

**YÜT Kullanılan Olgularda 2. Gün ve 3. Gün Embriyo Transferi Sonuçlarının Retrospektif Olarak Karşılaştırılması****Retrospective Comparison of Results of Day 2 and Day 3 Embryo Transfers in ART**

Erkan ÇAĞLIYAN, Zeynep KORKMAZ, Emre Recep OKYAY, Erbil Ömer DOĞAN, Bülent GÜLEKLİ

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum A.B.D., İzmir, Türkiye

**ÖZET**

**Amaç:** Yardımcı üreme tekniği kullanılan hastalarda embriyo transferi geleneksel olarak embriyonun 2-8 hücre olduğu klivaj evresinde, oosit toplanmasından 2 gün sonra yapılır. Transferin bir gün geciktirilmesi implantasyon başarısını artırabileceği gibi endometriyaldiferansiyasyonun gelişmesine de olanak tanıyabilir ve daha iyi gebelik sonuçları ile ilişkili olabilir.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmada Ocak 2005 ile Şubat 2013 arasında, Dokuz Eylül Tüp Bebek Merkezi'nde ICSI ile IVF uygulanan 1793 hastanın verileri tarandı. Bu hastalardan 86'sı verilerin eksik olması nedeniyle çalışmaya alınmadı. Rekküren gebelik kaybı olan olgular (n=32) ve HSG'de uterin kavitede anormallik tespit edilmiş olan olgular (n=20) çalışmadan dışlandı. Çalışmaya toplam 1655 hasta dahil edildi.

**Bulgular:** Her iki grup arasında yaş, infertilite nedeni ve bazal hormon düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı. Tedaviye başlama günündeki antralfolikül sayısı 2. gün ve 3. gün transfer uygulanan hastalar arasında anlamlı olarak farklı idi (3.2vs 4.2, p<0.001). Ortalama toplanan oosit sayısı, total elde edilen embriyo sayısı ve fertilizasyon oranı anlamlı olarak 3. gün transfer uygulanan grupta yüksek saptandı (p<0.001). 2. gün ve 3. gün transfer uygulanan hastalarda implantasyon oranı (%33.7vs %48.4) ve klinik gebelik oranı (%21.3 vs %36.3) istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.001). Canlı doğum oranları karşılaştırıldığında 3. gün transfer yapılan grupta, 2. gün transfer yapılan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı (%32.7vs % 18, p<0.001).

**Sonuç:** Çalışmamız sonucu 3. gün embriyo transferi yapılan hastalarda gebelik sonuçlarının, 2. gün embriyo transferi yapılan hastalara göre anlamlı olarak daha iyi olduğunu saptadık.

**Anahtar Kelimeler:** Embriyo transferi, IVF, ICSI, 2. gün, 3.gün

**ABSTRACT**

**Aim:** In ART cycles, embryo is transferred at clivagestageconventionally, whenembryocontains 2-8 cells. Onedaydelay at transfer maylead endometrial differentiation and improveimplantationrates and pregnancyoutcomes.

**Material and Methods:** Inthisstudy, 1793 patients' data who were treated with IVF and ICSI at Dokuz Eylül IVF Center between January 2003 and February 2013 was evaluated retrospectively. 86 patients with missing data, 32 patients with reccurent pregnancy loss and 20 patients with abnormal HSG results were excluded. 1655 patients were included to the study.

**Results:** Age, cause of infertility and basal hormone levels were not significantly different between day 2 and day 3 transfer groups. Antral follicule count was significantly higher in day 3 transfer group (3.2vs 4.2, p<0.001). Retrieve doocyte number, total embryo number and fertilization rate weresignificantly higher in day 3 transfer group (p<0.001). Differences inimplantationrate (%33.7 vs %48.4) and clinical pregnancy rate (%21.3 vs %36.3) between day 2 and day 3 transfer groups were statistically significant (p<0.001). Live birth rate was statistically higher in day 3 transfer group (%32.7vs % 18, p<0.001).

**Conclusion:** Cycle and pregnancy out comes were significantly better in day 3 transfer group.

**Key Words:** Embrional transfer, IVF, ICSI, 2. day, 3 day

Yazışma Adresi / Correspondence Address:

Erkan ÇAĞLIYAN

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İzmir - Turkey

Phone: +90 530 235 99 19 E-mail: erkcagliyan@yahoo.com

Geliş Tarihi/Received : 28.06.2014

Kabul Tarihi/ Accepted :24.09.2014

## Giriş

IVF uygulanan hastalarda embriyo transferi geleneksel olarak embriyonun 2-8 hücre olduğu klivaj evresinde, oosit toplanmasından 2 gün sonra yapılır [1]. Ancak kültür medyumlarındaki gelişme ile embriyoların kültürde daha uzun süre uygun olarak korunabilmesi imkanı oluşturmuştur[2]. Bunun sonucu olarak embriyoların daha uzun süre in vitro gelişimleri sağlanmıştır. Kültürde daha uzun süre takip edilen embriyolarda transfer için en iyi kalite embriyoyu belirleme şansını artmaktadır [3]. Transferin 1 gün geciktirilmesi implantasyon başarısını arttırabileceği gibi endometrial diferansiyasyonun gelişmesine de olanak tanıyabilir [4], [5].

Bu bilgiler ışığında IVF uygulanacak olgularda 2. gün ve 3. gün embriyo transferinin sonuçlarını karşılaştırmak amacıyla retrospektifbir çalışma planladık.

## Gereç ve Yöntemler

Çalışmada Ocak 2005 ile Şubat 2013 arasında, Dokuz Eylül Tüp Bebek Merkezi'nde ICSI ile IVF uygulanan 1793 hastanın verileri tarandı. Bu hastalardan 86'sı verilerin eksik olması nedeniyle çalışmaya alınmadı. Rekküren gebelik kaybı olan olgular (n=32) ve HSG'de uterin kavitede anormallik tespit edilmiş olan olgular (n=20) çalışmadan dışlandı. Çalışmaya toplam 1655 hasta dahil edildi.

Çalışmamızda ovaryan stimülasyon ekzojen gonadotropin uygulaması ile sağlandı. Gonadotropin stimülasyonunun 6. gününde hastalara GnRH antagonisti uygulandı. Menstruasyon sonrası 2. - 3. günlerde gonadotropin uygulamasına başlandı. Başlangıç dozu hastanın yaşı, ovaryan rezervi ve antral follikül sayısı gibi faktörler göz önüne alınarak belirlendi. Doz ayarlaması, folliküler gelişim ve endometrial kalınlığın değerlendirildiği seri transvajinal USG uygulaması ile hastaların stimülasyona cevabına göre yapıldı. USG takibinde en az 3 follikül  $\geq 16$ mm. boyutuna ulaştığında 10.000IU hCG uygulandı ve 36 saat sonra oosit toplandı. Oosit toplama gününden itibaren luteal destek amacıyla tüm hastalara günlük vaginal progesteron jel uygulandı. Elde edilen uygun embriyo sayısına göre oosit toplanması sonrası 2. gün ya da 3. günde embriyo transferi gerçekleştirildi. Embriyo transferi sonrası 14. günde serum  $\beta$ -hCG değeri ölçülerek gebelik değerlendirildi. Klinik gebelik, fetal kalp atımı izlenen intrauterin gebelik olarak tanımlandı. Canlı doğum ise 24. gestasyonel haftayı tamamlamış fetusların doğumu olarak tanımlandı.

Çalışmanın birincil amacı, 2. gün ve 3. gün embriyo transferi yapılmış olan hastalarda canlı doğum oranlarının karşılaştırılmasıdır. İkincil amaçlar ise 2. gün ve 3. gün embriyo transferi yapılmış olan hastalarda implantasyon oranı, klinik gebelik oranı, çoğul doğum oranı, toplam tedavi süresi, toplam gonadotropin dozu, toplam oosit sayısı, MII sayısı, fertilizasyon yüzdesi ve klivaj yüzdesinin karşılaştırılmasıdır.

İstatistiksel analizler SPSS 15.0 programı kullanılarak yapılmıştır. Fischer's exact test ve ki-kare testleri kullanılmıştır. Bağımsız değişkenlerin değerlendirilmesi için multivaryant lineer regresyon analizi uygulanmıştır. P değerinin <0.05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Çalışma için Etik Kurul Onayı alınmıştır.

## Sonuçlar

Grupların demografik özelliklerinin karşılaştırılması Tablo-1'de gösterilmiştir. Her iki grup arasında yaş, infertilite nedeni ve bazal hormon düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı. Tedaviye başlama günündeki antral follikül sayısı 2. gün ve 3. gün transfer uygulanan hastalar arasında anlamlı olarak farklı idi (3.2vs 4.2, p<0.001). Ayrıca iki grup arasında başlangıç gonadotropin dozu, toplam gonadot-

ropin dozu, stimülasyon süresi ve hCG günü antral follikül sayısı anlamlı olarak farklı tespit edildi (Tablo-1).

**Tablo-1** Grupların demografik ve klinik özellikleri

	2. gün	3. gün	p
Siklus Sayısı	722	933	
Ortalama yaş (min-max)*	32.7 $\pm$ 4.7 (19-47)	31.1 $\pm$ 4.6 (20-46)	NS
Primer infertilite	577 (79.9)	732 (78.5)	NS
İnfertilite Nedeni (%)			NS
Kadın faktörü	204 (28.3)	239 (25.6)	
Erkek faktörü	232 (32.1)	316 (33.9)	
Kadın ve erkek faktörü	83 (11.5)	87 (9.3)	
Açıklanamayan infertilite	203 (28.1)	290 (31.1)	
Diğer faktörler	0 (0)	1 (0.1)	
Ortalama İnfertilite süresi (yıl)	7.9 $\pm$ 4.9	6.7 $\pm$ 4.5	<0.001
Bazal hormon düzeyleri			NS
FSH (mIU/mL)	8.09	7.3	
E <sub>2</sub> (mIU/mL)	57.3	54.9	
TSH (IU/mL)	1.86	1.86	
PRL (ng/mL)	14.7	14.8	
Antral follikül sayısı $\pm$ SD (n)	3.2 $\pm$ 5.7	4.2 $\pm$ 6.8	<0.001
Stimülasyon süresi $\pm$ SD (gün)	11.1 $\pm$ 2.2	10.7 $\pm$ 2.1	<0.001
Başlangıç gonadotropin dozu (IU)	320.8 $\pm$ 141.6	262.8 $\pm$ 117.6	<0.001
Toplam gonadotropin dozu (IU)	3805.7 $\pm$ 1927.6	2873.9 $\pm$ 1652.2	<0.001
hCG günü endometrium kalınlığı (mm)	10.1 $\pm$ 2	10.2 $\pm$ 1.9	NS
hCG günü follikül sayısı (n)	3.6 $\pm$ 2.3	4.5 $\pm$ 2.6	<0.001

\* Değerler ortalama  $\pm$  SS olarak verilmiştir.

Grupların siklus özelliklerinin karşılaştırılması Tablo-2'de gösterilmiştir. Ortalama toplanan oosit sayısı, total elde edilen embriyo sayısı ve fertilizasyon oranı anlamlı olarak 3. gün transfer uygulanan grupta yüksek saptanmıştır (p<0.001).

**Tablo-2** Siklus özellikleri

	2. gün	3. gün	p
Ortalama toplanan oosit sayısı (n)*	8.4 $\pm$ 5.6	13.6 $\pm$ 6.8	<0.001
Ortalama MII oosit sayısı (n)	6.8 $\pm$ 4.8	11.4 $\pm$ 5.9	<0.001
Fertilizasyon oranı (%)	68.8	76.9	<0.001
Total elde edilen embriyo sayısı (n)	4.1 $\pm$ 3.4	8.2 $\pm$ 4.6	<0.001
Erken klivaj (%)	94.2	95.6	<0.001
Ortalama transfer edilen embriyo sayısı (n)	2.5 $\pm$ 1.3	2.9 $\pm$ 1.2	<0.001

\* Ortalama  $\pm$  SS

Grupların gebelik sonuçlarının karşılaştırılması Tablo-3'te gösterilmiştir. 2. gün ve 3. gün transfer uygulanan hastalarda implantasyon oranı (%33.7vs %48.4) ve klinik gebelik oranı (%21.3 vs %36.3) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Çalışmanın birincil amacı olan canlı doğum oranları karşılaştırıldığında 3. gün transfer yapılan grupta, 2. gün transfer yapılan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır (%32.7vs % 18,  $p<0.001$ ).

Tablo-4'te bağımsız değişkenlerin multivaryant analizi gösterilmiştir.

**Tablo-3** Gebelik sonuçları

	2. gün	3.gün	p
İmplantasyon oranı (%)	33.7	48.4	<0.001
Klinik gebelik oranı (%)	21.3	36.3	<0.001
Canlı doğum oranı (%)	18	32.7	<0.001
Çoğul doğum oranı (%)	6.2	12.6	<0.001

**Tablo-4** Bağımsız değişkenlerin multivaryant analizi

	OR	%95 güven aralığı		p
İnfertilite süresi	1.016	0.990	1.043	NS
Tedavi günü AF sayısı	1.013	0.995	1.032	NS
Toplam doz	1.000	1.000	1.000	<0.05
hCG günü AF sayısı	1.003	0.957	1.052	NS
Toplam oosit sayısı	1.064	1.007	1.124	<0.05
MII sayısı	1.099	1.005	1.201	<0.05
Fertilizasyon yüzdesi	1.007	0.997	1.018	NS
Toplam embriyo sayısı	1.008	0.919	1.105	NS
Transfer edilen embriyo sayısı	1.115	1.010	1.231	<0.05
Klivaj yüzdesi	1.017	1.003	1.031	<0.05
Toplam tedavi süresi	1.006	0.947	1.068	NS
ET günü	0.604	0.465	0.785	<0.05

## Tartışma

Genel olarak IVF uygulamalarında embriyolar, oosit toplanmasından 2 gün sonra transfer edilmektedir. Bu uygulamanın temelinde in vitro koşullarda embriyonun gelişimini destekleyebilecek uygun kültür medyasının olmaması ve embriyolojik gelişim için uterusun en uygun çevreyi sağlayabileceği öngörüsü yer almaktadır. Ancak klasik bilgilere göre embriyo uterusu ovulasyondan 4-5 gün sonra ulaşmaktadır [6]. Bir başka deyişle IVF sikluslarında embriyonun uterusu ulaşması, in vivo şartlara göre prematür bir seyir izlemektedir. Embriyo transferinin oosit toplanmasından sonra 2. gün yerine 3. gün yapılması, fizyolojik sürece daha uygun bir gelişime olanak tanıyabilir. Literatürde bu hipotezi araştıran başka çalışmalar da bulunmaktadır. Van Os ve ark. 1989'da yaptıkları prospektif randomize çalışmada, 2. gün ve 3. gün transfer yapılan hastalar arasında gebelik oranı açısından anlamlı fark tespit etmezken, viabilite sınırını aşan gebeliklerin 3. gün transfer uygulanan grupta anlamlı olarak daha yüksek olduğunu bulmuşlardır [7]. Toplam 1228 embriyo transferinin incelendiği, Dawson ve ark.'ın yaptığı bir başka retrospektif çalışmada ise 2. gün ve 3. gün transfer yapılan hastalar arasında gebelik

oranı açısından anlamlı fark tespit edilmezken,3. gün transfer yapılan grupta implantasyon oranı anlamlı olarak yüksek saptanmıştır [4].

Retrospektif olarak yaptığımız bu çalışmada gruplar arasında anlamlı yaş farkı saptamadık. Ancak 3. gün embriyo transferi grubunda tedavi başlangıcında, ovarian rezervin önemli bir göstergesi olan antral follikül sayısını anlamlı olarak yüksek saptadık. Bu da toplam tedavi süresinin ve hCG günü antral follikül sayısının anlamlı olarak farklı saptanmasına neden olmuş olabilir.

Çalışmamız sonucu 3. gün embriyo transferi yapılan hastalarda gebelik sonuçlarının, 2. gün embriyo transferi yapılan hastalara göre anlamlı olarak daha iyi olduğunu saptadık. Klinik gebelik oranı ve canlı doğum oranı 3. gün embriyo transferi grubunda anlamlı olarak yüksek idi. Literatürde bizim bulgularımızı destekleyen çalışmalar bulunmaktadır[8]. Ancak ortalama transfer edilen embriyo sayısının 3. gün embriyo transferi yapılan grupta anlamlı olarak yüksek tespit edilmesi, bu sonucu etkilemiş olabilir.

Literatürdeki daha yeni çalışmalarda ise çalışmamız ile karşıt sonuçlar elde edilmiştir. Ertzeid ve ark. yaptıkları prospektif randomize çalışmada, embriyo transferinin 2. gün ve 3. gün yapılması arasında gebelik oranı ve implantasyon oranı açısından anlamlı fark tespit etmemişlerdir [9]. Laverge ve ark. yaptıkları prospektif randomize çalışma ile benzer sonuçlara ulaşmışlardır [10]. Ancak 2004 yılında Gunby ve ark. tarafından yayınlanan meta-analizde,2. gün ve 3. gün embriyo transferi yapılan gruplar arasında, devam eden gebelik oranı ve canlı doğum oranı arasında anlamlı fark saptanmazken, klinik gebelik oranı 3. gün embriyo transferi yapılan grupta anlamlı olarak yüksek saptanmıştır (OR 1.26, %95 CI 1.06 - 1.51)[11].

Sonuç olarak embriyo transferinin 2. gün yerine 3. gün yapılması, fertilizasyon ve embriyogenezin fizyolojik ritmine daha uygun bir uygulama olabilir. Gelişen teknoloji sayesinde kültür medyalarında embriyoları daha uzun süre muhafaza ederek, transfer için en uygun embriyonun seçilmesi imkanı yaratılabilir. Çalışmamızda embriyo transferinin 2. gün yerine 3. günde uygulanmasının gebelik sonuçları açısından olumlu etkisi olduğunu saptadık. Ancak bu sonucun, prospektif dizayn edilmiş ve geniş hasta gruplu çalışmalar ile tekrar edilmesi literatüre önemli bir katkı sağlayacaktır.

## Kaynaklar

1. K. Jaroudi, S. Al-Hassan, U. Sieck, H. Al-Sufyan, M. Al-Kabra, and S. Coskun, "Zygote transfer on day 1 versus cleavage stage embryo transfer on day 3: a prospective randomized trial.," Hum. Reprod.,2004;3:645-8.
2. B. Kovac and V. Gavric, "Clinical outcome of day 2 versus day 5 transfer in cycles with one or two," Fertil. Steril.,2002;19:529-536.
3. G. J. Huisman, B. C. Fauser, M. J. Eijkemans, and M. H. Pieters, "Implantation rates after in vitro fertilization and transfer of a maximum of two embryos that have undergone three to five days of culture.," Fertil. Steril., 2000;73:117.
4. H. K. Dawson KJ, Conaghan J, Ostera GR, Winston RM, "Delaying transfer to the third day post-insemination, to select non-arrested embryos, increases development to the fetal heart stage.," Hum. Reprod.,1995;10:177-182.
5. G. Nikas, "Endometrial receptivity: changes in cell-surface morphology.," Semin. Reprod. Med., 2000;18:229-36.
6. M. J. Harper, "Gamete and zygote transport," in The Physiology of Reproduction, 1994;123-188.

7. Z. G. van Os HC, Alberda AT, Janssen-Caspers HA, Leentveld RA, Scholtes MC, "The influence of the interval between in vitro fertilization and embryo transfer and some other variables on treatment outcome," *Fertil. Steril.*, 1989;51:360-2.
8. AJ. Carrillo, B. Lane, D. D. Pridman, P. P. Risch, T. B. Pool, I. H. Silverman, and C. L. Cook, "Improved clinical outcomes for in vitro fertilization with delay of embryo transfer from 48 to 72 hours after oocyte retrieval: use of glucose- and phosphate-free media.," *Fertil. Steril.*, 1998;69:329-34.
9. G. Ertzeid, P. O. Dale, T. Tanbo, R. Storeng, E. Kjekshus, and T. Abyholm, "Clinical outcome of day 2 versus day 3 embryo transfer using serum-free culture media: a prospective randomized study.," *J. Assist. Reprod. Genet.*, 1999;16:529-34.
10. H. Laverge, P. De Sutter, J. Van der Elst, and M. Dhont, "A prospective, randomized study comparing day 2 and day 3 embryo transfer in human IVF.," *Hum. Reprod.*, 2001;3:476-80.
11. J. Gunby and S. Daya, "Day three versus day two embryo transfer following in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection," *Cochrane Libr.*, 2004;(2):004378.