

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ TÜP BEBEK ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ 1996 İN VİTRO FERTİLİZASYON (IVF) SONUÇLARI*

Pelin ÖÇAL, İsmail ÇEPNİ, Mehmet İDİL,
Tülay İREZ, Hülya ŞENOL, Fatma YALDIR,
Feyhan ELİBOL, Feridun AKSU

Background.- The aim of this study is to present the results of in vitro fertilization and embryo transfers (IVF-ET) carried out at Istanbul University IVF-ET Research and Practice Center in 1996 and to determine the factors affecting success by analyzing the characteristics of our infertile population.

Design.- 326 IVF cycles were applied to 285 infertile couples in 1996. Relation of women age, infertility duration, cause of infertility, ovulation protocol, number of human menopausal gonadotropin ampules number of available oocytes fertilization rate (FR) and pregnancy rate (PR) was evaluated. The effect of fresh sperm density, sperm parameteres total motile sperm after washing in relation to fertilization and pregnancy outcome was determined.

Results.- In 326 IVF cycles, transfer rate was 45% and pregnancy rate with respect to transfer was 17%. There was a significant relation between advanced women age and pregnancy ($p<0.002$) and between available oocyte and pregnancy ($p<0.0012$). When sperm density was less than 20 million/ml, 17.7 % fertilization and 2.2% pregnancy, when sperm density was more than 20 million/ml 50% fertilization and 9% pregnancy occurred ($p<0.01$). When motility was less than 50% fertilization rate was 45% and pregnancy rate was 7%, when motility was more than 50% fertilization rate was 58% and pregnancy rate was 25% ($p<0.005$). When available total motile sperm amount after preparation was less than 5 million/ml 24% fertilization and 6% pregnancy; 5 to 10 million/ml 27% fertilization and 4% pregnancy, more than 10 million/ml 64% fertilization and 10% pregnancy occurred. In 93% of our cases there was male factor.

Conclusion.- Success rates in IVF varies according to women age, oocyte number and degree of male factor.

Öçal P, Çepni İ, İdil M, İrez T, Şenol H, Yaldir F, Elibol F, Aksu F. In vitro fertilization results of the İstanbul University In Vitro Fertilization Research and Practice Center at 1996. *Cerrahpaşa J Med* 1998; 29 (3): 137-140.

GİRİŞ ▲

İstanbul Üniversitesi Tüp Bebek Araştırma ve Uygulama Merkezinin (İÜ TÜBAUM) kuruluş aşaması uzun bir süreyi kapsar. 1980 yıllarda başlayan Sperm Washing ve İntrauterin İnseminasyon CTF Kadın Doğum kliniği içinde başlamıştır. İlk Gamet İntrafallopian Transfer (GİFT) 1989'da yazarlardan M.F. Aksu tarafından CTF Kadın Doğum kliniğinde mini laparotomi altında uygulanmıştır. 1993 yılında sağlık bakanlığından geçerli izin alınması ile in vitro fertilizasyon çalışmaları kendi bağımsız ünitesinde direkt İstanbul Üniversitesine bağlı olarak başlamış, merkez yönetmeliği 28.01.1996 tarih ve 22537 sayı ile resmi gazetede yayınlanmıştır.

Bugüne kadar dört binin üstünde hasta yardımıyla üreme tekniklerinden (YÜT) yararlanmak için merkezimize başvurmuştur. İstanbul'un bu amaçlı tek kamu kuruluşudur ve

merkezimizde IUI, GIFT, ZIFT (Zigot İntrafallopian Transfer) ve IVF uygulanmaktadır. 1998 yılında da İntrasitoplazmik Sperm enjeksiyonu (ICSI) ve embriyo kriyoprezervasyon yöntemlerinin uygulanması planlanmaktadır (DPT destekli İstanbul Üniversitesi Araştırma Projesi no 96K 121230 ve 98K 122090).

İn vitro fertilizasyonda başarı oranı yapılan yoğun çalışmalara rağmen %10-%25 arasında değişmektedir. IVF'de başarıyı etkileyen birçok faktör vardır; bunlar hasta seçiminde merkezden merkeze değişen kriterler, infertil kadının yaşı, ovulasyon uygulamasında kullanılan protokoller, ovum toplama ve embriyo kültür yöntemleri, transfer edilen embriyoların sayısı ve kalitesi, erkek faktörünün çokluğu, merkezin olanakları ve deneyimi olarak sayılabilir.¹⁻³ Her IVF uygulaması hasta için yoğun stres yaratmaktadır harcanan para ve zaman hem hastaya hem topluma ağır bir yük getirmektedir. IVF merkezleri kendi olanak ve elde ettikleri sonuçları inceleyerek hasta seçimindeki kriterleri ve uyguladıkları yöntemleri değerlendirip hastalara daha uygun olan yardımla üreme tekniklerine yönlendirmelidirler. Bu amaçla elde ettiğimiz sonuçları ve başarı oranımızı değerlendirmek için her yıl merkezimizi değerlendiren raporu hazırlamaktayız. 1996 yılında uygulanan 326 NF siklusu incelenmiştir: infertil popülasyonun özelliklerini, kontrollü over hiperstimulasyonuna olan yanıtı, sperm parametreleri değerlendirilmiştir.

YÖNTEM VE GEREÇLER ▲

İÜ TÜBAUM'da 1996 yılında 285 infertil çiftte üç yüz yirmi altı siklus IVF uygulandı. Hastalara siklusun üçüncü gün hormonları, (östradiol, LH, FSH Prolaktin, TSH), endometriyum biopsisi histerosalpingografi, spermogram ve "swim up" tekniği ile hazırlanmış spermde toplam hareketli sperm miktarı tetkikleri yapılmıştır. Genellikle merkezimize müracaat edenler bu tetkiklerin bir kısmını önceden yaptırmış olduğundan eksikler tamamlanmıştır. Kontrollü ovaryum hiperstimulasyonunda (KOH) GnRHa (Buserelin asetat Suprecur nazal sprey Hoechst Ltd) 127 siklus kısa, 189 siklus uzun protokol şeklinde verildi.

Polikistik over sendromlu, endometriozisli ve siklusun 21'inci günü over kisti olup boşaltılan olgularda uzun protokol tercih edilmiştir. Siklusun üçüncü günü gonadotrop hormon (Pergonal Serono veya Humegon Organon) uygulamasına başlandı ve "step down" protokolü uygulandı. KOH'a yanıt siklusun sekizinci gününden itibaren yapılan vajinal ultrason ve östradiol, LH, progesteron hormonlarının ölçülmesi ile izlendi. En az folikülün çapı 16 mm'yi geçince folikül başına östradiol değeri 150 pg/ml üstünde ise endometrium kalınlığı üç çizgi görüntüsüne ulaşınca 10.000 İÜ HCG (Pregnyl Organon veya Profası Serono) yapıldı. Oosit toplanması vajinal yolla yapılan folikül aspirasyon yöntemi ile HCG verilmesinden 36 saat sonra gerçekleştirildi. Oositlerin olgunluk derecelerine göre 4-6 saat sonra oosit başına 100.000 ile 150.000 motil spermatozoid olacak şekilde insemine edildiler. Bundan 16-18 saat sonra pronukleus, 42 saat sonra embriyo gelişimi değerlendirildi. Hasta yaşı ve embriyo kalitesi dikkate alınarak hastaya en fazla dört embriyo transfer edilmiştir. Luteal faz üç gün ara ile yapılan 1500 ÜHCG veya 100 mg progesteron İM ile desteklendi. Sperm parametreleri WHO ve morfoloji Kruger kriterlerine göre değerlendirildi.^{5,6} IVF için sperm yıkama yüzdürme (swim up) veya perkoll gradient tekniği ile hazırlandı. Klinik gebelik ultrasonda gebelik kesesinin görülmesi ve/veya abortus materyalinde villozitelere varlığı ile tanımlandı. Kimyasal gebelik aspirasyondan 11 gün sonra bakılan HCG değerinin 80 mIU/ml'nin üzerinde olması halinde, ilerleyen gebelik yirmi haftayı geçen gebelik olarak kabul edildi. Hastanın yaşı, infertilite süresi kısa veya uzun protokol kullanımı, human menopozal gonadotropin ampul sayısı ve oosit sayısının gebelik ile ilişkisi regresyon analizi ile değerlendirildi. Sperm parametrelerinin incelenmesinde sperm konsantrasyonu için 20 milyon/ml'nin üstü ve 20 milyon/ml'in altı; motilite için % 50'in altı ve üstü; preparasyon sonrası elde edilen total motil sperm'de 5 milyonun altı, 5 ile 10 milyon arası ve 10 milyonun üstü sınır alınarak fertilizasyon ve gebelik ilişkisine Student-t test ve ki-kare testi ile bakıldı.

BULGULAR ▲

1996 yılında 285 hastaya 326 siklus IVF uygulandı 149 siklusta transfer yapıldı 26 gebelik oluştu. Kadın hastaların yaş ortalaması 32.5±4.3 yıl (20-40), ortalama infertilite süresi

10.1±4.4 yıl (1.5-25) transfer oranı % 45, aspirasyona göre gebelik % 7.9, transfere göre gebelik % 17.4 olarak bulundu (Tablo I).

Tablo I. 1996 yılında invitro Fertilizasyon Uygulaması Yapılan İnfertil Çiftlerin Özellikleri

Siklus sayısı	: 326
Olgu sayısı	: 285
Transfer (%)	: 149(45.7)
Gebelik	: 26(17.4)
Canlı doğum (%)	: 15(10.7)
Kadın yaşı	: 32.5 (+/-)5.4; (20-24 yaş)
İnfertilite süresi (yıl)	: 10.1 (+/-)4.4; (1.5-25 YIL)

Tablo II. Olguların İnfertilite Özellikleri

Erkek Faktörü:	303(% 93)
Tubal Faktör:	158(% 49)
Ovulatuvar faktör:	85(% 26)
Açıklanmayan:	12(% 3.7)
Diğer:	37(% 12.5)

Hastaların infertilite nedenleri Tablo II'de gösterilmiştir. 326 siklusta % 93 erkek faktörü (n=303), % 49 tubal faktör (n=158), % 26 ovulatuvar faktör (n=85), %3.7 açıklanamayan infertilite (n=12) bulunmuştur. KOH da GnRHa 189 siklusta uzun protokol (% 58), 127 siklusta kısa protokol (% 39) şeklinde kullanıldı. Siklusların % 3 GnRHa kullanılmadı. Bir siklusta kullanılan HMG ampul sayısı ortalama 23.4±8.7 (10-79) olup elde edilen oosit sayısı 8.7±5.7 (1-28) oldu. Gebelik ile infertilite nedeni, hasta yaşı, kısa veya uzun protokol uygulaması, HMG ampul sayısı ve oosit sayısı arasındaki ilişki incelendiğinde: hasta yaşının ilerlemesi ile gebelik oranının düşmekte ($p<0.002$) ve oosit sayısının artması ile gebelik oranının artmakta olduğu gözlemlendi. ($p<0.012$).

Tablo III. İnfertil Kadınların Yaş Gruplarına Göre Dağılımları ve Gebelik Yüzdesi

Yaş Grupları	Siklus	Gebelik	%
20-25	15	4	260
26-30	63	8	12.5
31-35	11	85	4.2
36-40	117	9	7.6
>40	13	0	0

Tablo IV. Sperm Konsantrasyonu ile Fertilizasyon ve Gebelik Arasındaki İlişki

10 ⁶ /ml	Siklus sayısı	Fertilizasyon (%)	Gebelik (%)
<5	4	1(% 25)	1(% 25)
5-10	7	0(% 0)	0(% 0)
10-20	34	7(% 20)	0(% 0)
>20	281	141(% 50)	25(% 8.9)

Tablo V. Sperm Motilitesi ile Fertilizasyon ve Gebelik Arasındaki İlişki

Motilite(%)	Siklus	Fertilizasyon(%)	Gebelik(%)
<% 50	314	142(45)	23(7)
>% 50	12	72(58)	3(25)

Tablo III'de yaş gruplarına göre gebelik oranları gösterilmektedir: 35 yaş ve bunun altında gebelik %8.6 iken 35 yaşın üzerinde bu oran %7'ye düşmektedir. 326 siklusta sperm parametrelerinin incelenmesinde: oligozoospermisi olan olgularda (20 milyon/ml'nin altında) 45 siklusta % 17.7 transfer ve % 2.2 gebelik olurken 20 milyon/ml'nin üstünde 281 siklusta % 49.5 transfer % 9 gebelik oluşmuştur (p<0.01) (Tablo IV). Taze spermde motilite % 50'nin altında 314 siklusta % 45 transfer % 7 gebelik oluştu, motilite % 50'nin üzerinde 12 siklusta % 58 transfer % 25 gebelik oluştu (p<0:05) (Tablo V).

IVF için "swim up" veya "percoll gradian" tekniği uyguladıktan sonra elde edilen total hareketli sperm miktarı incelendiğinde beş milyon/ml'den az motil olgularında transfer % 23.8, gebelik % 6.4 beş ile on milyon/ml arası transfer oranı % 27; gebelik % 4; on milyon/ml'nin üstünde transfer oranı % 64.4; gebelik % 10'a yükselmektedir (Tablo VI).

Tablo VI. IVF için Sperm Hazırlandıktan Sonra Elde Edilen Toplam Hareketli Sperm Miktarının Sonuçlara Etkisi.

10 ⁶ /ml	Siklus sayısı	Fertilizasyon(%)	Gebelik(%)
5	109	26(23.8)	7(6.4)
5-10	48	13(27)	2(4.16)
>10	169	110(65)	17(10)

TARTIŞMA ▲

Günümüzde IVF-ET uygulamalarında gebelik oranı % 10 ile % 25 arası değişmektedir. Bizim IVF uygulanan olgularımızda transfer oranı % 45, transfere göre gebelik % 17.4 canlı doğum % 10.7 olmuştur. Merkezimizde IVF'un yanı sıra IUI ve GIFT'de uygulanmaktadır. En az bir tubası açık olan hastaya üç kez IUI ve ardından GIFT uygulanmaktadır. Dolayısıyla IVF grubuna başvuran hastalar bu iki yöntemden gebe kalamayan hastalardan oluşmaktadır, bu da fertilitesi düşük bir popülasyon oluşturup IVF sonuçlarını kötü yönde etkilemektedir.

İn vitro fertilizasyonda başarıyı etkileyen faktörleri incelediğimizde literatürle uyumlu olarak kadın hastaların yaşı ortaya çıkmaktadır.^{7,8} Kadının yaşının ilerlemesi ile gonadotropinlere karşı ovaryumların yetersiz yanıtı iptal edilen siklus sayısını arttırmaktadır üretilen oositlerin ve embriyoların kalitesini düşürmektedir.⁹⁻¹¹ SART'ın verilerinde 40 yaşın altında iptal edilen siklus % 12 doğum oranı % 24 iken 40 yaşın üstünde iptal edilen siklus % 23'e yükselmekte doğum oranı % 9'a düşmektedir.¹² Bizim olgularımızda 35 yaşın altında gebelik oranı %8.5 iken 35 yaşın üstünde bu oran %7'ye düşmektedir. Kadın hastalarımızın %40'nın 35 yaşın üstünde olması sonuçlarımızı olumsuz etkileyen önemli bir faktör olarak kabul edilmiştir.

Birçok araştırmada erkek faktörünün çokluğu başarıyı etkileyen bir diğer önemli neden olarak bulunmuştur.^{3,13} Sperm parametrelerinin hangilerinin döllemeyi olumsuz etkilediği çeşitli çalışmalara konu olmuştur. Bazı çalışmacılar sperm morfolojisinin önemini vurgularken diğerleri total hareketlilik oranına dikkat çekmişlerdir.¹⁴⁻¹⁶ Çalışmalarımızda taze ve preparasyon sonrası sperm yoğunluğu ve hareketliliğinin dölleme ve gebelik ilişkisine bakılmıştır. Sperm yoğunluğu 20 milyon/ml'nin üstünde iken % 50 embriyo transferi yapılırken, 20 milyon/ml altında embriyo transferi % 18'e düşmektedir. Hareketlilik % 50'nin üstünde iken % 58 embriyo transferi yapılırken, motilite % 50'nin altında olunca ise embriyo transferi %45 bulunmuştur.

Toplam hareketli sperm oranı yükseldikçe fertilizasyon artmaktadır.¹⁷ Olgularımızda total motil sperm 10 milyonun üstünde olunca transfer %65, total motil sperm 5 milyonun altında ise embriyo transferi %23 olarak saptanmıştır.

Erkek faktörü in vitro fertilizasyon başarısını azaltmaktadır. Bizim infertil popülasyonumuzda da %93 erkek faktörü bulunmaktadır. Mikroenjeksiyon tekniğinin başlaması ile bu infertil çiftlerde dölleme ve gebelik şansının artacağı muhakkaktır. Sonuç olarak olgularımızda erkek faktörünün çokluğu ve kadınların yaşının yüksek olması başarılarımızı olumsuz etkilemektedir.

ÖZET ▲

Amacı 1996 yılında İstanbul Üniversitesi Tıp bebek araştırma ve uygulama merkezinde uygulanan IVF sikluslarının sonuçlarını sunmak ve infertil popülasyonumuzun özelliklerini inceleyerek başarıyı etkileyen faktörleri belirlemek olan çalışmamızda 285 çiftte 326 siklus IVF uygulandı. Kadının yaşı, infertilite süresi, infertilite nedeni, ovulasyon protokolü, HMG ampul sayısı, elde edilen oosit sayısının dölleme ve gebelik ile ilişkisi değerlendirildi. Semen parametrelerinde taze spermde. yoğunluk ve motilitenin, preparasyon sonrası elde edilen toplam hareketli sperm dölleme ve gebelik oluşumuna etkisi değerlendirilmiştir.

326 IVF siklusunda transfer oranı % 45, transfere göre gebelik %17 olmuştur. Kadının yaşının ilerlemesi ile gebelik arasında ($p<0.002$) ve elde edilen oosit ile gebelik arasında ($p<0.0012$)

anlamli ilişki bulunmuştur. Sperm yoğunluğu 20 milyon/ml'nin altında % 17.7 döllenme, % 2.2 gebelik olurken 20 milyon/ml'nin üstünde döllenme %50, gebelik % 9 olmuştur (p<0.01). Hareketlilik %50'nin altında olunca döllenme % 45, gebelik %7 bulunurken hareketlilik % 50'nin üstünde olunca döllenme % 58, gebelik % 25 olmuştur (p<0.005). Hazırlandıktan sonra elde edilen toplam hareketli sperm miktarı 5 milyon/ml'nin altında transfer % 24, gebelik %6; 5-10 milyon/ml arası transfer % 27, gebelik % 4; 10 milyon/ml'nin üstünde döllenme % 65, gebelik % 10'a yükselmektedir. Olgularımızın % 93'nde erkek faktörü bulunmaktadır.

IVF'de başarı oranı kadınların yaşı, ürettikleri oosit sayısı ile erkek faktörünün çokluğuna bağlı olarak değişmektedir.

KAYNAKLAR ▲

1. Nayuelu PL, Gook DA, Hepworth G, Lopata A, Johnston WIH. Prediction of outcome in human in vitro fertilization based on follicular and simulation response variables. *Fertil Steril* 1989; 51: 117-125.
2. Puissanl F, Vanysselberge M, Barlov P, Deweze J, Leroy F. Embryo scoring as a prognostic tool in IVF treatment. *Hum Reprod* 1987; 2: 705.
3. Mahadevan MM, Trounson AO. The influence of seminal characteristics on the success rate of human invitro fertilization. *Fertil Steril* 1984; 42: 400.
4. Rabin D, Qadeer U, Steir V. A cost and outcome model of fertility treatment in a managed care environment. *Fertil Steril* 1996; 66: 896-903.
5. World Health Organization: WHOI Laboratory manual for the examination of human semen and semen-mucus interaction. 2nd ed. Cambridge: The Press Syndicate of the Universty of Cambridge. 1989; 27.
6. Kruger TF, Acosta AA, Simmons KF, et al. New method of evaluating sperm morphology with predictive value for human in vitro fertilization. *Urology* 1987; 30: 248.
7. Check JH, Lurie D, Callan C, Baker A, Benfer K. Comparison of the cumulative probability of pregnancy after in vitro fertilization-embryo transfer by infertility factor and age. *Fertil Steril* 1994; 61: 257.
8. Padilla SL, Garcia JE. Effect of maternal age and number of in vitro fertilization procedures on pregnancy outcom. *Fertil Steril* 1989; 52: 270-273.
9. Tan SL, Royston P, Campbell S, Jacobs HS, Betts J, Mason B, et al. Cumulative conception and livebirth rates after in vitro fertilization. *Lancet* 1992; 339: 1390-1394.
10. Toner JP, Philput CB, Jones GS, Muasher SJ. Basal follicle stimulating hormone level is a better predictor of in vitro fertilization performance than age. *Fertil Steril* 1991; 55: 784-791.
11. Roest J, Van Heusden A, Mous H, Zeilmaker G, Verhoeff A. The ovarian response as a predictor for successful in vitro fertilization treatment after the age of 40 years. *Fertil Steril* 1996; 66: 969-973.
12. Assisted reproductive technology in the United States and Canada: 1994 results generated from the American Society for Reproductive Medicine/Society for Assisted Reproductive Technology Registry. *Fertil Steril* 1996; 66: 697.
13. Ben Chetrit A, Senoz S, Greenblatt EM, Casper RF. In vitro fertilization outcome in the presence of severe male factor infertility. *Fertil Steril* 1995; 63: 1032.
14. Kruger TF, Acosta AA, Simmons KF, Swanson RJ, Matta JF, Oehninger S. Predictive value of abnormal sperm morphology in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1988; 49: 112-117.
15. Talbert LM, Hammond MG, Halme J, Orand M, Fryer JG, Ekstrom RD. Semen parameters and fertilization of human oocytes in vitro. A multivariable analysis. *Fertil Steril* 1988; 48: 270-277.
16. Comhaire FH, Vermeulen L, Hinting A, Schoonjans F. Accuracy of sperm characteristics in predicting the in vitro fertilizing capacity of semen J In Vitro Fer Embryo Transf 1988; 5: 326-331.
17. epni İ, Oal P, İdil M, Oz U, Duran A, Elibol F, Şenol H, Yaldır F, İrez T, Aksu F. Standart IVF ET'de sperm parametrelerinin değerlendirilmesi ve fertilizasyon üzerine olan etkileri. *Türk Fertilitte Dergisi* 1996; 4: 362.

-
- **Anahtar Kelimeler:** İn vitro fertilizasyon, Döllenme, Yaş, Over yanıtı, Sperm parametreleri; **Key Words:** IVF-ET, Fertilization, Age, Ovarian response, Sperm parameters; **Alındığı Tarih:** 11 Haziran 1998; Uzm. Dr. Pelin Oal, Uzm. Dr. İsmail Çepni, Prof. Dr. Mehmet İdil, Prof. Dr. Tülay İrez, Embryolog Hülya Şenol, Embryolog Fatma Yaldır, Embryolog Feyhan Elibol, Prof. Dr. Feridun Aksu:

İstanbul Üniversitesi Tüp Bebek Araştırma ve Uygulama Merkezi. *Yazışma Adresi (Address)*: Dr. F. Aksu, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, 34303, Cerrahpaşa, İstanbul.