fertillia de médecine de la reproduction, clinique la Rose, Tunis, Tunisie
<drkhaledmahmoud2@gmail.com>

Résumé. Les progrès réalisés dans les techniques de culture et de cryoconservation des embryons, ont permis l'émergence de la stratégie du *freeze all*, qui consiste à différer le transfert des embryons durant un cycle sans stimulation ovarienne (SO) et donc sans les exposer à des niveaux supraphysiologiques d'hormones. Le *freeze all* permet ainsi d'éviter les effets potentiellement délétères de la SO sur la réceptivité endométriale, ainsi que le risque de survenue de syndrome d'hyperstimulation ovarienne (SHSO). Le bénéfice attendu de cette technique est une amélioration de l'efficacité et de la sécurité pour toutes les patientes subissant une SO en vue d'une fécondation *in vitro* avec injection intracytoplasmique de spermatozoïde. Les données de la littérature et les études disponibles suggèrent cependant que la stratégie du *freeze all* n'est bénéfique que pour certains groupes de patientes. Les femmes à risque de SHSO, les patientes hyperrépondeuses et les candidates au diagnostic génétique préimplantatoire sont celles chez qui la stratégie du *freeze all* est justifiée et même recommandée. Dans les autres situations, le *freeze all* ne semble apporter aucune amélioration des résultats cliniques, obstétricaux ou néonataux.

Mots clés : *freeze all*, transfert d'embryons, cryoconservation, fécondation *in vitro* (FIV), injection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI), endomètre, stimulation ovarienne

Abstract. The advances in embryo culture and cryopreservation techniques associated with the potential deleterious effects of ovarian stimulation (SO) on endometrial receptivity and the risk of ovarian hyperstimulation syndrome (SHSO) has allowed the emergence of the "freeze all" strategy. It consists in delaying the transfer of embryos during a cycle without SO and therefore not exposed to supra physiological levels of hormones. Theoretically, this strategy would improve the outcome in terms of efficacy and safety for all patients who undergo OS for IVF/ICSI. However, according to the recent publications, it appears that, in clinical practice, the strategy of freeze all would be beneficial only for some subgroups of patients: women at risk of OHSS, hyper-responders and candidates for preimplantation genetic diagnosis. In these situations, the freeze all strategy is justified and even recommended. In other situations, freeze all does not seem to bring any improvement in clinical or obstetric or neonatal outcomes.

Key words: freeze all, embryo transfer, cryopreservation, IVF, ICSI, endometrium, ovarian stimulation

Le transfert des embryons frais (TEF) durant un cycle stimulé et la congélation des embryons surnuméraires, en vue d'une utilisation ultérieure, est la stratégie conventionnelle la plus utilisée depuis les débuts de la fécondation *in vitro* (FIV). Des progrès ont depuis été réalisés, notamment concernant les conditions de culture – qui permettent désormais d'atteindre le stade de blastocyste – et les techniques de congélation. La première naissance d'un enfant après transfert d'embryon congelé (TEC) a été obtenue

en 1984, en Australie [1], grâce à une technique de congélation dite lente, avec un taux de survie < 80 %. La technique de vitrification (congélation ultrarapide), apparue dans les années 2000, a permis de simplifier la procédure de congélation et surtout d'assurer une excellente survie des embryons (≈ 100 %), sans aucun impact sur leur qualité ni sur leur capacité d'implantation [2, 3].

Plus récemment, la stratégie du *freeze all*, qui consiste à congeler tous les embryons obtenus après une

Médecine
de la **Reproduction**

Tirés à part : K. Mahmoud

doi : 10.1684/mte.2020.0774

stimulation ovarienne pour les transférer de manière différée durant un cycle non stimulé, est apparue comme une alternative au transfert frais [4, 5]. Son intérêt est d'éviter un potentiel effet délétère de la stimulation ovarienne sur la réceptivité endométriale [6], ainsi que le risque d'un syndrome d'hyperstimulation ovarienne (SHSO), principale cause de morbidité iatrogène, et qui peut être parfois très grave.

Cette stratégie du *freeze all* a par ailleurs bénéficié de l'utilisation des agonistes de la gonadolibérine (GnRH), à la place de l'hormone gonadotrope chorionique (hCG), pour déclencher la maturation finale des ovocytes. L'utilisation d'antagonistes de la GnRH dans les protocoles de stimulation permet en effet d'éviter la production du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF), responsable de l'apparition du SHSO. Néanmoins, ce mode de déclenchement par les agonistes de la GnRH est associé à une lutéolyse secondaire à la baisse rapide et prolongée de l'hormone lutéinisante (LH) endogène. En l'absence de soutien lutéal dont les modalités optimales restent à définir, une diminution des taux de grossesses et de naissances vivantes, et une augmentation des taux de fausses couches peuvent être observées en cas de transfert frais, d'où l'intérêt de la stratégie du *freeze all*.

De ce fait, la stratégie du *freeze all* est en nette progression depuis plusieurs années car elle voit ses indications s'élargir. C'est ainsi que la proportion de cycles de TEC sans transfert frais est passée de 7,9 % en 2003 à 40,7 % en 2013 aux États-Unis [7] et de 4,1 % en 2010 à 18,1 % en 2015 en Australie [8, 9].

En se basant sur les données de la littérature, cet article se propose de faire le point sur le *freeze all* quant à son rationnel, sa faisabilité et ses conséquences obstétricales et périnatales.

Quel est le rationnel de la stratégie du *freeze all* ?

Stimulation ovarienne et réceptivité endométriale

Macklon *et al.* [10] avaient rapporté, en 2000, une implantation embryonnaire en FIV durant les cycles stimulés inférieure à ce qu'elle était en cycles naturels. Les données de la littérature ont confirmé ce concept car, quel que soit le protocole de stimulation utilisé, il a été noté des modifications morphologiques, biochimiques et génomiques de l'endomètre susceptibles d'affecter sa réceptivité.

En phase périovulatoire, un aspect sécrétoire prématuré de l'endomètre est observé, avant même toute élévation de la progestérone [11], ce qui induit une avance d'ouverture de la fenêtre d'implantation par rapport au cycle naturel. En comparant des biopsies d'endomètre obtenues après stimulation ovarienne ou lors de cycles naturels chez les patientes normo-ovulantes, il a été noté une apparition très précoce de pinopodes [12] et

une expression prématurée des récepteurs des estrogènes et de la progestérone [13]. D'autres études ont également montré une détérioration de la réceptivité endométriale durant les cycles stimulés en vue d'une FIV, du fait d'une dys-synchronie glandulostromale [14-16] et d'une dysrégulation de l'expression génomique au niveau de l'endomètre [17, 18]. Une avance supérieure à trois jours compromettrait significativement l'obtention d'une grossesse après transfert frais en FIV [19, 20].

Stimulation ovarienne et contractilité utérine

Fanchin *et al.*, en 2000 et en 2001 [21, 22], puis Zhu *et al.*, en 2012 [23], ont démontré que des niveaux hormonaux supraphysiologiques pourraient augmenter la contractilité utérine et altérer de ce fait l'implantation des embryons. Ils ont mesuré la fréquence des ondes péristaltiques utérines au moment du recueil ovocytaire et ont constaté qu'elle était significativement plus élevée durant les cycles stimulés que lors des cycles naturels.

Stimulation ovarienne et élévation de la progestérone

Venitis *et al.* ont montré, en 2013 [24], au décours d'une méta-analyse de plus de 60 000 cycles de FIV, que l'élévation de la progestérone (EP) au-dessus de 1,5 ng/mL le jour du déclenchement de la maturation finale des ovocytes pouvait être associée à une diminution significative du taux de grossesse. Cette EP induirait une avance sécrétoire de l'endomètre et altérerait le profil de l'expression génomique dans l'endomètre [25, 26].

Stimulation ovarienne et risque de syndrome d'hyperstimulation ovarienne Concept d'*OHSS-free clinic*

Certaines équipes, en vue d'atteindre un risque « zéro » de survenue d'un SHSO, adoptent la stratégie du *freeze all* pour tous les cycles de FIV en utilisant une stimulation ovarienne avec antagoniste de la GnRH et un déclenchement par agoniste de la maturation finale. Cette stratégie élimine théoriquement le risque de SHSO aussi bien précoce que tardif [27].

Efficacité du *freeze all*

Compte tenu de ces données, la stratégie du *freeze all* devrait, en théorie, permettre de réaliser le transfert embryonnaire dans un environnement utérin plus physiologique et, par conséquent, conduire à une amélioration des résultats de la FIV.

La méta-analyse de Roque, en 2013 [28], a montré une augmentation de 32 % du taux de grossesse évolutive et une diminution de 17 % des fausses couches après le transfert d'embryons sélectionnés et congelés, par comparaison avec le TEF (*figure 1*).

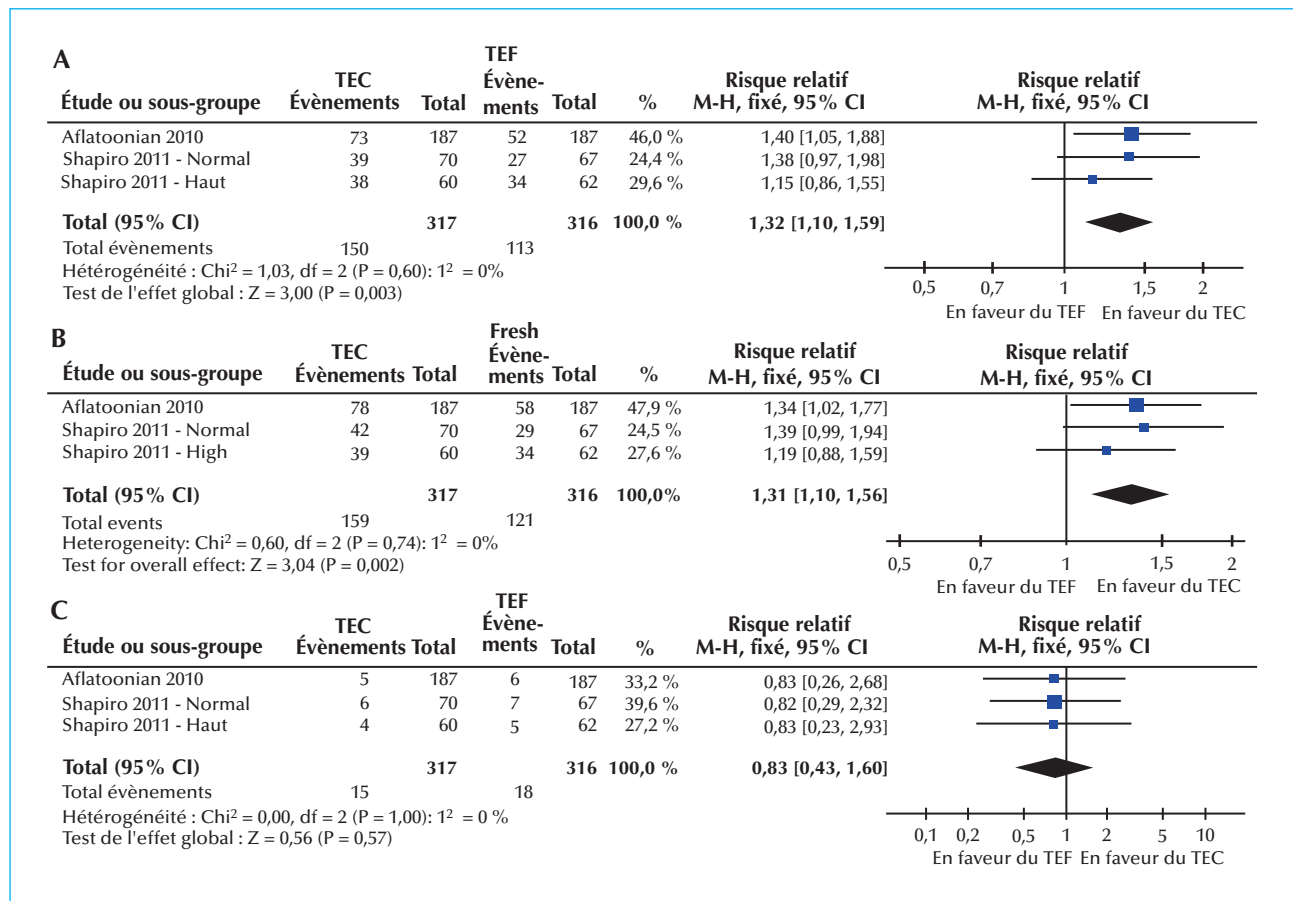


Figure 1. Comparaison de l'efficacité du TEC et du TEF (d'après la méta-analyse de Roque [28]). **A)** Taux de grossesses cliniques, **B)** taux de grossesses évolutives, **C)** taux de fausses couches.

Shapiro *et al.* [29], dans une étude de cohorte, ont évalué la stratégie de *freeze all* chez les patientes qui ont eu un échec d'implantation après transfert de blastocyste frais. Il a observé une augmentation du taux de naissances (odds ratio = 3,8) avec cette stratégie, par rapport au TEF.

Très récemment, Roque *et al.* [30] ont publié une nouvelle méta-analyse incluant onze études (5 379 patientes) répondant aux critères d'inclusion de la stratégie du *freeze all*. Le taux de naissances vivantes (TNV) pour les TEC était significativement supérieur à celui des TEF dans l'ensemble de la population FIV avec injection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI) (risque relatif [RR] = 1,12 ; IC95% : 1,01-1,24). Cependant, aucun bénéfice n'était observé dans certains sous-groupes de patientes. De plus, le taux cumulatif de naissance vivante (TCNV) pour l'ensemble des patientes n'était pas significativement différent (RR = 1,04 ; 95%IC : 0,97 à 1,11). En revanche, le risque de SHSO modéré à grave était significativement plus faible avec les TEC qu'avec les TEF (RR = 0,42 ; IC95% : 0,19-0,96).

Notons que d'autres études, très récentes, ont rapporté des résultats non consensuels en termes de TCNV, quant à la stratégie du *freeze all*. Ainsi, Li *et al.* [31] ont comparé TEC et TEF, et ont noté des TCNV similaires chez les hyperrépondeuses (56,8 *versus* 56,2 %) mais significativement plus faibles chez les normorépondeuses (33,2 *versus* 46,3 %) et chez les suboptimales répondeuses (14,6 *versus* 28,0 %). Papanikolaou *et al.* [32], dans une étude prospective observationnelle de cohorte publiée en juillet 2019 et incluant 244 patientes âgées de moins de 40 ans, normo- ou hyperrépondeuses, ont montré que, dans une stratégie de *freeze all*, le TCNV est en fait corrélé au nombre de blastocystes qui ont été obtenus et vitrifiés (figure 2)

Ainsi, en mettant en balance, d'une part, les avantages liés aux effets délétères de la stimulation ovarienne et à la sécurité, et d'autre part les questions encore en débat, liées à l'efficacité, il apparaît que la stratégie du *freeze all* ne peut être proposée de façon systématique et devrait s'intégrer dans le cadre de l'individualisation du traitement.

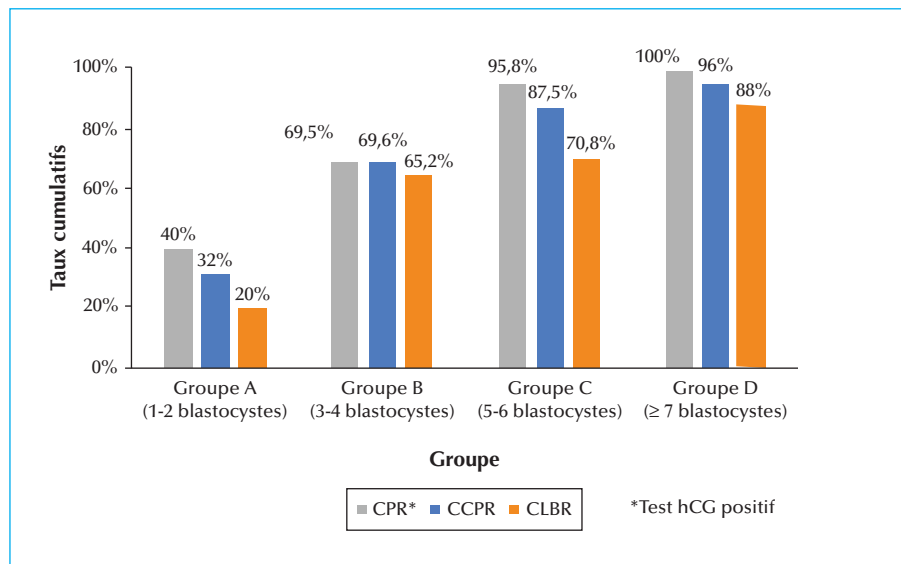


Figure 2. Corrélation entre le nombre de blastocystes obtenus et le taux cumulatif de naissances vivantes.

Qui peut réellement bénéficier du *freeze all* ?

Les patientes hyperrépondeuses

Les femmes hyperrépondeuses à la stimulation ovarienne représentent le groupe qui peut bénéficier logiquement des avantages de la stratégie du *freeze all*. Stimuler ces patientes selon un protocole utilisant un antagoniste de la GnRH, déclencher la maturité finale des ovocytes par un agoniste de la GnRH à la place de l'hCG, cryoconserver tous les embryons pour les transférer ultérieurement, durant un cycle non stimulé (concept du *OHSS-free clinique*, développé par Devroey et al. [27]) est une stratégie efficace pour éviter l'apparition du SHSO aussi bien précoce que tardif. De plus, les taux de succès sont au moins équivalents sinon supérieurs après TEC qu'avec TEF [36].

Ainsi, dans ce sous-groupe de patientes, la plupart des sociétés savantes recommandent la stratégie du *freeze all* avec un bon niveau de preuve.

Le *tableau 1* résume les principales études publiées. Elles montrent unanimement, avec un niveau de preuve variant de faible à élevé, une amélioration des résultats en termes de taux de grossesses cliniques (TGC), de TNV et de FC.

Au total, chez les patientes hyperrépondeuses à risque de SHSO, la stratégie du *freeze all* apporte efficacité et sécurité, et devrait être recommandée.

Notons que c'est souvent dans ce contexte d'hyper-réponse ovarienne à la stimulation que l'on observe une augmentation prématurée de la progestérone au moment du déclenchement. Ceci constitue bien entendu un autre

argument pour recommander le *freeze all* dans ce groupe de patientes, car les taux de grossesse après TEF sont alors diminués. Le débat n'est cependant pas clos, car de nombreuses questions persistent sur les valeurs des seuils de progestérone au-delà desquels l'implantation serait affectée. En effet, ces seuils varient selon la technique utilisée, l'horaire de son dosage et selon l'intensité de la réponse.

Les patientes normorépondeuses

Chez les normorépondeuses, la stratégie du *freeze all* ne semble pas apporter de bénéfices malgré les premières études qui, se fondant sur l'effet délétère de la stimulation ovarienne sur l'endomètre, avaient rapporté des résultats prometteurs [37, 38]. En effet, deux études cliniques randomisées ont été récemment publiées analysant la stratégie du *freeze all* chez les normorépondeuses [39, 40]. Aucun bénéfice particulier n'a été observé en termes de TNV, d'implantation (TI), de fausse couche (TFC) ni de survie de SHSO (*tableau 2*). De plus, le retard à l'obtention d'un enfant lorsqu'on applique le *freeze all* est souvent mal vécu par les couples. Au total, il n'existe pas de preuve suffisante de l'intérêt d'une telle stratégie chez les normorépondeuses.

Les faibles répondeuses à la stimulation ovarienne

À ce jour, aucune étude clinique randomisée n'a été publiée pour ce groupe de patientes, mais seulement trois études rétrospectives de cohorte dont le niveau de preuve ne pouvait être que très faible. Celik et al. [41] n'ont

Tableau 1. Principales études publiées montrant l'efficacité du freeze all chez les hyperrépondeuses.

	Étude	N patientes	Résultat principal TEC versus TF	SHSO	Niveau de preuve
Shapiro 2011 [34]	ECR	122	Grossesse évolutive 77,6 versus 65,4 % p = 0,194	-	Modéré
Wu 2014 [35]	Rétrospective	1 041	Grossesse clinique 59,1 versus 43,2 %	-	Faible
Chen 2016 [36]	ECR	1 508 OPK	TNV 49,3 versus 42,0 % P = 0,004 Fausse couche 22,0 versus 32,7 % P < 0,001	1,3 versus 7,1 % P < 0,001	Élevé
Aflatoonian 2018 [33]	ECR	240	TNV 30,3 versus 29,9 % P = 0,953	35,6 versus 42,9 % P = 0,337	Faible
Roque 2019 [30]	Méta-analyse	4 études 2 035 patientes	TNV RR : 1,16 95%IC : 1,05-1,28 P = 0,004		Faible
Li 2019 [31]	Rétrospective de cohorte	2 410	TCNV 56,8 versus 56,2 %	-	Faible

observé aucune différence significative dans ses résultats après avoir comparé des patientes faibles répondeuses (selon les critères de Bologne) ayant bénéficié d'un TEC selon la stratégie du *freeze all* à des TEF : TGC : 19 versus 25 % (p = 0,30) et TNV : 10 versus 16 % (p = 0,17). Berkknaglu *et al.* [42] ont, quant à eux, observé de meilleurs résultats avec les transferts de blastocystes congelés qu'avec le TEF : TI : 47 % versus 24 % et TNV : 48,2 versus 30,5 %. Enfin, Roque *et al.* [43] ont également constaté l'absence de bénéfice à utiliser le *freeze all* dans ce groupe de patientes (TGC : RR : 0,95 ; 95%IC : 0,52-1,73).

Notons que certaines équipes pratiquent le *freeze all* chez les faibles répondeuses dans un programme de collecte cumulative d'ovocytes. Il s'agit, dans ce cas, d'obtenir un nombre optimal de blastocystes avant de

décider du transfert. Néanmoins, on manque encore de données pour conclure sur l'intérêt d'une telle stratégie.

Patientes candidates au test génétique préimplantatoire

Les patientes candidates au test génétique préimplantatoire des embryons demandent la collecte d'un certain nombre d'ovocytes pour réunir un nombre optimal de blastocystes à biopsier pour une analyse génétique. La stratégie du *freeze all* se justifie ici, d'une part pour un cumul de blastocystes si la femme est âgée ou hyporépondeuse, d'autre part dans l'attente du résultat des tests pour sélectionner les embryons sains.

Coates *et al.* [44] ont évalué la stratégie de *freeze all* au terme d'une étude clinique randomisée chez 179 femmes

Tableau 2. Résultats de la stratégie du freeze all chez les normorépondeuses.

	N	TI %	TGC %	TFC %	TNV %	SHSO %
Shi, 2018 [39]	2 157	41,1 versus 42,3	54,4 versus 56,9	9,4 versus 11,5	48,7 versus 50,2	0,6 versus 2
Vuong, 2018 [40]	782 Sans OPK	28,7 versus 27	44,2 versus 41,7	6,4 versus 3,8	33,8 versus 31,5	0,8 versus 1

TI : taux d'implantation, TGC : taux de grossesse clinique, TFC : taux de fausse couche, TNC : taux de naissance vivante, SHSO : syndrome d'hyperstimulation ovarienne.

Tableau 3. Comparaison des conséquences obstétricales et néonatales TEC vs TEF

Conséquence	Risque d'effet absolu Différence pour 1 000	Risque relatif (95%IC)	N patientes (N études)	Qualité du niveau de preuve
Fausse couche	8 en plus/1 000	1,08 (0,72 à 1,36)	5 183 (8 études)	Très faible
GEU	3 en moins/1 000	0,88 (0,45 à 1,71)	2 765 (4 études)	Très faible
Accouchement prématuré	19 en plus/1 000	1,13 (0,93 à 1,36)	2 382 (4 études)	Faible
HTA gravidique	0 en moins/1 000	1,03 (0,48 à 2,18)	2 398 (3 études)	Faible
Prééclampsie	18 en plus/1 000	1,79 (1,03 à 3,09)	2 388 (3 études)	Modérée
Poids à la naissance	127 g en plus		1 489 (4 études)	Très faible
Anomalies congénitales	5 en moins/1 000	0,88 (0,46 à 1,69)	2 363 (2 études)	Très faible

qui avaient subi une stimulation ovarienne pour un dépistage génétique préimplantatoire des aneuploïdies. Les taux d'implantations, de grossesses évolutives et de naissances vivantes étaient plus élevés dans le groupe qui avait bénéficié d'un TEC que dans celui avec transfert frais, respectivement : 75 *versus* 67 % ($p = 0,3$), 80 *versus* 61 % ($p = 0,03$) et 77 *versus* 59 % ($p = 0,04$).

Conséquences obstétricales et périnatales du *freeze all*

Le *tableau 3* résume les conséquences obstétricales et néonatales du *freeze all*, en regard du transfert frais selon la dernière revue systématique et méta-analyse de Roque de 2109 [30], qui avait inclut 3 579 patientes à partir de toutes les études cliniques randomisées publiées jusqu'à mars 2018.

Cette analyse montre, avec un niveau de preuve modéré, que le risque de survenue d'une pré-éclampsie est plus élevé avec le TEC que le TEF, confirmant ainsi les résultats de deux autres méta-analyses publiées en 2018 [45, 46] ainsi que d'autres études [47-49]. Wei a publié dans le *Lancet*, en 2019, une vaste étude clinique randomisée multicentrique incluant vingt et un centres académiques de fertilité en Chine [50] ; il y rapportait également un risque de survenue d'une éclampsie significativement plus grand avec le TEC que le TEF : 3,1 *versus* 1,0 % ; RR : 3,13, 95%IC : 1,06 à 9,30, $p = 0,029$. À l'inverse, Shi *et al.* [51] dans leur étude multicentrique randomisée comparant 1 077 TEC en cycle naturel avec 1 080 cycles TEF, observent un risque de survenue d'une éclampsie similaire : 4,4 *versus* 3,4 % ; $p = 0,28$; RR : 1,1- 95 % IC : -1,0 à 3,4. Ces données diffèrent donc de celles de Chen *et al.* [52] qui avaient observé une différence significative : 4,4 *versus* 1,4 % ; RR : 3,12 ; 95%IC : 1,26 à 7,73, $p = 0,009$. Cependant, dans cette étude de 1 508 femmes atteintes du syndrome des ovaires polykystiques, le TEC a été effectué avec un

cycle substitué (traitement hormonal substitutif [THS]) utilisant le valérate d'œstradiol [52]. Cela tend à suggérer que le risque d'apparition de l'éclampsie serait iatrogène, lié plutôt à l'effet sur l'endomètre de l'œstradiol utilisé pour la préparation aux TEC. Il est probable que les conséquences obstétricales éventuelles du TEC sont dépendantes du protocole utilisé pour la préparation de l'endomètre et qu'elles peuvent être différentes selon que l'on utilise un cycle spontané ou un traitement par THS.

Quant aux autres complications obstétricales et néonatales, telles que l'accouchement prématuré, l'hypertension gravidique, les anomalies du poids de naissance (essentiellement la macrosomie) et les anomalies congénitales, les résultats des études sont contradictoires, et la plupart ont un niveau de preuve trop faible pour affirmer une différence significative. Les complications observées semblent ainsi liées beaucoup plus à la préparation de l'endomètre pour le transfert des embryons et peut-être aussi aux techniques de cryoconservation.

Le coût du *freeze all*

Du fait que la stratégie du *freeze all* implique une segmentation de la procédure en plusieurs étapes, un effet sur le coût est inéluctable, à quoi il faut ajouter le prolongement du stress. Aucune étude économique n'a été effectuée jusqu'à présent.

Conclusion

La preuve est faite que la stratégie du *freeze all* élimine, d'une part, le risque de survenue du SHSO, donnant un argument solide aux partisans du concept d'*OHSS-free clinic*, et évite, d'autre part, les effets négatifs de la stimulation ovarienne sur la réceptivité de l'endomètre. Il apparaît toutefois, qu'en pratique, cette stratégie ne serait pas utile dans toutes les situations. Le *freeze all* serait

recommandé, de principe, chez les patientes hyperrépondeuses et chez qui une augmentation de la sécrétion de la progestérone est observée à la fin de la stimulation ovarienne. Les patientes nécessitant un diagnostic génétique pré-implantatoire constituent également une indication de fait, en attendant une amélioration technologique permettant d'écourter le temps de l'analyse génétique pour permettre un transfert frais. Dans les autres situations, le *freeze all* ne semble apporter aucune amélioration des résultats, que ce soit sur le plan clinique, obstétrical ou néonatal. Par ailleurs, l'emploi du *freeze all* augmente nécessairement le coût, le temps à patienter pour avoir une naissance, et alourdit la procédure, ce qui pourrait avoir des conséquences psychologiques sur les couples infertiles.

Liens d'intérêt : Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Trounson A, Mohr L. Human pregnancy established following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature* 1983 ; 305 : 707.
2. Cobo A, de los Santos MJ, Castellò D, Gámiz P, Campos P, Remohí J. Outcomes of vitrified early cleavage-stage and blastocyst-stage embryos in a cryopreservation program: evaluation of 3,150 warming cycles. *Fertil Steril* 2012 ; 98 : 1138-46.
3. Herrero L, Matínez M, Garcia-Velasco JA. Current status of human: oocyte and embryo cryopreservation. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2011 ; 23 : 245-50.
4. Blockeel C, Drakopoulos P, Santos-Ribeiro S, Polyzos NP, Tournaye H. A fresh look at the freeze-all protocol: a SWOT analysis. *Hum Reprod* 2016 ; 31 : 491-7.
5. Coutifaris C. Freeze only – an evolving standard in clinical *in vitro* fertilization. *N Engl J Med* 2016 ; 375 : 577-9.
6. Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, Aguirre M, Hudson C, Thomas S. High ongoing pregnancy rates after deferred transfer through bipronuclear oocyte cryopreservation and post-thaw extended culture. *Fertil Steril* 2009 ; 92 : 1594-9.
7. Christianson MS, Sun F, Zhang H, Stern JE, Polotsky AJ. Trends in utilization of cryopreserved embryos in the United States from 2004-2013: an analysis of 411,811 cycles. *Hum Reprod* 2017 ; 32 : 496-7.
8. Harris K, Fitzgerald O, Paul R, Macalldowie A, Lee E, Chambers G. *Assisted reproductive technology in Australia and New Zealand 2014*. Sydney : National Perinatal Epidemiology and Statistics Unit, the University of New South Wales.
9. Fitzgerald O, Harris K, Paul R, Chambers G. *Assisted reproductive technology in Australia and New Zealand 2015*. Sydney : National Perinatal Epidemiology and Statistics Unit, the University of New South Wales.
10. Macklon NS, Fauser BC. Impact of ovarian hyperstimulation on the luteal phase. *J Reprod Fertil Suppl* 2000 ; 55 : 101-8.
11. Marchini M, Fedele L, Bianchi S, et al. Secretory changes in preovulatory endometrium during controlled ovarian hyperstimulation with buserelin acetate and human gonadotropins. *Fertil Steril* 1991 ; 55 : 717-21.
12. Nikas G, Develioglu OH, Toner JP, et al. Endometrial pinopodes indicate a shift in the window of receptivity in IVF cycles. *Hum Reprod* 1999 ; 14 : 787.e92.
13. Develioglu OH, Hsiu JG, nikas G, Toner JP, Oehninger S, Jones Jr HW. Endometrial estrogen and progesterone receptor and pinopode expression in stimulated cycles of oocyte donors. *Fertil Steril* 1999 ; 71 : 1040-7.
14. Basir GS, O WS, Ng EH, et al. Morphometric analysis of perimplantation endometrium in patients having excessively high oestradiol concentrations after ovarian stimulation. *Hum Reprod* 2001 ; 16 : 435-40.
15. Gorodeski IG, Sigal A, Lunenfeld B, et al. Total estradiol and progesterone receptor levels and DNA concentrations in human endometrium with nonuniform postovulatory delay of maturation. *Isr J Med Sci* 1987 ; 23 : 1198-204.
16. Molina R, Castila JA, Vergara F, et al. Luteal cytoplasmic estradiol and progesterone receptors in human endometrium: *in vitro* fertilization and normal cycles. *Fertil Steril* 1989 ; 51 : 976-9.
17. Horcajadas JA, Riesewijk A, Polman J, et al. Effect of controlled ovarian hyperstimulation in IVF on endometrial gene expression profiles. *Mol Hum Reprod* 2005 ; 11 : 195.e205.
18. Haouzi D, Assou S, Dechanet C, et al. Controlled ovarian hyperstimulation for *in vitro* fertilization alters endometrial receptivity in humans: protocol effects. *Biol Reprod* 2010 ; 82 : 679-86.
19. Ubaldi F, Bourgain C, Tournaye H, et al. Endometrial evaluation by aspiration biopsy on the day of oocyte retrieval in the embryo transfer cycles in patients with serum progesterone rise during the follicular phase. *Fertil Steril* 1997 ; 67 : 521-6.
20. Kolibianakis E, Bourgain C, Albano C, et al. Effect of ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone, gonadotropin releasing hormone antagonists, and human chorionic gonadotropin on endometrial maturation on the day of oocyte pick-up. *Fertil Steril* 2002 ; 78 : 1025-9.
21. Fanchin R, Ayoubi JM, Olivennes F, et al. Hormonal influence on the uterine contractility during ovarian stimulation. *Hum Reprod* 2000 ; 15 : 90-100.
22. Fanchin R, Ayoubi JM, Righini C, et al. Uterine contractility decreases at the time of blastocyst transfers. *Hum Reprod* 2001 ; 16 : 1115-9.
23. Zhu L, Li Y, Xu A. Influence of controlled ovarian hyperstimulation on uterine peristalsis in infertile women. *Hum Reprod* 2012 ; 27 : 2684-9.
24. Venetis CA, Kolibianakis EM, Bosdou JK, et al. Progesterone elevation and probability of pregnancy after IVF: a systematic review and meta-analysis of over 60 000 cycles. *Hum Reprod Update* 2013 ; 19 : 433-57.
25. Van Vaerenbergh I, Fatemi HM, Blockeel C, et al. Progesterone rise on HCG day in GnRH antagonist/rFSH stimulated cycles affects endometrial gene expression. *Reprod Biomed Online* 2011 ; 22 : 263-71.
26. Labarta E, Martínez-Conejero JA, Alama P, et al. Endometrial receptivity is affected in women with high circulating progesterone

levels at the end of the follicular phase: a functional genomics analysis. *Hum Reprod* 2011 ; 26 : 1813-25.

27. Devroey P, Polyzos NP, Blockeel C. An OHSS-free clinic by segmentation of IVF treatment. *Hum Reprod* 2011 ; 26 : 2593-7.

28. Roque M, Lattes K, Serra S, et al. Fresh embryo transfer versus frozen embryo transfer in *in vitro* fertilization cycles: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2013 ; 99 : 156-62.

29. Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, Aguirre M, Hudson C. Freeze-all can be a superior therapy to another fresh cycle in patients with prior fresh blastocyst implantation failure. *Reprod Biomed Online* 2014 ; 29 : 286-90.

30. Roque M, Haahr T, Geber S, Esteves SC, Humaidan P. Fresh versus elective frozen embryo transfer in IVF/ICSI cycles: a systematic review and meta-analysis of reproductive outcomes. *Hum Reprod Update* 2019 ; 25 : 2-14.

31. Li Z, Wang AY, Bowman M, et al. Cumulative live birth rates following a 'freeze-all' strategy: a population-based study. *Hum Reprod Open* 2019 ; 5 : 201.

32. Papanikolaou E, Chartomatsidou T, Timotheou E, et al. In freeze-all strategy, cumulative live birth rate (CLBR) is increasing according to the number of blastocysts formed in women <40 undergoing intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *Front Endocrinol* 2019 ; 3 : 427.

33. Aflatoonian A, Mansoori-Torshizi M, Farid Mojtahedi M, et al. Fresh versus frozen embryo transfer after gonadotropin-releasing hormone agonist trigger in gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles among high responder women: A randomized, multi-center study. *Int J Reprod Biomed Yazd Iran* 2018 ; 16 : 9-18.

34. Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, et al. Evidence of impaired endometrial receptivity after ovarian stimulation for *in vitro* fertilization: a prospective randomized trial comparing fresh and frozen-thawed embryo transfer in normal responders. *Fertil Steril* 2011 ; 96 : 344-8.

35. Wu K, Zhao H, Liu H, et al. Day 3 ET, single blastocyst transfer (SBT) or frozen-thawed embryo transfer (FET): which is preferable for high responder patients in IVF/ICSI cycles? *J Assist Reprod Genet* 2014 ; 31 : 275-8.

36. Chen ZJ, Shi Y, Sun Y, et al. Fresh versus Frozen embryos for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 2016 ; 375 : 523-33.

37. Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, Aguirre M, Hudson C, Thomas S. Evidence of impaired endometrial receptivity after ovarian stimulation for *in vitro* fertilization: a prospective randomized trial comparing fresh and frozen-thawed embryo transfer in normal responders. *Fertil Steril* 2011 ; 96 : 344-8.

38. Wong KM, van Wely M, Mol F, Repping S, Mastenbroek S. Fresh versus frozen embryo transfers in assisted reproduction. *Cochrane Syst Rev* 2017 ; 3 : CD011184.

39. Shi Y, Sun Y, Hao C, et al. Transfer of fresh versus frozen embryos in ovulatory women. *N Engl J Med* 2018 ; 378 : 126-36.

40. Vuong LN, Dang VQ, Ho TM, et al. IVF transfer of fresh or frozen embryos in women without polycystic ovaries. *N Engl J Med* 2018 ; 378 : 137-47.

41. Çelik S, Turgut NE, Yagmur E, et al. The effects of fresh embryo transfers and elective frozen/thawed embryo transfers on pregnancy outcomes in poor ovarian responders as defined by the Bologna criteria. *Turk J Obstet Gynecol* 2015 ; 12 : 132-8.

42. Berkkanoglu M, Coetzee K, Bulut H, et al. Optimal embryo transfer strategy in poor response may include freeze-all. *J Assist Reprod Genet* 2017 ; 34 : 79-87.

43. Roque M, Valle M, Sampaio M, et al. Does freeze-all policy affect IVF outcomes in poor responders? *J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol* 2017 ; 52(4) : 530-4.

44. Coates A, Kung A, Mounts E, et al. Optimal euploid embryo transfer strategy, fresh versus frozen, after preimplantation genetic screening with next generation sequencing: a randomized controlled trial. *Fertil Steril* 2017 ; 107 : 723-30.

45. Maheshwari A, Pandey S, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from the transfer of frozen thawed versus fresh embryos generated through *in vitro* fertilization treatment: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2012 ; 98 : 368-77.

46. Roque M, Valle M, Sampaio M, Geber S. Obstetric outcomes after fresh versus frozen-thawed embryo transfers: a systematic review and meta-analysis. *J Bra Assist Reprod* 2018 ; 22 : 253-60.

47. Sazonova A, Källen K, Thurin-Kjellberg A, Wennerholm UB, Bergh C. Obstetric outcome in singletons after *in vitro* fertilization with cryopreserved/thawed embryos. *Hum Reprod* 2012 ; 27 : 1343-50.

48. Ishihara O, Araki R, Kuwahara A, Itakura A, Saito H, Adamson GD. Impact of frozen-thawed single-blastocyst transfer on maternal and neo-natal outcome: an analysis of 277,042 single-embryo transfer cycles from 2008 to 2010 in Japan. *Fertil Steril* 2014 ; 101 : 128-33.

49. Opdahl S, Henningsen AA, Tiitinen A, et al. Risk of hypertensive disorders in pregnancies following assisted reproductive technology: a cohort study from the conarTaS group. *Hum Reprod* 2015 ; 30 : 1724-31.

50. Wei D, Liu JY, Sun Y, et al. Frozen versus fresh single blastocyst transfer in ovulatory women: a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet*. 2019 ; 393 : 1310-8.

51. Shi Y, Sun Y, Hao C, et al. Transfer of fresh versus frozen embryos in ovulatory women. *N Engl J Med* 2018 ; 378 : 126-36.

52. Chen ZJ, Shi Y, Sun Y, et al. Fresh versus frozen embryos for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 2016 ; 375 : 523-33.